

*Este trabalho
corresponde a redes final
de Luciane Vieira de Mello a pedido
do Conselho Julgadora
de 6/11/89*



"ESTUDO DA BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO EM POPULAÇÕES DE *Coix spp*"

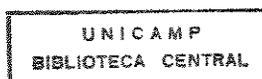
LUCIANE VIEIRA DE MELLO

Orientador: Prof. Dr. William José da Silva

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da
Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do Título de Mestre em Ciências
Biológicas. Área de concentração: Genética.

CAMPINAS - SP

1989





Aos meus pais

Renato e Maria Eni,

dedico

Aos Amigos

Sr. Bento e Da. Cida,

ofereço.



AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. William José da Silva pela orientação segura deste trabalho, pela amizade, estímulo e confiança, que muito contribuíram para minha formação científica.
- Ao Prof. Dr. Herculano P. Medina Filho e a Rosa Maria L. Ballvé pelo treinamento nas análises eletroforéticas, pelas críticas e sugestões, e pela amizade.
- Aos Professores Dra. Eliana F. Martins, Dr. Aquiles Piedrabuena e Dr. Sérgio F. dos Reis, pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho.
- A Profa. Dra. Shirlei M. Recco-Pimentel pelo início da minha formação científica, pelo carinho e amizade durante todos esses anos.
- Aos amigos do campo, Sr. Bento, Maurício, Sr. Vinícius, Sr. Chico e Sr. Formiga por toda ajuda, e pelo carinho.
- Ao Dr. O. Borlaug e à Cristina Sandoval pela coleta dos germoplasmas utilizados no trabalho.
- À Rosângela pela ajuda na elaboração das fotografias e pela amizade. Ao Gerson por toda a "força" e amizade.



- Ao Olivete Bonfim, à Josênia L. de Oliveira, e Elisabeth R. Bilo pelo auxílio técnico.

-À D. Cida, D. Gê e D. Glória pelo carinho e estímulo.

-Aos amigos Bia, Guerreiro, Jaqueline & Valter, Miriam, Miriam Regina, Nair, Raquel, Tadeu e Teresa que, de diversas maneiras, participaram na realização deste trabalho.

-às amigas Cristiane, Janie, Nancy e Rose por tudo que dividimos na vida e no campo.

-À minha Família por todo apoio, carinho e compreensão durante estes anos.

-Ao CENARGEN, em especial, Dr. V. Morales e Dr. J.F.M. Valls pela compreensão no término deste trabalho.

-À Biologia Vegetal, e à todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Este trabalho teve suporte financeiro do CNPq

CONTEÚDO

1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	5
2.1 Biologia da Reprodução	5
2.1.1 Biologia Floral	5
2.1.2 Taxa de cruzamento	6
2.1.3 Apomixia	9
2.2 Estudos Citogenéticos em <u>Coix</u>	12
3. Material e Métodos	16
3.1 Germoplasmas utilizados	16
3.2 Análise cromossômica	21
3.3 Caracterização das populações	22
3.4 Aspectos da Biologia da Reprodução	24
3.4.1 Padrão de florescimento	24
3.4.2 Características do grão de pólen	25
3.4.3 Estudo da ocorrência de apomixia em populações de <u>Coix</u>	27
3.4.4 Determinação da taxa de cruzamento	28
- Uso de marcador morfológico	29
- Uso de isoenzimas	30
- Preparo do gel de amido	31
- Extração das amostras	32
- Condições de eletroforese	32
- Sistemas enzimáticos	33
4. Resultados e Discussão	35



4.1	Caracterização das Populações de <u>Coix</u>	35
4.1.1	Análise mitótica em populações do gênero <u>Coix</u>	35
4.1.2	Análise de características das cinco populações de <u>Coix</u>	37
4.1.3	Análise do padrão de florescimento de cinco populações de <u>Coix</u>	51
4.1.4	Medidas de diâmetro e viabilidade de grãos de pólen nas cinco populações de <u>Coix</u>	54
4.2	Apomixia	59
4.3	Estimativa da Taxa de Cruzamento em Populações de <u>Coix</u>	63
4.3.1	Estimativa da taxa de cruzamento envolvendo duas populações de <u>Coix</u> usando-se marcador morfológico	63
4.3.2	Estimativa da taxa de cruzamento estimada em populações de <u>Coix</u> através de estudos isoenzimáticos	65
5.	Conclusões	81
6.	Resumo / Summary	83
7.	Referências Bibliográficas	87
8.	Apêndice	92

1. INTRODUÇÃO

O gênero Coix, descrito em 1753 por LINEU, foi recentemente classificado por CLAYTON (1981, 1986) como pertencente à família Gramineae, tribo Andropogoneae, e sub-tribo Coicinae. É nativo da Índia, Burma, China e Malásia (CHAGANTI, 1965; UPHOF, 1968; ARORA, 1977). Sua introdução, na Índia, como cultivar deu-se pelos pastores arianos invasores que o cultivava nas encostas dos Himalaias, ou durante as conquistas mongólicas, a partir do oeste dos Himalaias para as terras mais baixas e úmidas das regiões subtropicais do Oriente. Os árabes o introduziram na Espanha, Portugal e daí para toda a Europa (ARORA, 1974). Atualmente encontra-se amplamente distribuído por todo o mundo (MURAKAMI, 1979).

As espécies deste gênero são descritas como de ciclo anual, adaptando-se a regiões com altas precipitações, ao contrário de outras gramíneas que têm dificuldades para se desenvolverem em regiões subtropicais úmidas (ARORA, 1977).

Este gênero é muito pouco estudado, apesar de apresentar potencial econômico. JAIN & BANERJEE (1974) indicaram a importância deste cereal na alimentação animal, na fabricação de farinha para panificação, e no preparo de mingau e cerveja. SCHAAFFHAUSEN (1952) relatou que a mistura de 30% da farinha deste cereal com farinha de trigo é adequada para a fabricação de biscoitos e de pão. Na Indochina, tribos de vários grupos étnicos

o utilizam cozido, como o arroz. No entanto, o uso dos grãos fermentados para a fabricação de cerveja é o mais popular (ARORA, 1977). Na alimentação animal, TORRES & BERGAMEN (1951) consideraram este cereal inadequado por reprimir o crescimento e aumentar a taxa de mortalidade de aves. Entretanto, GOMES et al (1980), estudando o seu uso na alimentação de suínos em crescimento, mostraram que a substituição de até 20% da farinha de milho pela farinha de Coix não alterou, significativamente, o desenvolvimento dos animais, sendo inclusive economicamente mais viável. JAIN & BANERJEE (1974) relataram o seu emprego como forrageira na alimentação de bovinos e búfalos, com rendimento de, aproximadamente, 12 t/acre, quando cultivado em áreas pantanosas. W.J. SILVA (comunicação pessoal) verificou que híbridos interpopulacionais Adlay X Rosário, duas populações de Coix, apresentaram um aumento de 400% na produção de biomassa em relação aos parentais, o que os tornariam altamente satisfatórios para uso como forrageiras. Resposta semelhante também foi observada por MURAKAMI (1979) em outros híbridos do gênero Coix, onde relatou uma redução de 30% na fertilidade das sementes, e de 60% na quantidade de grãos de pólen viáveis, na geração F₁. Com isso, o autor preferiu indicar os tipos parentais como forrageiras ao invés dos híbridos.

Estudos do valor proteico mostraram que este gênero é superior ao milho, devido ao seu maior teor de lisina, equivalente ao do trigo (WESTER, 1920; PESTANA, 1946). ASCHERI (1987), verificaram que a população Adlay deste gênero possui um teor de proteína de 16,8%, possuindo ainda cerca de 69,5% de

carboidratos, o que justificaria o seu uso na fabricação de farinha. A constituição do amido é basicamente amilopectina, assemelhando-se ao mutante de milho cera ("waxy"). Através de métodos adequados, pode-se obter o amido com 97% de pureza, sendo com características físico-químicas favoráveis para a industrialização de cosméticos e alimentos congelados.

Pouco se conhece sobre seu real potencial como planta medicinal, mas tem sido indicado, com sucesso, no combate a infecções catarrais, como tônico e diurético (VALLAEYS, 1948; JAIN & BANERJEE, 1974).

A utilização do Coix como planta ornamental é bastante conhecida, principalmente na confecção de colares, rosário e objetos de decoração, devido à uniformidade e grande durabilidade dos seus frutos (SCHAAFFHAUSEN, 1952). Em determinadas regiões da Índia, o comércio de adornos é muito desenvolvido, contribuindo para a economia local das aldeias (JAIN & BANERJEE, 1974).

O gênero Coix foi introduzido no Brasil em 1938 pelo engenheiro agrônomo Ubirajara P. Barreto, sendo disseminado para vários pontos do país (SCHAAFFHAUSEN, 1948). É hoje encontrado em todo Sul do Brasil, Litoral Paulista, Minas Gerais e na região Amazônica, sendo popularmente conhecido como "Lágrima de Jó" ou "Lágrima de Nossa Senhora" (BARRETO, 1940).

O gênero Coix apresenta cinco espécies morfológicamente distintas de acordo com o formato das folhas e sementes. São elas: C. lacryma-jobi Linn; C. gigantea Koen; C. aquatica Robx; C. puellarum Balansa e C. pailanei Mimeur (de WET, 1982).



Atualmente, estudos básicos de Genética e Evolução estão sendo realizados com este gênero no Laboratório de Genética Vegetal da UNICAMP. Procura-se reunir uma coleção de germoplasma e desenvolver um programa de melhoramento para a criação de novas cultivares adequadas para a produção de grãos, ou como forrageiras. As informações existentes, do ponto de vista genético, são, entretanto, muito incipientes. Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivo gerar conhecimentos sobre a estrutura genética de algumas populações de Coix. Para tanto, efetuou-se uma análise comparativa de várias características dessas populações, além de estudos de aspectos da biologia da reprodução, canalizando-os para a estimativa das taxas de cruzamento dessas populações.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biologia da Reprodução

2.1.1 Biologia Floral

O gênero Coix consiste de plantas monóicas, anuais ou perenes, com polinização efetuada pelo vento. As espiguetas carpeladas estão em trios, um fértil e dois estéreis. Cada grupo encontra-se encerrado dentro de uma estrutura semelhante à contas, o involúcro, formado por uma bainha modificada e endurecida que apresenta-se, quando madura, com coloração variável. Por um orifício no ápice deste involúcro, emerge uma haste que sustenta a inflorescência masculina. As espiguetas masculinas são imbricadas em pares ou trios e uma delas, a central, é pedicelada. Cada espiguetas tem duas floretas, ambas estaminadas, sendo a superior, às vezes, estéril (JAIN & BANERJEE, 1974).

2.1.2 Taxa de Cruzamento

A estrutura genética de uma população está intimamente relacionada com o seu sistema de reprodução, o qual, por sua vez, depende do genótipo e das condições ambientais em que a população se encontra (ALLARD, 1960).

Espécies de plantas superiores, de reprodução sexuada, são classificadas, segundo o índice de panmixia, em autógamas, alógamas ou intermediárias. As autógamas são aquelas que apresentam alta taxa de autofecundação e, conseqüentemente caracterizam-se por apresentar alta taxa de homozigose na população. As alógamas, ao contrário, revelam alta porcentagem de fecundação cruzada, resultando numa alta taxa de heterozigose na população. As intermediárias são espécies que se situam entre os dois sistemas de reprodução acima citados. Mais especificamente, o comportamento reprodutivo de um indivíduo é conseqüência da separação espacial, temporária e fisiológica dos seus órgãos de reprodução (FRANKEL & GALUN, 1977).

A taxa de cruzamento de uma população é caracterizada pelo seu sistema de reprodução. É estimada com base na transferência de pólen de uma planta para outra (KING & BROOKS, 1947). Do ponto de vista genético, o conceito é válido somente se ocorrer fusão de gametas de genótipos diferentes. A taxa de cruzamento, por outro lado, é função de discrepâncias entre a frequência genotípica observada na população e aquela esperada com base nas condições de equilíbrio de Hardy-Weinberg. A

presença de endogamia, obviamente, causa desvios da frequência genotípica da população em equilíbrio, permitindo que a taxa de cruzamento () seja estimada em função da taxa de consanguinidade (F). Assim, segundo NEI & SYAKUDO (1958) a taxa de cruzamento pode ser expressa pela função:
$$= (1-F)/(1+F)$$

O sistema de reprodução sexuada pode ser influenciado por vários mecanismos capazes de promover tanto a fecundação cruzada, como a autofecundação. Associados a eles, podem ocorrer processos de reprodução assexuada, como a apomixia, que afetam a estimativa da taxa de cruzamento de uma população. Obviamente, estes também devem ser considerados para se conhecer a estrutura genética real de uma população.

As taxas de cruzamento de várias populações, em diferentes espécies, tem sido estimadas através do uso de marcadores genéticos para caracteres morfológicos, como por exemplo, textura de sementes, tipo de folha, coloração de tecidos e outros bastando, obviamente, que os mesmos sejam condicionados por herança mendeliana simples. Para esse estudo é necessária a instalação de experimentos de campo, onde procure-se estimar a herança desses caracteres. Vários expedientes são usados, de acordo com as facilidades da espécie, como o teste de progênie de dominantes, teste de progênie de recessivos, teste de progênie de heterozigotos, e teste de progênie de recessivos e heterozigotos.

Um outro método para se estimar a taxa de cruzamento é aquele que faz uso do polimorfismo de isoenzimas. O método é bastante utilizado atualmente, devido a ação gênica de

codominância dos alelos para isoenzimas, possibilitando assim, correspondência entre genótipo e fenótipo (SHAW & ALLARD, 1982; KAHLER et al, 1984). Os primeiros estudos de isoenzimas em plantas foram realizados por SCHWARTZ (1960) analisando endospermas de sementes de milho. Vários trabalhos tem sido realizados utilizando-se isoenzimas para realização de estudos taxonômicos, entre os quais os de RICK & FOBES, 1974; TANKSLEY et al 1981; STUBER et al, 1982 e FREI et al, 1986).

Dentro da tribo Andropogoneae, o milho é a única espécie estudada onde isoenzimas foram empregadas na determinação da taxa de cruzamento. KAHLER et al (1984) determinaram a taxa de cruzamento entre duas populações de milho selecionadas para alta produção de grãos, através de oito locos enzimáticos. Os resultados mostraram uma taxa de cruzamento de 90%.

