



FERNANDO LISBOA GUEDES

**DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO A
PARTIR DE PROGÊNIES CONTRASTANTES
EM RELAÇÃO AO USO DE NITROGÊNIO**

LAVRAS – MG

2012

FERNANDO LISBOA GUEDES

**DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO A PARTIR DE PROGÊNIES
CONTRASTANTES EM RELAÇÃO AO USO DE NITROGÊNIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. João Cândido de Souza

LAVRAS – MG

2012

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Guedes, Fernando Lisboa.

Desempenho de híbridos de milho a partir de progênies
contrastantes em relação ao uso de nitrogênio / Fernando Lisboa
Guedes. – Lavras : UFLA, 2012.

84 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: João Cândido de Souza.

Bibliografia.

1. *Zea mays* L. 2. Melhoramento genético. 3. Dialelo completo.
4. Estresse de nitrogênio. 5. Herança genética. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.523

FERNANDO LISBOA GUEDES

**DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO A PARTIR DE PROGÊNIES
CONTRASTANTES EM RELAÇÃO AO USO DE NITROGÊNIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 10 de Fevereiro de 2012.

Dra. Flávia Maria Avelar Gonçalves	UFLA
Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto	UFLA
Dr. José Airton Rodrigues Nunes	UFLA
Dr. Juarez Campolina Machado	EMBRAPA

Dr. João Cândido de Souza
Orientador

LAVRAS - MG

2012

A toda a minha família que confiou e acreditou na chegada deste momento

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus. Sem Ele nada disso seria possível.

Aos meus pais, Mauro Guedes e Ana Angélica Guedes, e meus irmãos, Felipe, Marcelo e o “cumpadi” Márcio Guedes, por formar essa família linda que me apóia em todos os momentos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Departamento de Biologia e a cidade de Lavras pela oportunidade e estrutura concedida, sinto-me orgulhoso por ter estudado aqui.

Ao professor João Cândido, pela orientação, pelos ensinamentos transmitidos e pela confiança em todos os momentos da pós-graduação. Sinto-me honrado de tê-lo como orientador.

Aos professores da área de genética e melhoramento de plantas, em especial aos professores César, João Bosco, Magno, Elaine, Flávia Avelar, João Cândido, José Airton, Ângela, Maluf, Renzo, Samuel, Antônio Carlos, Lisete e Geovana, pelos ensinamentos transmitidos e agradável convivência.

A todos integrantes da equipe de melhoramento do milho e do feijão, que por todos esses anos colaboraram nos trabalhos de campo e pela amizade construída, MUITO OBRIGADO MESMO.

A todos os colegas do GEN, pela amizade e convivência.

Ao amigo Márcio Balestre, pelo auxílio nas análises estatísticas e conjuntamente com os amigos Rafael Diniz, Paulo Eduardo e Edvaldo pelo o auxílio na redação da Tese.

Aos membros da banca de defesa (Juarez Campolina, César Brasil, Flávia Avelar, José Airton) pelos ensinamentos e sugestões para melhoria do trabalho.

Aos funcionários de campo Leonardo, Lindolfo e o José Carlos, pelo auxílio na condução dos experimentos e pelo companheirismo.

Aos funcionários do DBI, Tia Irondina, Dui, Lamartine, Zélia, Rafaela, e Heloísa, pela convivência amigável.

Aos companheiros de república ‘Cunhão de Touro’, Marcus, Ranoel, Fabrício, Leandro, Diogo, Zé Wilson, Carlão, Michel, Renato e também aos companheiros e companheiras de convivência Jéssiquinha, Alisson Janú, Cotonete, Renan, Jéssica Cristina e Laise, pela amizade e pelos momentos de distração.

À querida Dona Sandra, zeladora da república e que exerceu um papel de Mãe nesse período de vivência em Lavras.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro e pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, estiveram envolvidos na realização deste trabalho, meu MUITO OBRIGADO!

*“Jamais se poderá expressar em simples palavras
o sonho de um filho em tentar recompensar os
sacrifícios de seus pais.”*

(Gonçalves)

RESUMO

A obtenção de informações mais detalhadas sobre germoplasma eficiente e ineficiente no uso de nitrogênio é de suma importância no melhoramento de milho. A partir disso, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de caracterizar e determinar os padrões de herança da eficiência de uso de nitrogênio através de um dialelo completo envolvendo progênes contrastantes quanto ao