A estimativa da taxa de cruzamento é feita através da determinação das frequências genotípicas observadas no sistema enzimático. Com isso, determina-se o coeficiente de endogamia, e conseqüentemente a taxa de cruzamento, através da fórmula de NEY & SYAKUDO (1958).

Estudos sobre a biologia da reprodução neste gênero são praticamente inexistentes. Com isso, não se conhece as taxas de cruzamento das várias populações dentro das espécies existentes. RAO (1985) mencionou que a espécie Coix lacryma-jobi é de fecundação cruzada, sem qualquer evidência científica. SAPRE et al (1985) e SAPRE & DESPHANDE (1987a) verificaram que as espécies de Coix são alopátricas, e que quando são cultivadas no mesmo ambiente, torna-se possível o aparecimento de híbridos

interespecíficos evidenciados citologicamente. Outro trabalho comprovando a existência de cruzamentos naturais nessa espécie foi realizado por MURAKAMI (1961), através de estudo de segregação gênica em plantas F₂ do cruzamento das populações Hatomugi e Juzudama.

2.1.3 Apomixia

Apomixia é um processo assexual de reprodução com produção de sementes, sendo o produto formado semelhante ao produto mitótico, isto é, os descendentes são idênticos ao tipo parental (STEBBINS, 1951). Sendo comum a ocorrência de apomixia em gramíneas e, como tem sido sugerida a sua existência no gênero Coix (VENKATESWARLU & CHAGANTI, 1965; VENKATESWARLU & RAO, 1975), a presença desse fenômeno poderia causar erros nas estimativas das taxas de cruzamento. Considerou-se assim, oportuna a investigação dessa possibilidade nos germoplasmas estudados.

O presente trabalho teve-se à modalidade de apomixia denominada agamosperma. Esta engloba, fundamentalmente, dois tipos diferentes. No primeiro, a embrionia adventícia, onde o embrião se origina diretamente de célula somática do ovário, usualmente do nucelo. Esse sistema puramente esporofítico de agamosperma acha-se frequentemente associado à poliembrionia. No segundo tipo, apomixia gametofítica, o gametófito feminino não

sofre redução meiótica normal. É classificada como diplosporia ou aposporia, dependendo do tipo de célula envolvida na formação do saco embrionário. Na diplosporia este é formado a partir de uma célula arquesporial, enquanto que na aposporia, a partir de outros tipos de células somáticas do nucelo, ou dos integumentos do megasporângio. O embrião poderá ser formado a partir da oosfera ou de outra célula do saco embrionário. No primeiro caso, fala-se em partenogênese e, no segundo, em apozametia.

A apomixia pode ainda ser obrigatória, facultativa ou do tipo induzida. Esta última é denominada pseudogamia, uma vez que é necessário um estímulo, muitas vezes efetuado pela deposição de grãos de pólen no estigma, para induzir o processo de reprodução assexuada (STEBBINS, 1951).

Acredita-se que a apomixia esteja associada a três fatores principais: poliploidia, aposporia e pseudogamia. STEBBINS (1951) estudando a presença de apomixia em angiospermas encontrou 24 espécies nas quais a apomixia mostrou-se relacionada com a poliploidia. Em estudos posteriores, STEBBINS (1951) confirmou que a poliploidia pode dar início à reprodução apomítica. É importante notar que plantas apomíticas apresentam grãos de pólen reduzidos e viáveis, que fecundam o núcleo polar para a formação do endosperma (SAVIDAN, 1984).

KNOX (1967) verificou que em Dichanthium aristatum a apomixia está correlacionada com o fotoperíodo, e que quanto menor o comprimento do dia, maior a taxa de apomixia. Também relatou que a viabilidade do grão de pólen é menor com a diminuição do fotoperíodo. A correlação entre apomixia e

comprimento do dia também foi observada em Themeda australis pelo mesmo autor. A viabilidade do grão de pólen, entretanto, não foi alterada. Estes estudos demonstram que a presença da apomixia pode depender de determinadas condições ambientais.

Em muitas tribos da família Gramineae a apomixia é geralmente facultativa, e os tipos existentes podem variar dentro de um mesmo gênero. Quando a apomixia é controlada por genes dominantes, sua detecção torna-se difícil. No entanto, o estudo fica ainda mais complexo em espécies onde a apomixia é influenciada por genes modificadores, afetados por interações genótipo X ambiente (HANNA, 1987).

Espécies apomíticas com sistema de reprodução conhecido estão sendo manipuladas geneticamente em programas de melhoramento (HANNA & BASHAW, 1987). Em Cenchrus ciliaris a apomixia é controlada por um sistema de dois genes, com ação epistática (BASHAW et al, 1970). SAVIDAN (1982) relatou a ocorrência de apomixia facultativa em Panicum maximum, controlada por um par de genes de ação dominante.

Existem algumas informações a respeito da possível existência de apomixia no gênero Coix. VENKATESWARLU & RAO (1975) descreveram a ocorrência de diplóides a partir da reversão de autotetraplóides, artificialmente induzidos, decorrente de apomixia em Coix lacryma-jobi. A taxa de reversão encontrada foi de 0,81%, e essas plantas apresentaram-se morfológicamente distintas dos diplóides originais. VENKATESWARLU & CHAGANTI (1965) acreditam na existência da apomixia em Coix baseados no

fato de terem observado formação de sementes num cruzamento entre milho e Coix aquatica, quando esta foi utilizada como progenitor feminino. No entanto, em 1975, os mesmos autores estudando apomixia em Coix aquatica, observaram que várias plantas previamente emasculadas apresentaram uma ou duas sementes formadas, enquanto uma planta apresentou várias sementes. Segundo os autores, isto sugere que a planta produtora de várias sementes possui um maior potencial de reprodução por apomixia que as outras, indicando que a apomixia é geneticamente controlada por um número de genes recessivos. Em outro trabalho, RAO & NARAYANA (1980) observaram pseudogamia em Coix aquatica, mas o seu controle genético não foi esclarecido.

A existência dessas informações revelam a necessidade de se investigar a presença da apomixia em trabalhos de biologia da reprodução em populações de Coix.

2.2 Estudos citogenéticos em Coix

O gênero Coix tem sido estudado com mais detalhes sob o ponto de vista citológico. BOR (1960) determinou o número básico de cromossomos do gênero ($n=5$), variando de $2n=10$ a $2n=40$, em decorrência de poliploidia. A espécie Coix aquatica Robx possui $2n=10$, C. lacryma-jobi L. $2n=20$, e C. gigantea Koen $2n=20$ e $2n=40$. VENKATESWARLU et al (1976) indicaram a poliploidia como

um dos fatores mais importantes na evolução do gênero. Uma análise detalhada revelou a existência de duplicações, inversões e translocações, mostrando uma evolução ativa no tempo. O gênero Coix é altamente polimórfico e a presença de quantidades significantes de heterocromatina em C. aquatica e em algumas variedades de C. lacryma-jobi torna o sistema flexível, promovendo quebras e outras mudanças que podem alterar o valor adaptativo dos indivíduos (VENKATESWARLU & CHAGANTI, 1973).

Espécies alopátricas, quando cultivadas em associação, tem produzido híbridos com número variável de cromossomos, como $2n=21$, 14, 15 e 16 (SAPRE & DESHPANDE, 1987a). MURAKAMI et al (1960) já haviam observado alterações semelhantes, considerando-as consequência de tamanhos diferentes de cromossomos existentes nas espécies cruzadas, o que acarretaria a formação de univalentes na metáfase I. Vários outros estudos têm mostrado a formação de univalentes em híbridos inter-específicos (SAPRE & DESHPANDE, 1987b; SAPRE et al, 1985; KOUL, 1965; MURAKAMI, 1979).

VENKATESWARLU & CHAGANTI (1973) caracterizaram os cromossomos metafásicos da espécie Coix lacryma-jobi quanto ao comprimento e posição de satélites. Os cromossomos variaram em tamanho de 6,53 a 2,64 μ , sendo que o sexto par em ordem decrescente de tamanho, possui o satélite. MURAKAMI et al (1960), analisando cromossomos de outras espécies, verificaram que o satélite está presente em cromossomos diferentes daqueles descritos por VENKATESWARLU & CHAGANTI (1973), mostrando que realmente existem diferenças no comportamento citológico entre as

espécies de Coix. VENKATESWARLU & CHAGANTI (1973) também verificaram que a espécie C. lacryma-jobi é a que possui maior estabilidade cromossômica no gênero, embora a ocorrência de translocação heterozigota tenha sido detectada e responsabilizada pela produção de grãos de pólen estéreis.

RAO (1975) descreveu a ocorrência de desinapse (separação precoce dos cromossomos no diplóteno) em C. lacryma-jobi associada a fatores ambientais. Altas temperaturas induziram a ocorrência da desinapse, sendo seu efeito governado por um ou poucos pares de genes e, causando erros durante a meiose e, conseqüentemente, esterilidade. As mesmas plantas que apresentavam este fenômeno, tiveram restaurado o pareamento normal dos cromossomos, quando submetidas a condições de temperaturas baixas e elevada umidade.

Estudos com autotetraplóides induzidos em C. lacryma-jobi ($4n=40$) demonstraram que ocorreu a produção, durante a anáfase I, de células com 20:20 (69%), 19:21 (24%), 18:22 (7%), sendo este último grupo não funcional. Os números cromossômicos observados na progênie foram respectivamente de $2n=4x=40$, 41 e 39. Ambas as classes aneuplóides apresentaram menor fertilidade quando comparada ao $2n=4x=40$. Observou-se, ainda, que cruzamentos entre os aneuplóides produziram, em sua grande maioria, o número tetraplóide restaurado (RAO, 1976). Estes resultados podem ser comparados com os obtidos por SAPRE & DESHPANDE (1987b) que estudaram híbridos entre várias espécies de Coix. Observaram que embora esses híbridos possuíssem grande instabilidade cromossômica, logo na primeira geração de retrocruzamento, a

progênie resultou em plantas semelhantes aos parentais, com grande estabilidade cromossômica. Este fato observado em Coix não é muito comum em outras gramíneas, uma vez que é necessária a realização de retrocruzamentos sucessivos, seguidos de seleção para se recuperar o genótipo parental. Estes estudos demonstraram que existe em Coix uma tolerância na perda ou adição de um cromossomo, ou um par de cromossomo, sem causar nenhum efeito deletério aparente no fenótipo ou na fertilidade da planta, demonstrando uma boa estabilidade cromossômica dentro do gênero.

VENKATESWARLU et al (1976) estudaram autotetraplóides induzidos através de tratamento com colchicina, em C. lacryma-jobi, observando maior produção de grãos de pólen estéreis pelas plantas tetraplóides, quando comparadas com as diplóides normais que as deram origem. Este estudo visou também determinar a viabilidade do uso das plantas tetraplóides como forrageiras, por apresentarem características desejáveis, tais como, maior porte, maior número de perfilhos e, conseqüentemente, maior produção de massa verde. Entretanto, o uso desses poliplóides artificiais foi desaconselhado pelos autores, por considerarem que a rebrota, após o corte dos colmos, foi mais lenta do que nas plantas diplóides normais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos, tanto com progênies, como com populações de Coix, foram realizados na Área Experimental do Laboratório de Genética Vegetal da Universidade Estadual de Campinas, SP., localizada a 22°54' de latitude Sul, em solo do tipo latossolo roxo distrófico. Os experimentos foram realizados no período de dezembro de 1987 a agosto de 1989.

3.1 Germoplasmas utilizados

Seis populações de Coix, do Laboratório de Genética Vegetal da UNICAMP, foram usadas neste trabalho:

ADLAY: Cultivar usada para produção de grãos, consumidos "in natura" ou utilizados na produção de rações, na fabricação de pães e de chá diurético. Quando plantada no mês de outubro, em nossas condições, floresce cerca de 85 dias após o plantio, sendo a única cultivar recomendada para a produção de grãos. Vem sendo mantida por várias gerações, através de polinização aberta em lotes isolados. É

caracterizada pelo involúcro de formato piriforme, de cor marrom e consistência mole, com estrias longitudinais. As plantas são de porte baixo, ao redor de 60-80cm, apresentando estigma de cor branca. Este material foi trazido do Rio Grande do Sul, tendo sido introduzido do Oriente. É a única das seis populações, aqui estudada, que é mais insensível ao fotoperíodo.

ROSÁRIO: População cultivada na região de Campinas, nos quintais de residências, utilizada na confecção de rosários, colares e outros tipos de adornos. Quando plantada em outubro, floresce cerca de 100 dias após o plantio, sendo considerada de médio potencial para produção de grãos. Vem sendo mantida por várias gerações, através de polinização aberta em lotes isolados, sendo caracterizada pelo involúcro de formato ovóide, de cor preta e consistência dura. Apresenta estigma de cor vinho (como representante do gênero Coix, sua inflorescência é mostrada na Figura 1). É de porte médio, com variação de 130-150cm, e sensível a variações no fotoperíodo com indução de florescimento em regime de dias curtos.

TAILÂNDIA: População de porte alto com aproximadamente 250cm de altura média das plantas. Quando plantada em outubro, floresce cerca de 170 dias após o plantio.

Vem sendo mantida como as anteriores. Este germoplasma é caracterizado pelo involúcro de formato piriforme, de cor preta, com variação de consistência de mole até duro, sendo mais frequente a consistência mole, com estrias longitudinais. Apresenta estigma de cor vinho. A sua semente é a maior dentre as populações estudadas, com cerca de 1,5cm de comprimento. Esse material foi coletado na Tailândia, sendo bastante sensível a alterações no fotoperíodo.

ACRE: População também de porte alto, com variação de 290 a 310cm de altura de planta. Quando plantada em outubro, floresce cerca de 230 dias após o plantio. Vem sendo mantida por várias gerações, através de polinização aberta, em lotes isolados. É caracterizada pelo involúcro de formato ovóide, com coloração variando do cinza ao preto, de consistência variando de mole a dura, sendo a maioria dura. Apresenta estigma de cor vinho. A semente tem o segundo maior tamanho com cerca de 1,0cm de comprimento. Foi coletada na região de Cruzeiro do Sul, Estado do Acre, sendo também bastante sensível a mudanças no fotoperíodo.

ROSADLAY: Cultivar obtida em programa de melhoramento na UNICAMP, envolvendo aproximadamente 75% de Adlay e

25% de Rosário, visando maior produção de grãos e massa vegetativa. Tem sido mantida através de cruzamentos ao acaso, em lote isolado, por três gerações. Tem porte médio com cerca de 190-210cm de intervalo de variação para altura de planta. Caracterizada pelo involúcro de formato piriforme, de cor marrom e de consistência mole, com as mesmas características do fruto da cultivar Adlay. Apresenta estigma de cor branca e, como o Rosário também é sensível ao fotoperíodo.

I-47: População também derivada do cruzamento de Adlay e Rosário, submetida a seleção para aumento da produção de grãos, a partir da geração F₃. Tem características da cultivar Adlay, porém, apresenta-se com maior porte e mais sensível as alterações de fotoperíodo.



Figura 1: Inflorescência de uma planta da população Rosário de Coix.

3.2 Análise cromossômica

A análise cromossômica foi realizada em pontas de raízes de plântulas de quatro populações: Adlay, Rosário, Tailândia e Acre. As sementes dessas populações foram previamente tratadas com uma solução fungicida contendo 2,0 g/l de oxicleto de cobre, 1,5 g/l de manzate e 2,0 g/l de pentacloronitrobenzeno, por um período de 15 minutos.

Após a desinfecção, as sementes foram colocadas para germinar sobre papel de filtro, em placas de Petri. Todo o processo foi realizado em condições estéreis, sendo as sementes mantidas no escuro a $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Após a germinação, raízes de aproximadamente 1 cm de comprimento foram tratadas de acordo com a técnica descrita por MEDINA & CONAGIN (1958) com pequenas modificações. A seguinte sequência foi utilizada:

1. Tratamento com uma solução saturada de paradichlorobenzeno, à temperatura entre 16 a 20°C , durante 8 horas.
2. Fixação direta em álcool absoluto e ácido acético na proporção de 3:1, durante 24 horas ou mais.
3. Hidrólise das raízes em nove partes de orceína a 2% em ácido acético a 70%, e uma parte de HCl 1N, por 30 minutos a 30°C .
4. As pontas das raízes foram coradas com orceína a 1% em ácido acético a 45%, seguido de leve esmagamento.

5. O material resultante foi levemente aquecido e completado o esmagamento, até que ficasse reduzido à uma única camada de células.
6. Foi retirado o excesso de corante com papel de filtro e a lamínula selada.

Após este procedimento, os materiais foram analisados em microscópio óptico para contagem do número de cromossomos.

3.3 Caracterização das populações

Este estudo foi realizado para analisar, comparativamente, a resposta de cinco populações de coix: Adlay, Rosário, Tailândia, Acre e Rosadlay quanto às seguintes características: altura de planta; número de nós do colmo principal; número de nós com inflorescências; número de pedúnculos florais; número de perfilhos; peso, volume e densidade dos frutos com e sem invólucro; produção de frutos com invólucro e porcentagens de frutos chochos e frutos caídos.

O experimento foi instalado em delimitação de blocos casualizados com três repetições. A parcela experimental foi constituída de 3 linhas de 5 metros de comprimento, com "stand" ideal de 50 plantas por parcela, num espaçamento de 1,0x0,1m. A

adubação foi feita no sulco de plantio na base de 20Kg de N, 80Kg de P_2O_5 e 40Kg de K_2O por hectare. Aos 45 dias do plantio foi realizada a cobertura com 60Kg de N por hectare, na forma de sulfato de amônio. O modelo experimental utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = u + b_i + t_j + e_{ij}$$

onde,

u= efeito da média do experimento

b= efeito do i -ésimo bloco

t= efeito do j -ésimo tratamento

e= efeito do erro experimental associado ao j -ésimo tratamento no i -ésimo bloco

Para as análises das características anteriormente citadas, foram escolhidas cinco plantas competitivas, ao acaso, de cada população, em cada repetição. Para as características peso, volume, densidade e produção de frutos foi usada a linha central de cada parcela experimental, e seus valores estimados com base em 150 frutos (50 de cada repetição).

O peso dos frutos na parcela central foi determinado multiplicando-se o peso total dos frutos com invólucro pelo rendimento médio. Este último foi determinado dividindo-se o peso de 150 frutos sem invólucro pelo seu peso total.

Os frutos de cinco plantas por população foram coletados e a porcentagem de frutos chochos estimada. Foram

considerados como frutos chochos aqueles onde não havia presença de semente dentro do involúcro.

A determinação da porcentagem de frutos caídos foi realizada em frutos de três plantas, por repetição.

As características altura de planta, número de nós no colmo principal, número de nós com inflorescência e número de perfilhos foram utilizadas para realização da análise da variável canônica e análise de agrupamento (UPGMA) (FERGUSON, 1980; SAS, 1988).

3.4 Aspectos da biologia da reprodução

O mesmo experimento usado para a caracterização fenotípica das cinco populações foi utilizado para a realização de um estudo específico envolvendo os seguintes aspectos da biologia da reprodução.

3.4.1. Padrão de florescimento

Em cada população, quatro plantas por repetição foram analisadas quanto ao padrão de florescimento, no ensaio citado. O

perfilho mais alto de cada planta foi dividido em 3 porções, apical, mediana e basal, e de cada porção duas inflorescências foram avaliadas, diariamente, visando-se determinar os seguintes parâmetros:

- a. tempo de exposição do estigma receptível;
- b. período decorrido entre o murchamento do estigma e a liberação de pólen;
- c. período decorrido entre o início e o fim da liberação de pólen de uma inflorescência masculina.

A fim de se avaliar a existência de protoginia nas populações de Coix, cinco plantas por repetição foram amostradas. Duas inflorescências de cada planta foram ensacadas individualmente, para impedir a polinização por pólen estranho, o que dificultaria e afetaria a determinação do período entre o ponto de murchamento do estigma e a saída do pólen da mesma inflorescência.

3.4.2 Características do grão de pólen

Várias plantas foram amostradas em cada parcela experimental, em cada uma das cinco populações, para avaliação do diâmetro e viabilidade do grão de pólen.

Por ocasião do florescimento de cada população, foram realizadas coletas de grãos de pólen de cada germoplasma, para análise comparativa do diâmetro do micrósporo. Para isso, foram escolhidas 20 plantas, ao acaso, de cada população, e de cada planta foram medidos 20 grãos de pólen. Estes foram coletados de várias inflorescências da mesma planta, para obtenção de uma amostra representativa. Imediatamente após a coleta, os grãos de pólen foram depositados em uma lâmina e, sobre eles colocada uma gota de água destilada, e a seguir recobertos com uma lamínula. As medidas foram realizadas em um microscópio ótico com o auxílio de uma ocular micrométrica.

Para a estimativa da porcentagem de grãos de pólen viáveis foram coletadas inflorescências masculinas de 10 indivíduos de cada população. Duas anteras, de diferentes inflorescências do mesmo indivíduo, foram individualmente esmagadas sobre uma lâmina e coradas com carmim acético 1,5%. Após 5 minutos de coloração, o material foi analisado em microscópio ótico. Os grãos corados foram considerados como férteis, e os não corados, ou de forma irregular, como inférteis.

3.4.3 Estudo da ocorrência de apomixia em populações de Coix

Campos isolados de 10x10m das populações Adlay, Rosário, Rosadlay, Tailândia e Acre, foram instalados na Área experimental da UNICAMP, no ano agrícola 88/89, visando-se o estudo de apomixia.

Para a realização deste estudo, dois procedimentos foram utilizados:

- a. Emasculação: O objetivo foi verificar a ocorrência de apomixia espontânea. Ramos de plantas das cinco populações foram ensacadas antes do florescimento. Por ocasião do mesmo, as flores masculinas foram emasculadas, antes da exposição do estigma, sendo eliminadas logo ao amanhecer, antes da liberação de pólen. A remoção das inflorescências masculinas foi feita diariamente, durante o período de um mês, tempo necessário para a retirada de todas as inflorescências masculinas produzidas no ramo ensacado. Os sacos de papel utilizados, para cobrir as plantas, foram trocados diariamente para evitar a umidade natural e a ocorrência de pragas. Em seguida, foi realizada a contagem do número de sementes formadas por planta, na ausência de pólen.
- b. Cruzamento interpopulacional: O objetivo foi verificar se ocorre apomixia induzida. As inflorescências

masculinas de uma população de Coix foram emasculadas, como descrito anteriormente, realizando-se, em seguida, polinizações artificiais com pólen de outra população. Para isto, grãos de pólen de várias plantas da população Rosário foram coletados e misturados em volumes iguais, para formação de uma amostra balanceada. A população Adlay foi escolhida como progenitor feminino por apresentar-se monomórfica para a enzima ADH-1 (álcool desidrogenase), resultado este obtido no decorrer do próprio trabalho. As sementes resultantes desse cruzamento foram analisadas em estudos de eletroforese isoenzimática de acordo com a metodologia que será descrita posteriormente.

Para se verificar o efeito do ensacamento na formação do fruto, avaliou-se a porcentagem de frutos formados pela autopolinização nessas condições. Para tanto, ensacaram-se oito plantas de cada variedade antes da maturação dos órgãos florais.

3.4.4 Determinação da taxa de cruzamento.

Utilizou-se duas alternativas para a estimativa da taxa de cruzamento em populações de Coix.

a- Uso de marcador morfológico

Para este estudo foram utilizadas as populações Adlay e Rosário, sendo o campo de cruzamento plantado com a população Rosário, de involúcro duro, em área de 36X18m, em espaçamento de 1,0x0,1m. Nas linhas de Rosário, a cada 8 metros foram plantadas três sementes por cova da cultivar Adlay. O Adlay é homozigoto para o involúcro de consistência mole, enquanto o Rosário é homozigoto para o involúcro de consistência dura (MURAKAMI (1961) demonstrou que o involúcro duro é condicionado por um gene dominante, e a herança é do tipo monofatorial). Aos 20 dias, após a germinação e desenvolvimento das plântulas, procedeu-se ao desbaste, deixando-se apenas um planta de Adlay por cova. A distância de 8m entre plantas da população Adlay foi usada por ser considerada suficiente para promover o isolamento reprodutivo das mesmas, além da população Rosário agir como barreira à dispersão de pólen de Adlay. Como o início do florescimento da população Adlay ocorreu dias antes da população Rosário, todas as inflorescências femininas expostas de Adlay foram eliminadas. Desse modo, somente aquelas que coincidiram com o florescimento de Rosário foram mantidas nesse estudo. Isso foi feito para dar as plantas de Adlay a mesma probabilidade de ocorrência tanto de cruzamento, como de autofecundação. Este lote de cruzamento foi realizado em janeiro de 1988.

Sementes obtidas de cada uma das plantas isoladas de Adlay foram semeadas, em forma de progênie, em julho do mesmo

ano, em espaçamento de 1,0x0,1m. Por ocasião da maturação das sementes das plantas obtidas, foram realizadas nessas progênes avaliações das frequências de plantas com invólucro duro e mole. As médias das porcentagens de plantas com invólucros duros correspondeu a taxa de cruzamento natural da progênie.

b- Uso de isoenzimas

Para a determinação da taxa de cruzamento, por este método, foram estudadas seis populações de Coix: Adlay, Rosário, Tailândia, Acre, Rosadlay e I-47.

Campos isolados de 10x10 m dessas seis populações foram instalados e, na época de colheita, foi feita uma mistura equitativa de sementes entre indivíduos de cada população, isto é, uma mistura constituída de igual número de sementes de todas as plantas que floresceram ao mesmo tempo, portanto com igual possibilidade de realizar cruzamentos e autofecundações.

Para essas análises foram amostrados tanto coleótilos como grãos de pólen. As sementes das amostras equitativas de cada população foram germinadas em meio desinfectado, como indicado anteriormente. Após 8 dias, os coleótilos foram coletados para as análises isoenzimáticas. Como o extrato de coleótilo apresentou resultado bastante favorável, superior aquele apresentado pelo grão de pólen, adotou-se este tecido vegetal para realização da eletroforese.

Como um controle para as análises isoenzimáticas de populações de Coix, utilizou-se a cultivar de milho MAYA, selecionada pelo Instituto Agronômico de Campinas. As sementes de milho foram germinadas de maneira semelhante ao Coix, e os coleótilos analisados aos 7 dias de germinação. Utilizou-se também, algumas raças de teosinte, provável ancestral do milho, para uma análise comparativa. A germinação das sementes seguiu o mesmo procedimento utilizado para o milho.

Preparo do gel de amido

Os estudos de eletroforese foram realizados na Seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas, SP., sob orientação e supervisão técnica do Prof. Dr. H.P. Medina Filho.

Os géis foram preparados com amido hidrolizado de batata (SIGMA) na concentração de 11,9%, solução tampão contendo 2,5% de TRIS (0,0152 M) e 2,5% de CITRATO (0,036). Os pH de 7,7 e 8,3 foram testados e observou-se melhor resolução dos géis com pH 8,30, e deste modo, este foi o utilizado na preparação do tampão dos géis. O tampão do eletrodo foi uma solução borato 0,3M com pH 8,3.

A preparação dos géis foi realizada sequencialmente nas seguintes etapas:

- a: dissolução da quantidade total de amido em 1/4 da solução tampão à 100°C, e os 3/4 restantes submetidos a fervura;

b: mistura dessas duas soluções e vigorosa agitação por 10 segundos, da emulsão viscosa que se forma;

c: preenchimento das placas moldes com a emulsão de amido ainda quente, e nivelamento dos géis com a colocação de uma placa de vidro, aplicando-se uma leve pressão sobre os géis.

Os géis foram mantidos a temperatura ambiente por cerca de 15 horas. Trinta minutos antes da aplicação das amostras, os géis eram resfriados à $2 \pm 1^{\circ}\text{C}$ em câmara frigorífica.

Extração das amostras

Os coleoptiles de coix, milho e teosinte foram macerados em placas previamente resfriadas, juntando-se tampão sacarose 16,7% e ácido ascórbico 8,3%, pH 7,0-7,5 (CARDY et al, 1983). A quantidade utilizada foi de aproximadamente 0,05 ml de extrator para cada 2 cm de coleoptile. Após a maceração, o extrato foi absorvido em papel de filtro Watman 3 mm, e estes aplicados no gel, para posterior análise da eletroforese.

Condições da eletroforese

Nessa análise aplicou-se uma amperagem de 25mA por um período de 25 minutos, seguido por interrupção, quando os papéis de filtro foram retirados dos géis. A seguir, novamente a amperagem de 25mA foi aplicada por uma hora, após a qual

aumentou-se para 30mA até a obtenção de 300V. O tempo total de corrida dos géis foi de aproximadamente 4 horas. Após a corrida dos géis, estes foram seccionados em 5 camadas horizontais, e cada uma revelada para uma enzima diferente.

Sistemas enzimáticos

Utilizaram-se nove sistemas enzimáticos, procurando-se identificar polimorfismos que permitissem a determinação da taxa de cruzamento. Os sistemas enzimáticos empregados e as suas composições foram:

ADH (álcool desidrogenase)- NAD 20 mg; MTT 10 mg; PMS 2 mg; etanol 99% 3 ml; TRIS 0.1M, pH7.5, 50ml.

EST (esterase)- Fast Blue RR 50 mg; 1-naftil acetato 3 ml; tampão fosfato 0.1M, pH6.25, 50 ml.

PRX (peroxidase)- 3A9EC 50 mg; NNDMF 3 ml; tampão Na acetato 0.05M pH4.5, 100 ml; H₂O₂ 3%, 0.75 ml.

GOT (glutamato oxaloacético transaminase)- -KG 100 mg; ácido aspártico 200 mg; P5P 10 mg; Fast Blue BB 150 mg; tampão TRIS 0.1M, pH8.5, 100 ml.

ME (enzima málica)- ácido málico 500 mg; NADP⁺ 7 mg; MTT 10 mg; PMS 2 mg; tampão TRIS 0.1M, pH7.5, 50 ml. O pH da solução foi ajustado para 7.0-7.5.

APS (fosfatase ácida)- Fast Blue K 50 mg; 2-naftil ácido fosfato 1% em 50 ml de acetona 1.5 ml; tampão Na acetato 0.05M, pH5.5, 50 ml.

PGM (fosfoglucomutase)- G-1-P 150 mg; NADP⁺ 7 mg; MTT 10 mg; PMS 2 mg; G6PDH 15 unidades, tampão TRIS 0.1M, pH 7.5, 50 ml.

As abreviações acima, referem-se aos seguintes compostos:

NAD - nicotinamida-adenina-dinucleotideo; NADP⁺ - fosfato de nicotinamida-adenina-dinucleotideo; MTT - (4,5-dimetil-2-tiazol) - 2,5-difenil-tetrazolium-bromide; PMS - phenazine methosulfato; TRIS - hidroximetil-amino-metano; G-1-P - glicose-1-fosfato; NNDMF - N.N dimetil-formamide; 3A9EC - 3 amino-9-etil-carbazol; -KG - alfa-cetoglutatarato.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das populações de Coix

4.1.1 Análise mitótica em populações do gênero Coix

A análise das células metafásicas de raízes mostrou que todas as quatro populações analisadas: Adlay, Rosário, Tailândia e Acre possuem número $2n=20$ (Figura 2). Esse resultado, segundo BOR (1960) indica que as populações estudadas podem ser consideradas tetraplóides, uma vez que o número básico dentro do gênero Coix é $n=5$. Como os cruzamentos artificiais de Adlay e Rosário, Adlay e Tailândia, e Adlay e Acre apresentaram alta taxa de frutos chochos (SILVA, W.J., comunicação pessoal), conclui-se que a esterilidade observada não deve ser atribuída a diferenças no número de cromossomos das populações parentais, mas sim a diferenças estruturais que devem existir nos cariótipos dessas populações.

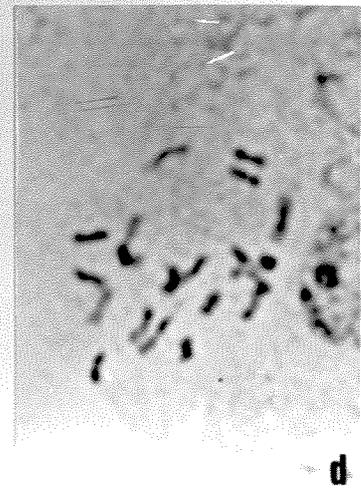
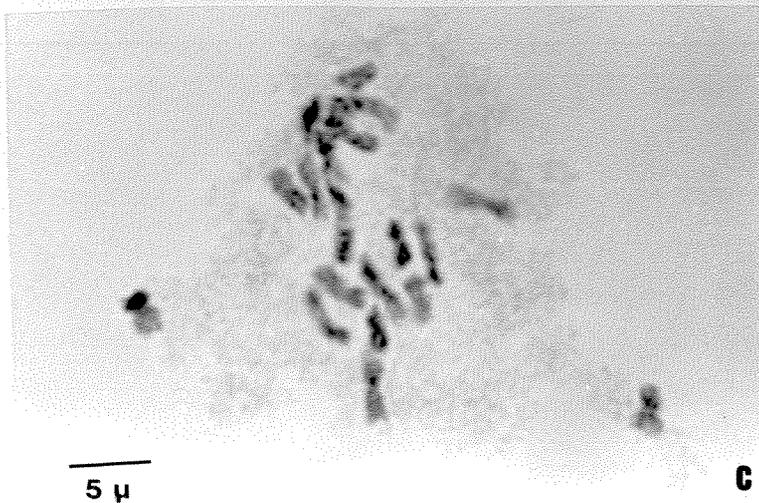
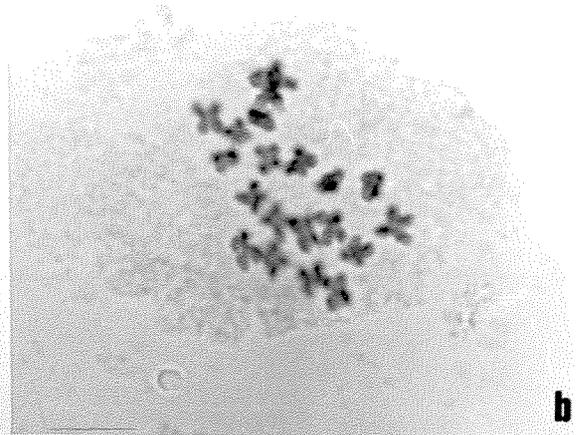
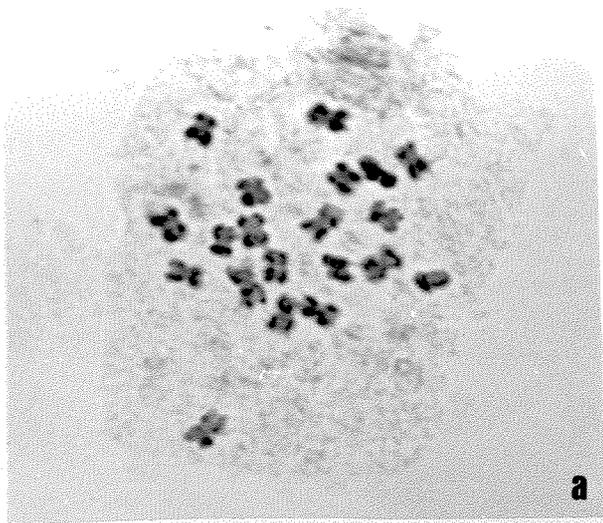


Figura 2: Cromossomos mitóticos de ponta de raiz de populações de Coix, coradas com orceína lactoacética.

a) Adlay, b) Rosário, c) Tailândia, d) Acre.

4.1.2 Análise de características das cinco populações de Coix

A Tabela 1 mostra o tempo médio necessário para o florescimento dos germoplasmas Adlay, Rosário, Rosadlay, Tailândia e Acre, analisados no ensaio experimental, instalado no Verão, na localidade de Campinas, SP. Observa-se que a população Adlay foi a mais precoce, florescendo 74 dias após o plantio. As populações Rosário e Rosadlay mostraram-se intermediárias e Tailândia e Acre as mais tardias, florescendo respectivamente aos 98, 101, 148 e 154 dias após o plantio.

A análise de variância realizada para as características analisadas (Tabela I do apêndice), mostrou efeitos de população significativos para todas as características.

O teste de Tukey para as características altura de planta, número total de nós, número de nós com fruto, número de pedúnculos florais e número de perfilhos é mostrado na Tabela 2. Pode-se observar que a data de florescimento está aparentemente relacionada com a altura da planta. O conhecimento dos ciclos de florescimento de populações submetidas a regimes diferentes de fotoperíodo é importante, porque revela o grau de sensibilidade de cada uma a este fator ambiental.



Tabela 1: Florescimento em dias após o plantio (DAP) nas cinco populações de Coix avaliadas em Campinas, SP, em experimento instalado em 07 de Novembro de 1988.

POPULAÇÃO	DAP
ADLAY	74
ROSÁRIO	98
ROSADLAY	101
TAILÂNDIA	148
ACRE	154

Tabela 2: Médias de características morfológicas nas populações de Coix e teste de Tukey com 5% de significância.

POPULAÇÃO	ALTURA	NÓS		PEDÚNCULOS FLORAIS	PERFILHOS
		TOTAL	COM FRUTOS		
	cm	nº	nº	nº	nº
ADLAY	87,5±11,1 a	5,5±0,8 a	3,9±0,9 a	7,1±0,4 a	4,4±0,6 ab
ROSÁRIO	163,2±21,5 b	10,0±1,3 b	6,7±1,2 b	5,5±0,3 b	4,0±0,8 a
ROSADLAY	217,4±22,4 c	10,3±1,1 b	7,4±1,1 b	4,9±0,2 b	5,3±0,6 c
TAILÂNDIA	263,3±20,1 d	13,4±1,0 c	3,9±0,9 a	3,4±0,5 c	4,5±0,7 ab
ACRE	296,2±18,5 e	13,5±1,1 c	4,6±0,9 a	3,6±0,4 c	5,1±0,8 bc

Além disso, fornece subsídios para a programação de plantios das populações. Com isso, pode-se promover a coincidência de florescimento de populações distintas, o que é altamente desejável para a realização de cruzamentos artificiais. A resposta da planta ao fotoperíodo, controlada geneticamente, também é um fator importante para promover o isolamento genético das populações. A maior ou menor resposta ao fotoperíodo define ainda a arquitetura da planta, dando indicações de quando devem ser cultivadas para seu máximo aproveitamento na agricultura, para produção de grãos, ou para produção de massa verde.

Informações provenientes de campos isolados sobre o florescimento das várias populações, instalados ao longo do ano, indicaram que essas populações são afetadas de maneira distinta pelo fotoperíodo. A população Rosário, por exemplo, quando plantada no mês de janeiro floresceu aos 75 dias após o plantio com altura média de planta ao redor de 56cm. A mesma população apresentou plantas com 160cm de altura, praticamente o dobro, quando cultivada no mês de novembro, florescendo aos 98 dias do plantio. A população Adlay, quando semeada em janeiro, floresce aos 47 dias após o plantio, ao invés de 74 dias quando semeada em novembro. As populações tardias, Acre e Tailândia, independentemente do plantio em setembro/outubro ou janeiro/fevereiro, vão florescer no mês de abril, comportando-se como os teosintes da Seção Luxuriantes, que florescem nessa mesma época e que são mais tardios que os teosintes da Seção Zea, onde se encontra o milho. Com isso, variam grandemente a altura média de planta, dependendo da época de semeadura. Ensaio de épocas

de plantio, para otimização dos componentes massa e grão, devem ser realizados visando a determinação das condições mais adequadas para a obtenção do produto que se almeja.

Com relação ao número de nós, observa-se que esta característica permitiu a separação das populações em três grupos distintos: Adlay, Rosário/Rosadlay e Tailândia/Acre. A análise comparativa do número de nós com produção de frutos, indicou que houveram diferenças significativas entre a população Adlay em relação a Rosário e Rosadlay, enquanto que não houve diferenças entre a população Adlay e as populações Tailândia e Acre. Isto mostra que embora os germoplasmas Tailândia e Acre sejam de porte mais alto que Adlay, e possuam um maior número de nós, essa componente da produção de frutos não foi maior nas populações tardias. A porcentagem de nós com fruto dá uma idéia de como as populações canalizam os seus recursos, para a produção de grãos ou de massa vegetativa. As populações Tailândia e Acre foram inferiores as demais, com uma relação de 30% e 35% de nós com frutos/nós totais, respectivamente. Adlay, Rosário e Rosadlay deram, respectivamente, 71%, 67% e 74%, indicando que esses alocam os seus recursos, principalmente, para produção de grãos, ao invés de produzir massa vegetativa, como Tailândia e Acre.

A população Adlay apresentou o maior número de pedúnculos florais, com uma média de 7,1 por ramificação, seguida das populações Rosário e Rosadlay, com as médias de 5,5 e 4,9, respectivamente. Tailândia e Acre apresentaram os menores valores, 3,4 e 3,6, respectivamente. Essa característica e a porcentagem de nós com frutos apresentaram respostas semelhantes

nas diferentes populações, indicando serem dois importantes componentes de produção de grãos nos germoplasmas de Coix estudados.

O número de perfilhos mostra que não houve diferenças entre os materiais Adlay, Rosário e Tailândia; Adlay, Tailândia e Acre, e entre Rosadlay e Acre, indicando que essa característica pouco serve para diferenciar os diferentes germoplasmas. Consequentemente, o número de perfilhos precisa estar associado a outras componentes de produção, como alta porcentagem de nós com frutos e alto número de pedúnculos florais, para se constituir em importante componente de produção de grãos em Coix.

As densidades dos frutos (Tabela 3), tanto com ou sem invólucro, não diferiram significativamente entre as várias populações, apesar dos frutos de Adlay e Rosadlay terem casca fina, e apesar dos frutos de Rosário, Acre e Tailândia serem mais pesados que os frutos de Adlay e Rosadlay. Desse modo, parece haver um balanço entre peso e volume, de forma a manter a densidade do fruto dentro de um mesmo intervalo para as várias populações, independente da textura do invólucro. Isso, possivelmente, ocorre para manter a estrutura física do fruto em condições de dar o suporte necessário para a disseminação da espécie.

A porcentagem de rendimento, entretanto, mostrou que as populações Adlay e Rosadlay apresentaram os maiores valores, ou seja, de 70,4% e 66,3%, seguidas das populações Tailândia, Acre e Rosário com 48,1%, 39,3% e 31,3%, respectivamente. Isso decorre, da variação em textura (mole até dura) do invólucro das

Tabela 3: Médias do peso, volume e densidade, e porcentagem de rendimento analisados por fruto com e sem a presença do invólucro (bainha modificada que recobre os frutos), e teste de Tukey com 5% de significância, em populações de Coix.

POPULAÇÃO	FRUTO COM INVÓLUCRO			FRUTO SEM INVÓLUCRO			RENDIMENTO
	PESO	VOLUME	DENSIDADE	PESO	VOLUME	DENSIDADE	
	mg	ul	mg/ul	mg	ul	mg/ul	%
ADLAY	38,91 a	36,67 a	1,06 a	27,41 a	27,78 a	0,99 a	70,4 a
ROSÁRIO	63,22 b	48,33 ab	1,31 a	19,74 b	15,56 b	1,27 a	31,2 c
ROSADLAY	42,04 a	38,89 ab	1,08 a	27,88 ac	27,78 a	1,00 a	66,3 a
TAILÂNDIA	61,79 b	49,44 ab	1,24 a	29,71 ac	23,89 ab	1,24 a	48,1 b
ACRE	85,91 c	65,56 b	1,31 a	33,70 c	27,78 a	1,21 a	39,3 bc

sementes nos três grupos. Além de contribuir com maior rendimento para a produção de grãos, as populações Adlay e Rosadlay, de casca mole, mostram a vantagem de serem facilmente beneficiadas após a colheita.

As populações Adlay, Rosário e Rosadlay apresentaram as menores porcentagens de frutos chochos, 16,7%, 20,4%, 21,6% respectivamente, enquanto a população Tailândia apresentou o maior valor, 45,5% (Tabela 4). Este fator é muito importante visto que no peso total os grãos chochos também foram considerados.

A porcentagem de frutos caídos após um mês e meio do início da maturação foi de 0,0%, 54,7%, 54,7%, 40,0% e 29,3% para as populações Adlay, Rosário, Rosadlay, Tailândia e Acre, respectivamente. Após quatro meses, a população Adlay apresentou 13,1% de frutos caídos. Embora o período considerado para a população Adlay tenha sido muito maior, essa população apresentou uma baixa taxa de frutos caídos. Isto, traz maior garantia de aproveitamento dos frutos na colheita. As demais populações devem ser colhidas o mais cedo possível, mesmo quando os frutos ainda estão parcialmente maduros, para diminuir o risco de queda prematura.

Ainda na Tabela 4 observa-se que há participação do invólucro no peso do grão, variando de germoplasma para germoplasma. Frutos com invólucro de Adlay, Rosário e Rosadlay, do mesmo peso, passaram a mostrar diferenças significativas, em frutos descacados. Adlay e Rosadlay apresentaram os maiores potenciais de produção de grãos por unidade de área.

Tabela 4: Porcentagem de frutos chochos e caídos, peso de frutos com e sem invólucro nas populações de Coix.

POPULAÇÃO	FRUTOS		PESO	
	CHOCHOS	CAÍDOS *	COM CASCA	SEM CASCA **
	%	%	t/ha	t/ha
ADLAY	16,7 a	13,1 a	3,68 a	2,59 a
ROSÁRIO	20,4 a	54,7 b	4,28 a	1,34 b
ROSADLAY	21,6 a	54,7 b	2,95 a	1,96 ab
TAILÂNDIA	45,5 b	40,0 b	0,42 b	0,20 c
ACRE	29,0 ab	29,3 ab	1,29 b	0,51 c

* estimada num período de 45 dias após o início da maturação, exceto na população Adlay, onde este período foi de quatro meses.

** o peso sem casca foi determinado multiplicando-se o peso dos frutos com casca pelo rendimento.

- as letras distintas indicam diferenças a 5% de significância



Os dados obtidos de características morfológicas das populações estudadas, tais como, altura, número total de nós, número de nós com fruto, pedúnculos florais e perfilhos, foram usados numa análise de variáveis canônicas para estudar o padrão de discriminação e ordenação do grau de proximidade dessas populações. De acordo com a análise canônica discriminante, observou-se que a variável canônica 1 (um) conteve a maior variação, na proporção de 0,93. Os coeficientes canônicos com valores mais altos nessa variável indicam que as características altura de planta e número total de nós foram as principais responsáveis pelas diferenças registradas entre as populações (Tabela 5). A figura 3 mostra que esta análise separou as populações em três grupos: a população Adlay num primeiro grupo, Rosário e Rosadlay no segundo, e Tailândia e Acre no terceiro. A Tabela 6 mostra as distâncias de Mahalanobis, entre as diferentes populações, com as quais realizou-se a análise de agrupamento (UPGMA). O fenograma obtido com essas distâncias (Figura 4) mostrou os mesmos três grupos obtidos na análise das variáveis canônicas.

Quando se analisa os germoplasmas sob o ponto de vista produção de grãos (Tabela 4) os dois primeiros grupos praticamente se unem, formando um conjunto, que se apresenta com maior potencial granífero em relação as populações Tailândia e Acre que permanecem distintas, num grupo mais dirigido para a produção de massa vegetativa. A população Adlay apresentou um conjunto desejável de componentes de produção de grãos, tais como, ciclo precoce, elevada porcentagem de nós com frutos,



Tabela 5: Coeficiêntes canônicos estandarizados da variável canônica 1 envolvendo cinco características de populações de Coix.

CARACTERÍSTICA	COEFICIENTE
ALTURA	2,87
NÚMERO DE NÓS	2,44
NÚMERO DE NÓS COM FRUTOS	-1,52
PEDÚNCULOS FLORAIS	-1,27
PERFILHOS	-0,22

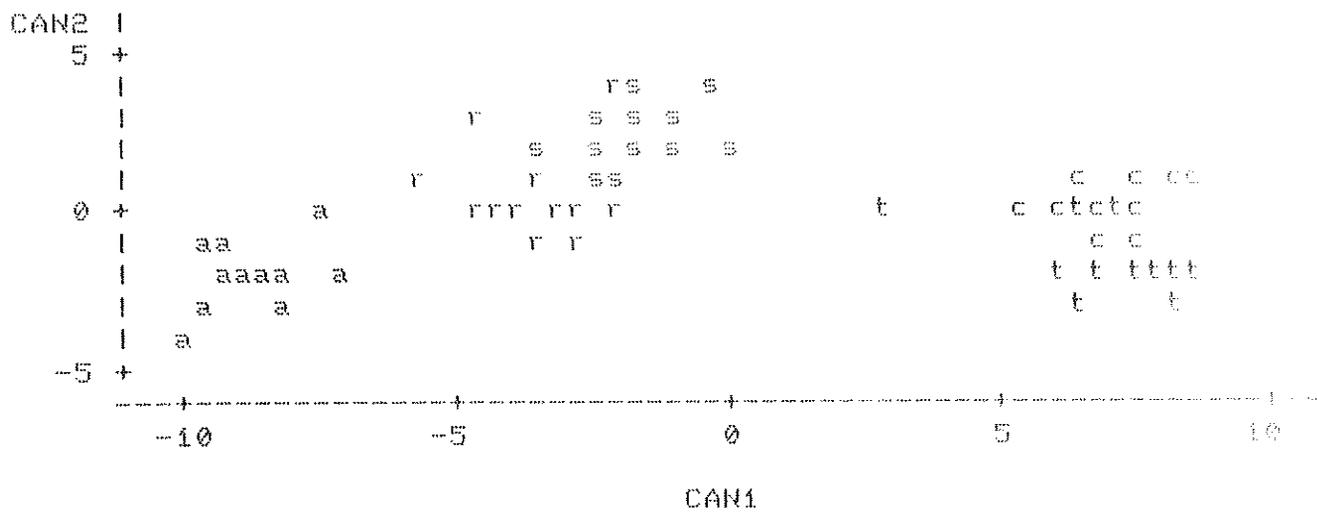


Figura 3: Gráfico da primeira e segunda variáveis da análise canônica de cinco populações de Coix. (A=Adlay, R=Rosario, RS=Rosadlay, T=Tailândia e C=Acre).



Tabela 6: Distâncias de Mahalanobis entre populações de Coix baseado em cinco características das plantas.

POPULAÇÃO	Adlay	Rosário	Rosadlay	Tailândia
Rosário	39,79			
Rosadlay	70,43	10,55		
Tailândia	251,54	112,60	90,37	
Acre	264,40	119,71	86,24	4,03

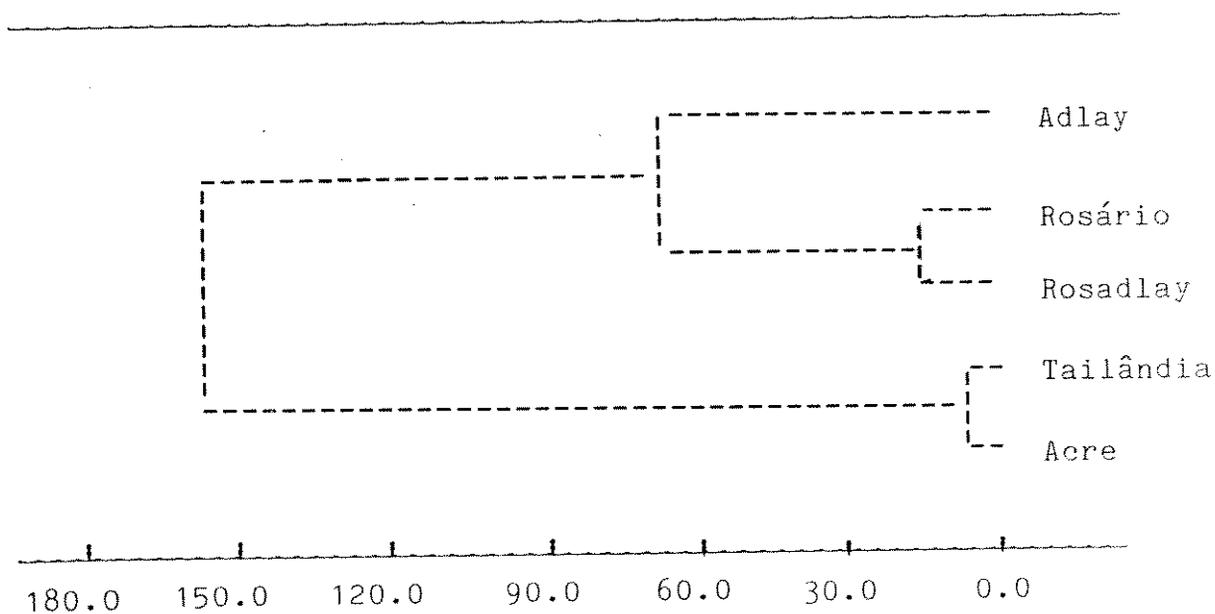


Figura 4: Fenograma da análise de agrupamento (UPGMA) de populações de Coix, baseada em cinco características fenotípicas das plantas (Coeficiente cofenético= 0,73).



elevado número de pedúnculos florais, baixa porcentagem de chochos, baixa porcentagem de frutos caídos, e bom rendimento, indicando o seu potencial para a produção agrícola. A população melhorada, Rosadlay, pelas características apresentadas, deve ser avaliada potencialmente como um tipo forrageiro.

4.1.3 Análise do padrão de florescimento de cinco populações de Coix.

Os dados apresentados na Tabela 7, revelam que a protoginia ocorre em todas as populações analisadas. Nas populações Rosário e Rosadlay não houve superposição entre o período do estigma receptível e o período de liberação de pólen, para nenhuma das plantas analisadas. Nesse caso, não houve condição alguma para ocorrer autofecundação dentro de uma mesma inflorescência. Já nas populações Tailândia e Acre, embora, em média, as flores masculinas tenham liberado pólen 2,4 e 5,0 dias, respectivamente, após o murchamento do estigma, em cerca de 3/5 e 3/9 das plantas analisadas, respectivamente, houve coincidência parcial dos dois períodos, dando, pelo menos teoricamente, condições para a realização de autofecundação na mesma

inflorescência. Nessa Tabela, de uma maneira geral, ocorreram algumas diferenças, nos períodos de estigma receptível das populações. Entretanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no intervalo médio entre o murchamento do estigma e a liberação de pólen.

A análise diária do padrão de florescimento de uma planta, realizada durante um período de aproximadamente 50 dias, permitiu observar que, inicialmente, forma-se um gradiente de florescimento da região apical em direção à basal, ao longo do perfilho. Em seguida, este gradiente começa a desaparecer, observando-se, ao longo de 30 dias aproximadamente, que o florescimento passa a ocorrer, ao acaso, ao longo do perfilho. Num mesmo instante, são, então, encontradas inflorescências no mesmo, ou em diferentes estádios de maturação. Isto decorre da grande quantidade de inflorescências que vão surgindo em épocas diferentes nos nós dos vários ramos dos perfilhos ao longo do tempo. Consequentemente, cria-se na planta, sem restrições, condições para a realização tanto de autofecundação, como de cruzamentos naturais. No fim do período de florescimento de um perfilho, forma-se novamente um gradiente de florescimento da região apical para a basal, como na primeira fase.

Tabela 7: Médias e teste de Tukey com 5% de significância para período de estigma receptível (ER), e para o intervalo médio entre o dia de murchamento do estigma e a liberação de pólen (LP) numa mesma inflorescência em populações de Coix.

GERMOPLASMA	PLANTAS	ER		LP
	ANALISADAS	dias		dias
	nº			
ROSÁRIO	15	5,1 ±0,5	ab	4,6 ±0,9 a
ROSADLAY	15	3,5 ±0,6	a	4,9 ±0,5 a
TAILÂNDIA	5 (3)*	8,4 ±0,8	b	2,4 ±2,1 a
ACRE	9 (7)	6,5 ±2,4	ab	5,0 ±3,3 a

4.1.4 Medidas de diâmetro e viabilidade de grãos de pólen nas cinco populações de Coix.

As medidas (um) do diâmetro de grãos de pólen, levemente comprimidos entre lâmina e lamínula, de cinco populações de Coix, são mostradas na Tabela 8. O teste de KRUSKAL-WALLIS (CAMPOS, 1979), de heterogeneidade entre populações quanto a essa característica, indicou que a população Adlay difere das populações Rosário e Tailândia. As diferenças entre as demais populações não foram significativas (Tabela 9). Mesmo nos casos onde houve diferenças no tamanho do grão de pólen, estas foram menores do que 10%, mostrando que são desprezíveis apesar das populações de Coix serem bastantes distintas.

As porcentagens de grãos de pólen viáveis, ilustrada na Tabela 10, mostram que, em média, esses valores são superiores a 82%, indicando não haver problemas de viabilidade de grãos de pólen nessas populações. Se considerarmos que todas essas populações são tetraplóides, a alta porcentagem de frutos chochos nas populações, não deve ser atribuída a irregularidades no pareamento de cromossomos na meiose. A Tabela 11 mostra o teste de KRUSKAL-WALLIS para a viabilidade de grãos de pólen. Embora todas as populações apresentem alta viabilidade, as diferenças entre elas, em alguns casos mostraram-se significativas, indicando a presença de algum fator específico alterando a viabilidade do pólen.



Tabela 8: Diâmetro médio de grãos de pólen nas cinco populações de Coix.

POPULAÇÃO	DIÂMETRO
	um
Adlay	66,7±2,5
Rosário	64,1±2,5
Rosadlay	64,9±2,6
Tailândia	65,4±5,6
Acre	65,6±3,7

Tabela 9: Teste de KRUSKAL-WALLIS para análise de heterogeneidade entre populações de Coix: Adlay(A), Rosário(R), Rosadlay(RS), Tailândia (T) e Acre (AC) quanto ao diâmetro de grãos de pólen (um).

	R	RS	T	AC	R
A	23,77*	16,35NS	24,10*	11,20NS	51,80
R		-7,42NS	0,33NS	-12,57NS	28,03
RS			7,75NS	-5,15NS	35,45
T				-12,90NS	27,70
AC					40,60

SN não significativo

* significativo ao nível de 5%



Tabela 10: Porcentagem de grãos de pólen viáveis em cinco populações de Coix.

POPULAÇÃO	VIABILIDADE
	%
Adlay	91,3
Rosário	97,3
Rosadlay	98,3
Tailândia	91,8
Acre	82,2

Tabela 11: Teste de KRUSKAL-WALLIS para análise de heterogeneidade entre populações de Coix: Adlay(A), Rosário(R), Rosadlay(RS), Tailândia(T) e Acre (AC), quanto a viabilidade de grãos de pólen (%).

	R	RS	T	AC	R
A	-14,70NS	-18,60**	0,50NS	6,03NS	13,70
R		-3,90NS	14,20NS	20,73**	28,40
RS			18,10*	24,63***	32,30
T				6,53NS	14,20
AC					7,67

NS não significativo

* significativo ao nível de 5%

** significativo ao nível de 1%

*** significativo ao nível de 0,1%

4.2 APOMIXIA

Os resultados obtidos quanto ao número de sementes formadas nas cinco populações com emasculação são mostrados na Tabela 12. As sementes não formadas apresentaram invólucro totalmente esbranquiçado, ôco e mole, independentemente do formato, piriforme ou ovóide, da população.

Os resultados do tratamento de autopolinização, realizado como controle indicam que com o ensacamento dos ramos houve uma redução de 1/4 a 1/5 na formação de frutos autofecundados. A baixa taxa de sementes formadas na autofecundação, como visto anteriormente, não deve ser atribuída a protoginia, uma vez que a população Rosário apresentou maior formação de sementes do que Tailândia, e nesta última, como mostrado, ocorreu uma maior superposição do florescimento do pistilo e estame. Verificou-se, também, que poucas sementes se formaram na porção apical do ramo ensacado. A maior concentração de sementes formadas encontrava-se na região mediana e inferior. Isso provavelmente se deve ao fato das inflorescências masculinas situadas na região apical liberarem pólen sobre os estigmas receptivos das flores inferiores.

A porcentagem média de 0,3% encontrada, nos cinco germoplasmas, para a formação de frutos com emasculação mostra que a apomixia espontânea é praticamente inexistente nas populações estudadas de Coix.

Tabela 12: Frutos formados no tratamento de emasculação (E) e autofecundação (A) para verificar a ocorrência de apomixia induzida em cinco populações de Coix.

POPULAÇÃO		PLANTAS ANALISADAS	FRUTOS OBSERVADOS	FRUTOS FORMADOS	
				NÚMERO	PORCENTAGEM
Adlay	(E)	15	1423	04	0,3
	(A)	8	664	138	20,8
Rosário	(E)	14	436	12	2,8
	(A)	8	578	249	43,1
Rosadlay	(E)	20	15767	34	0,2
	(A) *				
Tailândia	(E)	11	802	00	0,0
	(A)	5	235	58	24,7
Acre	(E)	6	269	01	0,4
	(A)	2	28	10	34,7
Média	(E)	66	18697	51	0,3
	(A)	16	1505	455	30,2

* não realizado

A tabela 13, por outro lado, mostra os resultados para o teste de hipótese da existência de apomixia induzida na população Adlay. As plantas de Adlay foram utilizadas como progenitor feminino por possuírem apenas o alelo 1 da enzima ADH-1 (Figura 5). Flores emasculadas de Adlay foram polinizadas artificialmente com pólen de Rosário. Nesta última população, foi determinado que a frequência gênica do alelo 2 é de 0,8. Estes cruzamentos foram realizados para verificar a possível ocorrência de apomixia induzida em Adlay, pois como se sabe, há necessidade do contato de pólen com o estigma para desencadear a apomixia induzida, como é conhecido em alguns gêneros (HANNA & BASHAW, 1987). O teste de qui-quadrado ($\chi^2 = 17,60$), indicou que neste experimento não se tem condições de descartar a possibilidade de ocorrência de apomixia induzida na população Adlay. W. J. SILVA (comunicação pessoal), em estudos de genética e melhoramento de Coix, tem realizado cruzamentos artificiais entre as populações: Adlay e Rosário, Adlay e Tailândia, Adlay e Acre, Adlay e Cristina Verde. Características dos dois parentais tem sido facilmente observadas nas gerações F_1 desses cruzamentos e nas gerações F_2 , F_3 , etc, indicando, claramente, a ocorrência de reprodução sexuada. Isto não exclui, obviamente, a possibilidade de ocorrência de apomixia induzida do tipo facultativa, ou seja, a produção de descendentes a partir de uma mistura de sementes híbridas e sementes apomíticas.

Novos cruzamentos com marcadores isoenzimáticos apropriados, envolvendo populações distintas, devem ser realizados para se obter informações conclusivas.

Tabela 13: Frequência de genótipos nas progênies do cruzamento entre as populações Adlay e Rosário de Coix, para a enzima ADH-1, para teste da existência de apomixia induzida.

PROGÊNIE	GENÓTIPOS			
	1,1	1,2	2,2	
1	0	2	0	
2	2	5	0	
3	1	0	0	
4	7	11	0	
5	6	2	0	
6	1	2	0	
7	0	2	0	
8	2	0	0	
9	0	1	0	
10	4	6	0	
11	0	1	0	
12	2	0	0	
13	0	3	0	
total observado	25	35	0	$\chi^2 = 17,6^{**}$
total esperado*	12	48	0	

* estimado com base na frequência gênica de 0,8 para o alelo 2 da população de Rosário.

** significativo ao nível de 0,1%.

4.3 Estimativa da taxa de cruzamento em cinco populações de Coix.

Foram instalados dois lotes de cruzamentos, um empregando marcador morfológico e outro, marcador isoenzimático, para se estimar as taxas de cruzamento natural entre as populações estudadas.

4.3.1 Estimativa de taxa de cruzamento envolvendo duas populações de Coix, usando-se marcador morfológico.

O invólucro duro indicou o cruzamento de Adlay com Rosário, enquanto que o mole indicou a ocorrência de autofecundação. Os resultados obtidos estão presentes na Tabela 14. A taxa de cruzamento nas sete progênies variou de 30,1 a 46,6%, com uma média de 37,4%.

Tabela 14: Taxa de cruzamento estimada a partir do cruzamento natural das populações Adlay e Rosário de Coix usando marcador morfológico: consistência do invólucro.

PROGÊNIE	PLANTAS ESTUDADAS	PLANTAS COM INVÓLUCRO DURO	TAXA DE CRUZAMENTO
	nº	nº	%
1	45	18	40,0
2	76	28	36,8
3	93	36	38,7
4	177	64	36,2
5	51	22	43,1
6	103	48	46,6
7	163	49	30,1
total	708	265	média: 37,4

4.3.2 Estimativa da taxa de cruzamento estimada em populações de Coix através de estudos isoenzimáticos.

As Tabelas 15 a 20 mostram as caracterizações isoenzimáticas das populações. As enzimas PRX e APS apresentaram-se heteromórficas, porém com vários padrões isoenzimáticos, sendo necessário a realização de testes de progênie para serem utilizadas adequadamente. Por esta dificuldade momentânea foram descartadas no presente trabalho.

As enzimas EST, GOT, ME, e PGM apresentaram-se monomórficas para todas as populações analisadas, mostrando-se inadequadas para o estudo de taxa de cruzamento.

O sistema referente a enzima ADH apresentou-se heteromórfico, e assim foi escolhido para a estimativa da taxa de cruzamento, nas populações polimórficas. O padrão isoenzimático observado foi a da ADH, aqui referido como loco 1 (ADH-1), que claramente é uma enzima dimérica. As bandas nos géis apresentaram-se finas, de boa coloração e nítidas.

Figura 15: Sistemas isoenzimáticos e seus padrões na população Adlay de Coix.

PLANTAS ANALISADAS	SISTEMA ENZIMÁTICO	PADRÃO
100	ADH	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	GOT	três regiões referentes a três locos com padrões monomórficos
	EST	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	PRX anodo	padrão heteromórfico, porém muito complexo, necessitando testes de progênie para melhor interpretação dos resultados
	catodo	duas regiões referentes a dois locos com padrões monomórficos
	ME	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	APS	resolução dos géis com bandas muito difusas, sem condições de análise
	PGH	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	G6PDH	não realizado

Figura 16: Sistemas isoenzimáticos e seus padrões na população Rosário de Coix.

PLANTAS ANALISADAS	SISTEMA ENZIMÁTICO	PADRÃO
148	ADH	uma região referente a um loco com padrão heteromórfico
	GOT	três regiões referentes a três locos com padrões monomórficos
	EST	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	PRX anodo	padrão heteromórfico, porém muito complexo, necessitando testes de progênie para melhor interpretação dos resultados
	catodo	duas regiões referentes a dois locos, uma com padrão heteromórfico, e a segunda com padrão monomórfico
	ME	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	APS	resolução dos géis com bandas muito difusas, sem condições de análise
	PGM	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	G6PDH	uma região referente a um loco com padrão monomórfico

Figura 17: Sistemas isoenzimáticos e seus padrões na população Rosadlay de Coix.

PLANTAS ANALISADAS	SISTEMA ENZIMÁTICO	PADRÃO
194	ADH	uma região referente a um loco com padrão heteromórfico
	GOT	três regiões referentes a três locos com padrões monomórficos
	EST	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	PRX anodo catodo	sem resolução duas regiões referentes a dois locos com padrões monomórficos
	ME	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	APS	resolução dos géis com bandas muito difusas, sem condições de análise
	PGM	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	G6PDH	não realizado

Figura 18: Sistemas isoenzimáticos e seus padrões na população Tailândia de Coix.

PLANTAS ANALISADAS	SISTEMA ENZIMÁTICO	PADRÃO
100	ADH	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	GOT	três regiões referentes a três locos com padrões monomórficos
	EST	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	PRX anodo catodo	sem resolução duas regiões referentes a dois locos com padrões monomórficos
	ME	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	APS	resolução dos géis com bandas muito difusas, sem condições de análise
	PGM	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	G6PDH	não realizado

Figura 19: Sistemas isoenzimáticos e seus padrões na população Acre de Coix.

PLANTAS ANALISADAS	SISTEMA ENZIMÁTICO	PADRÃO
195	ADH	uma região referente a um loco com padrão heteromórfico
	GOT	três regiões referentes a três locos com padrões monomórficos
	EST	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	PRX anodo	padrão heteromórfico, porém muito complexo, necessitando testes de progênie para melhor interpretação dos resultados
	catodo	sem resolução
	ME	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	APS	resolução dos géis com bandas muito difusas, sem condições de análise
	PGM	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	G6PDH	não realizado

Figura 20: Sistemas isoenzimáticos e seus padrões na população I-47 de Coix.

PLANTAS ANALISADAS	SISTEMA ENZIMÁTICO	PADRÃO
217	ADH	uma região referente a um loco com padrão heteromórfico
	GOT	três regiões referentes a três locos com padrões monomórficos
	EST	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	PRX anodo	padrão heteromórfico, porém muito complexo, necessitando testes de pro-gênie para melhor interpretação dos resultados sem resolução
	catodo	
	ME	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	APS	resolução dos géis com bandas muito difusas, sem condições de análise
	PGM	uma região referente a um loco com padrão monomórfico
	G6PDH	uma região referente a um loco com padrão monomórfico

As Figuras 5 e 6 revelam os padrões observados para as diferentes populações. A Figura 5 se refere as populações Adlay e Tailândia que apresentaram padrão monomórfico com somente o alelo 1 presente nessas populações. Desta forma, a taxa de cruzamento nessas duas populações, infelizmente não pôde ser determinada por essa técnica. A Figura 6 é referente às populações de Rosário, Acre, Rosadlay e I-47. Nesse esquema pode-se identificar os alelos 1 e 2 presentes nas populações, formando os homozigotos 1,1 e 2,2, e o heterozigoto 1,2.

A Figura 7 mostra o padrão enzimático para a enzima ADH-1 testada para Coix e milho. Pode-se observar que o padrão isoenzimático mostrou-se semelhante para os dois materiais, ou seja, tanto a população Adlay como a população de milho MAYA apresentaram-se monomórficas. No entanto, pode-se verificar que o milho possui um maior Rf em comparação com o Coix. Outros sistemas enzimáticos também foram testados para esses dois gêneros, e a enzima GOT apresentou três locos, nos quais dois se mostraram semelhantes ao milho, e um deles com diferente migração. A enzima EST mostrou-se monomórfica para os dois materiais, possuindo os alelos, a mesma migração nos géis. A comparação entre esses dois gêneros e teosinte, também foi realizada para a enzima ADH-1, verificando-se que os alelos presentes no teosinte são os mesmos do milho, diferindo desta forma, dos alelos do Coix. MISHARIN et al (1983) já havia verificado que existem semelhanças e diferenças entre determinados sistemas enzimáticos entre Coix, milho, teosinte e

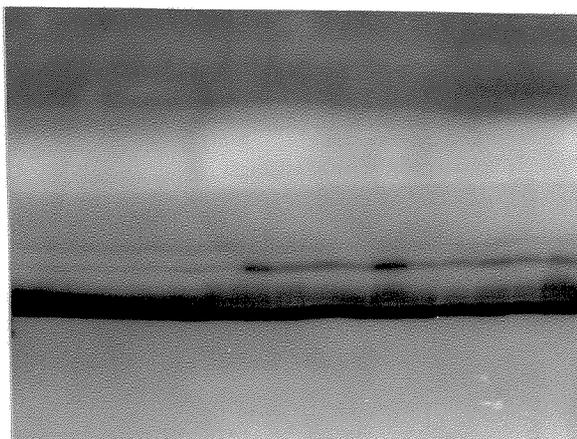


Figura 5: Expressão da enzima ADH-1 em coleoptilo das populações Adlay e Tailândia de Coix. 1) alelo um.

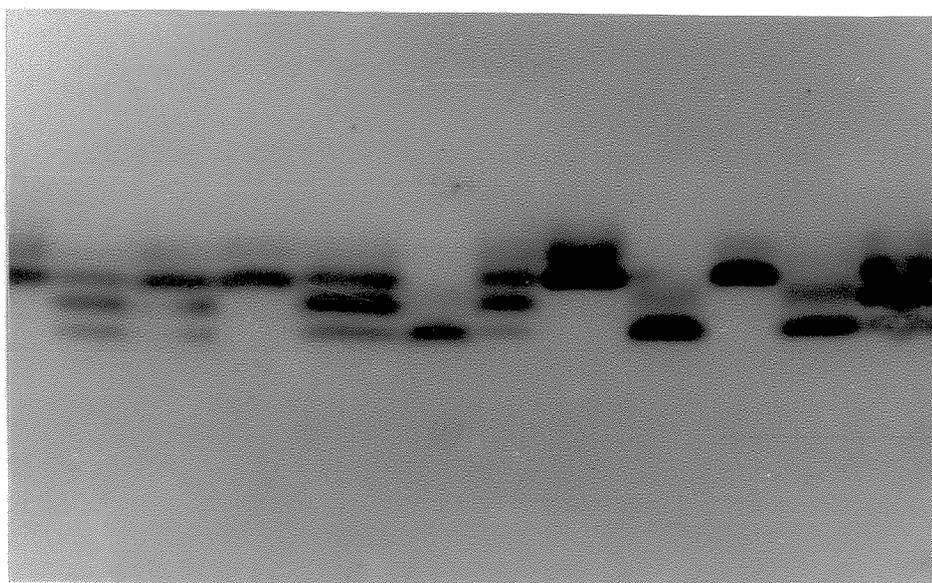


Figura 6: Expressão da enzima ADH-1 em coleoptilo de plantas individuais representativas das populações Rosário, Rosadlay, I-47 e Acre de Coix. 1) alelo um , 2) alelo dois.

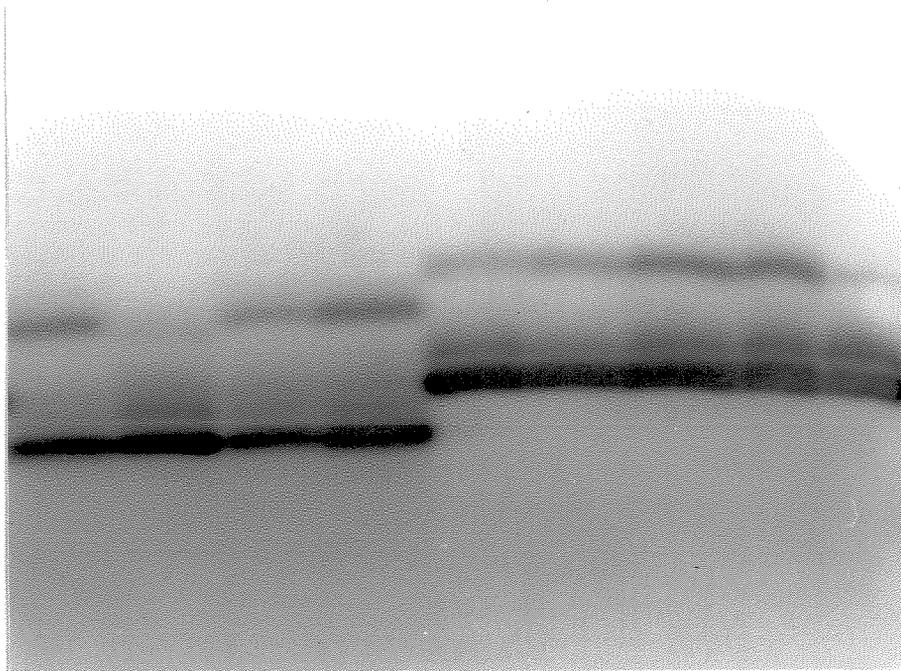


Figura 7: Expressão da enzima ADH-1 em coleoptilo de Coix e milho. A banda de menor migração corresponde a população Adlay de Coix.

Tripsacum. Para a enzima ADH observou que existem populações de milho semelhantes, enquanto outras são distintas do Coix. Para as enzimas SDH (sorbitol desidrogenase) e GDDH (glutamato desidrogenase), o Coix apresentou padrões isoenzimáticos distintos dos demais germoplasmas. As maiores semelhanças entre os vários sistemas enzimáticos foram encontrados entre milho e teosinte, enquanto que Coix e Tripsacum apresentaram-se bem distintos entre eles e entre os demais. Os dados revelam que esses genes distintos podem ser utilizados como indicadores na obtenção de plantas transgênicas envolvendo os três gêneros.

As taxas de cruzamento estimadas com base no polimorfismo enzimático de ADH-1 para as populações de Coix são mostrados na Tabela 21. O teste de qui-quadrado indicou, inicialmente, que as populações não se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg, sugerindo a presença de homozigotos em excesso, consequência provável de mecanismos naturais que promovem a endogamia. A diferença na taxa de cruzamento nas três populações genotipicamente aparentadas, ou sejam Rosário, Rosadlay e I-47, não foi significativa pela análise do intervalo de confiança de proporção (A. PIEDRABUENA, comunicação pessoal). A taxa de cruzamento nessas populações de tipo granífero deu um valor médio de 35,9% , bastante próximo do valor de 37,4% obtido com o marcador genético morfológico em Adlay, também do tipo granífero. Desse modo, essas populações de Coix parecem tratar-se de populações do tipo intermediário, de acordo com a taxa de cruzamento. A população Acre, do tipo vegetativo, mostrou uma

Tabela 21: Qui-quadrado para teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg e taxa de cruzamento de quatro populações de Coix: Rosário, Acre, Rosadlay e I-47 estimadas através de análise isoenzimática no sistema ADH-1. Os valores entre parênteses indicam a frequência genotípica esperada em condições de equilíbrio de Hardy-Weinberg.

GERMOPLASMA	TOTAL DE PLANTAS ANALISADAS	GENÓTIPOS			χ^2	TAXA DE CRUZAMENTO
		1,1	1,2	2,2		
		nº	nº	nº		%
ROSÁRIO	148	15 (5)	24 (44)	109 (99)	31,03***	37,2 a #
ROSADLAY	194	75 (57)	60 (96)	59 (41)	27,69***	45,6 a
I-47	217	53 (29)	52 (101)	112 (88)	49,45***	34,9 a
ACRE	195	59 (51)	82 (97)	54 (47)	4,61*	72,8 b

* significativo ao nível de 5%

*** significativo ao nível de 0,1%

as letras indicam o grau de semelhança entre as taxas de cruzamento, através do intervalo de confiança de proporção.

taxa de cruzamento de 72,8%, valor este significativamente diferente dos demais, o que a caracteriza como uma população alógama.

Na tentativa de se ter um pouco mais de informação sobre a ocorrência de apomixia facultativa em Coix, esta foi estimada na geração seguinte de Rosadlay e Acre.

Os resultados obtidos mostraram um taxa de cruzamento de 67,6% para Rosadlay de 77,9% para o Acre. A diferença entre as taxas de cruzamento para a população Rosadlay, em duas gerações sucessivas, foi significativa, pois variou de 45,6% para 67,6%. A apomixia do tipo facultativo poderia explicar esta oscilação. Já na população Acre, o mesmo não foi observado, pois a taxa de cruzamento oscilou de 72,8% para 77,9% na geração seguinte.

A apomixia é altamente afetada tanto por fatores ambientais como genéticos (HANNA & BASHAW, 1987). Forma-se na população um gradiente de apomixia, que é aparentemente controlado por um pequeno número de genes. Além do controle genético, este gradiente pode ser influenciado por fatores ambientais, que promovem ou reduzem a taxa de apomixia. KNOX & HESLOP - HARRISON (1963) observaram que em outras gramíneas da mesma tribo Andropogoneae o gradiente da apomixia variou em condições de estresse, levando a uma diminuição da apomixia, e conseqüente aumento da sexualidade. Pode-se, assim, pelo menos hipoteticamente, pensar-se na ocorrência de apomixia facultativa do tipo induzida, em populações de Coix. Efeito este, que dependendo da magnitude poderia alterar a estimativa da taxa de cruzamento de uma geração para outra. Poderia também, contribuir

para promover desvios da frequência esperada de genótipos em uma população em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A taxa de cruzamento da população Adlay não pôde ser estimada pelo método de isoenzimas, por não apresentar polimorfismo para as enzimas analisadas. Este resultado é compatível com a grande uniformidade apresentada por esta cultivar. A população é extremamente homogênea, ano após ano, não havendo diferença nenhuma, pelo menos visivelmente, entre as plantas, o que, ao contrário pôde ser facilmente observado nas demais populações. Como já discutido anteriormente, esta população apresentou baixa porcentagem de frutos caídos, bom potencial para produção de grãos e insensibilidade ao fotoperíodo. Estes atributos sugerem uma maior domesticação desta população em relação às demais.

O estudo da taxa de cruzamento e o tipo de planta baseado na estratégia de armazenamento de produtos fotossintéticos em grãos ou em tecido vegetativo, aproximaria um pouco mais a população Adlay da Rosário, na análise fenética realizada. Esse estudo sugere a organização de dois grupos com características distintas e a formulação da hipótese que as populações Adlay, Rosário e Rosadlay e o grupo Tailândia e Acre não apenas parecem ser grupos diferentes, bem como podem tratar-se de espécies diferentes de Coix. As populações analisadas apresentaram número de cromossomos $2n=20$, o que pode ser encontrado tanto na espécie Coix lacryma-jobi, como na espécie Coix gigantea. Dados taxonômicos encontrados em trabalhos de JAIN & BANERJEE (1974) e GILLILAND et al (1971), para a espécie

Coix gigantea, são compatíveis com os encontrados nas populações Tailândia e Acre, tais como frutos de maior tamanho, chegando a praticamente ao dobro dos tipos graníferos, e plantas com altura superior a 3 metros. Uma outra característica é que as plantas da espécie C. gigantea apresentam hábito perene, enquanto a espécie C. lacryma-jobi é anual (GILLILAND et al, 1971). Observou-se, no presente trabalho, que as populações Tailândia e Acre apresentaram, no Verão seguinte, rebrota ao longo de todo o colmo, com produção de novos frutos, enquanto em Adlay, Rosário e Rosadlay a rebrota ocorre somente na base dos colmos, como já retratado por RAO (1975) (Figura 8). O tipo de rebrota apresentado pelas populações Tailândia e Acre é característico de hábito perene. Outras análises envolvendo aspectos citotaxonômicos deverão ser realizadas para esclarecer se as diferenças registradas entre os dois grupos ocorrem ao nível intra ou interespecífico.



Figura 8: a) Padrão de rebrota observado nas populações Adlay, Rosário e Rosadlay de Coix.

b) Padrão de rebrota observado nas populações Tailândia e Acre de Coix.

5. CONCLUSÕES

As seguintes conclusões podem ser tiradas do presente trabalho:

1. A população Adlay mostrou-se a de ciclo precoce, insensível ao fotoperíodo, com grande potencial para produção de grãos, e boa retenção dos frutos aguardando a colheita. Desse modo tem, claramente, características de um espécie domesticada. A variedade Rosadlay, derivada de Adlay, apresentou bom potencial para produção de grãos e grande massa vegetativa, devendo portanto, ser avaliada como forrageira.

2. A análise da variável canônica, baseada em características morfológicas permitiu agrupar os germoplasmas em três grupos principais. O primeiro constituído pela população Adlay, o segundo pelas populações Rosário e Rosadlay, e um terceiro com Tailândia e Acre. O mesmo resultado foi obtido com a análise de agrupamento (UPGMA). Em relação a produção de grãos, a divisão se deu em dois grupos: um granífero (Adlay, Rosário e Rosadlay), e outro vegetativo (Tailândia e Acre).

3. Um padrão único de florescimento foi observado nas diferentes populações analisadas. Na maior parte do período, o florescimento ocorreu ao acaso ao longo dos ramos do perfilho. Foi observado, entretanto, um gradiente de florescimento de cima

para baixo no início e no fim do processo reprodutivo.

4. A apomixia espontânea parece não existir nas populações analisadas. A apomixia induzida, entretanto, pode ter ocorrido na população Adlay, quando polinizada por pólen da população Rosário. Oscilações na taxa de cruzamento de Rosadlay de uma geração para outra, sugerem a existência de apomixia induzida do tipo facultativo. Esses resultados devem ser novamente verificados e estendidos a outras populações de coix, para teste definitivo dessa hipótese.

5. As populações do grupo granífero, Adlay, Rosário e Rosadlay apresentaram taxas de cruzamento semelhantes. Baseada na enzima ADH-1 encontrou-se uma taxa média de 39,2% para as populações Rosário, Rosadlay e I-47, enquanto que a população Adlay apresentou uma taxa de 37,4, estimada em estudos com marcador morfológico. A população Acre, do grupo vegetativo, apresentou taxa de cruzamento ao redor de 72,8%, também baseada na enzima ADH-1.

6. A consideração simultânea de características morfológicas e aspectos da biologia da reprodução sugere a separação das populações em dois grupos aqui denominados de granífero e vegetativo, que podem se tratar de espécies distintas de coix. O tipo granífero pertenceria à espécie Coix lacryma-jobi, e o vegetativo à espécie Coix gigantea, uma vez que a análise citogenética mostrou que todas as populações possuem $2n=20$.

6. RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo principal gerar conhecimentos sobre a estrutura genética de algumas populações de Coix, em função de seu sistema reprodutivo. Para tanto, efetuou-se uma análise comparativa de várias populações, e realizou-se estudos de aspectos de biologia de reprodução, canalizando-os para a estimativa da taxa de cruzamento dessas populações.

Os resultados mostraram que a população Adlay possui características de uma população domesticada. A população Rosadlay apresentou potencial para produção de grãos e grande massa verde, devendo, portanto ser avaliada como forrageira.

A análise da variável canônica agrupou os germoplasmas em três principais grupos, em relação a características da arquitetura das plantas. O primeiro constituído pela população Adlay, o segundo, pelas populações Rosario e Rosadlay, e um terceiro por Acre e Tailândia. O mesmo resultado foi obtido com a análise de agrupamento (UPGMA). Com relação ao potencial para produção de grãos, a divisão se deu em dois grupos, um granífero formado por Adlay, Rosário e Rosadlay, e um outro vegetativo por Acre e Tailândia.

Um único padrão de florescimento foi observado para todas as populações, apresentando um gradiente de cima para baixo, apenas no início e fim do florescimento.

A apomixia facultativa parece não existir nessas populações. A apomixia induzida, porém, pode ter ocorrido na

população Adlay, quando polinizada por pólen de Rosário, uma vez que houve maior frequência de genótipos homozigotos, em relação ao esperado.

A taxa de cruzamento média no grupo granífero foi de 39,2%. Na população Acre, do grupo vegetativo, foi de 72,8%.

As características observadas sugerem que as populações do grupo granífero podem fazer parte da espécie Coix lacryma-jobi, enquanto as do grupo vegetativo podem pertencer a espécie Coix gigantea, uma vez que as análises citogenéticas mostraram que todas as populações possuem $2n=20$.

6. SUMMARY

The main objective of this work was to generate knowledge about the genetic structure of some Coix populations, based upon their reproductive system. Thus, a comparative reproductive analysis of many populations was carried out, and studies on the biology of reproduction were made, aiming to estimate the crossing rates of such populations.

The results suggested that the Adlay population has withholds characteristics of a domesticated population. As the Rosadlay population showed a potentiality for grain yield and green mass, it should therefore be evaluated as a forage crop.

The canonical variable analysis gathered the populations in three groups, according to the architecture of the plants. The first group was composed by the Adlay population, the second one comprised both the Rosário and Rosadlay, and the third one was formed by Acre and Tailândia. The same result was observed when the group analysis (UPGMA) was applied. Concerning grain yield, two groups were asserted: a grainy one comprising Adlay, Rosário and Rosadlay; and a vegetative one composed by Acre and Tailândia.

Only one flowering pattern was observed presenting a gradient from top to bottom at the beginning and at the end of flowering, for all the populations.

Spontaneous apomixis seems not be present in these populations. However, induced apomixis way have occurred in the

Adlay population when pollinated with Rosário pollen, as far as a great number of seeds carrying homozygotic genotype, rather than the expected one, was observed.

The average crossing rate in the grainy group was 39,2%. In the Acre population, from the vegetative group, it was 72,8%.

The characteristics observed imply that the populations in the grainy group may belong to the Coix lacryma-jobi species whereas those in the vegetative group may belong to the Coix gigantea species.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD R.W. 1960. Principles of Plant Breeding. John Wiley & Sons, Inc.
- ARORA, R.K. 1974. Adlay (Coix) crop in Meghalaya. Journal India Bot. Soc. 52: 95-98.
- ARORA R.K. 1977. Job's tears (Coix lacryma-jobi)- a minor food and fodder crop of Northeastern India. Economic Botany 31(3): 358-366.
- ASCHERI, J.L.R. 1987. Extração e caracterização de amido de adlay (Coix lacryma-jobi). Tese de Mestrado. UNICAMP.
- BASHAW, E.C.; HOVIN, A.W. & HOLT, E.C. 1970. Apomixis, its evolutionary significance and utilization in plant breeding. Proceedings Eleventh International Grassland Congress: 243-248.
- BOR, N.L. 1960. Grasses of Burma, Ceylon, India and Pakistan. Pergamon Press, New York.
- CAMPOS, H. 1979. Estatística Experimental não Paramétrica 3ª edição. Departamento de Matemática e Estatística, ESALQ, USP.
- CARDY, B.J.; STUBER, C.W.; WENDEL, J.F. & GOODMAN, M.M. 1983. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (Zea mays L.). Institute of Statistics Mimeograph Series, 1317. North Carolina State University.
- CHAGANTI, R.S.K. 1965. Cytogenetic studies of maize-Tripsacum hybrids and their derivatives. Bussey Inst. of Harvard Univ.: 1-93.
- CLAYTON, W.D. 1981. Notes on tribe Andropogoneae (Gramineae). Rev. Bull. 35: 813-818.
- CLAYTON, W.D. & RENOUIZE, S.A. 1986. Genera graminium grasses of the world. Rev. Bulletin Additional Series XIII. London. 389p.
- DE WET, J.M.J. 1982. Phylogenetic of the Tripsacinae in the Andropogoneae (Gramineae).
- FERGUSON, A. 1980. Biochemical systematics and evolution. Blackie & Son Limited. East Kilbride, Scotland.
- FRANKEL, R. & GALUN, E. 1977. Pollination mechanisms, reproduction and plant breeding. Springer-Verlag, Berlin.

- FREI, D.M.; STUBER, C.W. & GOODMAN, M.M. 1986. Yield manipulation from selection on allozyme genotypes in a composite of elite corn lines. *Crop Science* 26(5): 917-921, 1986.
- GILLILAND, H.B.; HOLTREM, R.E. & BOR, W.L. 1971. A revised flora of Malaya. *Grasses of Malaya*. Vol. III. Botanic Gardens, Singapore.
- GOMES, P.C.; FERREIRA, A.S.; FIALHO, E.T. & BARBOSA, H.P. 1980. Viabilidade econômica do Adlay na alimentação de suínos em crescimento e terminação. *Comunicação Técnica da Embrapa* 11:1-3.
- HANNA, W.W. 1987. Apomixis in plant improvement. *Plant Gene Systems and Their Biology* 75-83.
- HANNA, W.W. & BASHAW, E.C. 1987. Apomixis: its identification and use in plant breeding. *Crop Science* 27: 1136-1139.
- JAIN, S.K. & BANERJEE, D.K. 1974. Preliminary observations on the evolutionary of the genus Coix. *Economic Botany* 28:38-42.
- KHALER, A.L.; GARDNER, C.O. & ALLARD, R.W. 1984. Nonrandom mating in experimental populations of maize. *Crop Science* 24: 350-354.
- KING, J.R. & BROOKS, R.M. 1947. The terminology of pollination. *Science* 105: 397-380.
- KNOX, R.B. 1967. Apomixis: seasonal and population differences in a grass. *Science*: 325-326.
- KNOX, R.B. & HESLOP-HARRISON. 1963. Experimental control of aposporous apomixis in grass of the Andropogoneae. *Bot. Notiser* 166: 127-141.
- KOUL, A.K. 1965. Interspecific hybridization in Coix. 1. Morphological and cytological studies of the hybrids of a new form of Coix with $2n=32$ X Coix aquatica ROXB. *Genetica* 36: 315-334
- MEDINA, D.M. & CONAGIN, C.H.T. 1958. Técnica citológica. *Boletim do Instituto Agrônomo de Campinas, SP*.
- MIRASHIN, S.I.; MLADENOVA, I.; MOZGOVA, E.A. & SUKHORZHEVSKAYA, T.B. 1983. Isoenzyme spectra of maize and teosinte. *Doklady: Biological Sciences* 265: 1-6.
- MURAKAMI, M., YASUDA, Y. & HARADA, K. 1960. Studies on the breeding of genus Coix. IV cytogenetical studies of Hatomugi (Coix ma-yuen Roman), Juzudama (Coix lacryma-jobi Linn.) and its F_1 hybrid. *Scientific Reports of The Kyoto Prefectural University Agriculture* 12: 11-18.

- MURAKAMI, M. 1961. Studies on the breeding of genus Coix. V Genetic segregation in F₂ generation between Fotomugi (Coix ma-yuen Roman) x Juzudama (Coix lacryma-jobi Linn.). Scientific reports of the Kyoto Prefectural University Agriculture 13: 1-9.
- MURAKAMI, M. 1979. Breeding and cultivation of Japanese species of genus Coix as a fodder crop. JARQ. 13(1): 56-63.
- NEI, M. & SYAKUDO, K. 1958. The estimation of outcrossing in natural populations. Jap. J. Genet. 33: 46-51.
- PESTANA, A.C. 1946. Cereal Adlay. A Lavoura 69: 8-13.
- RAO, P.NP. 1975. Desynapsis in Coix lacryma-jobi caused by genotype-environment-interactions. Theoretical and Applied Genetics 46: 315-317.
- RAO, P.NP. 1976. Studies on the occurrence cytology, fertility and breeding behaviour of aneuploids in induced autotetraploid Job's tears. Cytologia 41:145-152.
- RAO, P.NP & NARAYANA, D.S. 1980. Occurrence and identification of semigamy in Coix aquatica (tribe Maydeae). The Journal of Heredity 71: 117-120.
- RICK, C.M. & FOBES, J.T. 1974. Associations of allozyme with nematode resistance. p25 In: Tomato Genet. Cooperative Rep. 24. University of California, Davis.
- SAPRE, A.B.; BARVE, S.S. & DESHPANDE, D.S. 1985. Cytological report on the spontaneous interspecific hybrids in Coix L. involving aneuploids. Cytologia 50: 655-661.
- SAPRE, A.B. & DESHPANDE, D.S. 1987a. Isolation of a series of chromosomal variants (2n=10 to 21) from open-pollinated population of interspecific hybrids between Coix gigantea and Coix aquatica (Poaceae). Genetica 74: 61-68.
- SAPRE, A.B. & DESHPANDE, D.S. 1987b. Spontaneous emergence of parents from the F₁ interspecific hybrids of Coix L. The Journal of Heredity 78: 357-360.
- SAS/STAT User's Guide, Release 6.03 edition. 1988. Chapter 13, p 173.
- SAVIDAN, Y.W. 1982. Embryological analysis of facultative apomixis in Panicum maximum Jacq. Crop Science 22: 467-469.
- SAVIDAN, Y.W. 1984. Evolução em gramíneas tropicais com especial referência à apomixia. I. Colóquio sobre citogenética e evolução de plantas. Piracicaba, SP. pg. 37.

- SCANDALIOS, J.G. 1969. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. *Biochemical Genetics* 3:37-79.
- SCANDALIOS, J.G. 1979. Control do gene expression and enzyme differentiation. *Physiological Genetics*: 63-107.
- SCHAAFFHAUSEN, R.V. 1948. O adlay - o cereal do futuro. *Rev. dos Criadores*, XIX, 5: separata.
- SCHAAFFHAUSEN, R.V. 1952. Adlay or Jobs tears- a cereal of potentially greater economic importance. *Economic Botany* 6(3): 216-227.
- SCHWARTZ, D. 1960. Genetic studies on mutant enzymes in maize: synthesis of hybrid enzymes by heterozygotes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 46: 1210-1215.
- SHAW, D.V.; ALLARD, R.W. 1982. Estimation of outcrossing rates in douglas-fir using isozyme markers. *Theoretical and Applied Genetics* 62: 113-120.
- STEBBINS, G.L. 1951. Apomixis in the angiosperms. *Bot. Rev.* 7: 507-542.
- STUBER, C.W.; GOODMAN, M.M. & MOLL, R.H. 1982. Improvement of yield and ear number resulting from selection at allozyme loci in a maize population. *Crop Science* 22: 737-740.
- TANKSLEY, D.; MEDINA, H. & RICK, C.M. 1981. The effect of isozyme selection on metric characters in a interspecific backcross of tomato. Basis of an early screening procedure. *Theor. Appl. Genet.* 60:291-296.
- TORRES, A.D.P. & BERGAMEN, A. 1951. O cereal de Adlay. Estudo de seu valor agrícola e nutricional para aves. *Anais ESALQ* 8:670-685.
- UPHOF, J.C. 1968. The dictionary of economic products. Stechert-Hafner Service Agency, Inc., New York.
- VALLAYES, G. 1948. Le "Coix lacryma-jobi". *Bull. Agri. Congo Belge* 39: 247-304.
- VENKATESWARLU, J. & CHAGANTI, R.S.K. 1965. *MGC News Lett.* 39: 70.
- VENKATESWARLU, J. & CHAGANTI, R.S.K. 1973. Job's tears (Coix lacryma-jobi L.) *ICAR Tech. Bull* 44 New Delhi.
- VENKATESWARLU, J. & RAO, P.N. 1975. Apomitic maternal diploids in tetraploid Job s Tears. *Theoretical and Applied Genetics* 45:274-276.

VENKATESWARLU, J.; RAO, P.N. & RAO, M.K. 1976. Cytomorphological study of induced autotetraploid Job's tears. *The Nucleus* 19:4-7.

WESTER, P.G. 1920. Notes on Adlay. *Philippine Agricultural Review* 13:217-224.

8. APÊNDICE

Tabela I: Valores de F e grau de significância para o teste de hipótese nula: $u_a = u_r = u_{rs} = u_t = u_{ac}$. (A=Adlay, R=Rosário, RS=Rosadlay, T=Tailândia, AC=Acre)

CARACTERÍSTICA	F	SIGNIFICÂNCIA
altura	294,95	***
nós	149,20	***
nós com fruto	39,85	***
pedúnculos florais	73,80	***
perfilho	7,99	***
peso (fruto com invólucro)	63,94	***
peso (fruto sem invólucro)	19,85	***
volume (fruto com invólucro)	7,52	**
volume (fruto sem invólucro)	10,67	***
densidade (fruto com invólucro)	4,36	*
densidade (fruto sem invólucro)	5,81	*
rendimento	72,30	***
frutos chochos	5,91	***
frutos caídos	6,01	***
peso	36,04	***
peso corrigido	51,81	***

* $0,01 < p < 0,05$

** $0,005 < p < 0,01$

*** $p < 0,005$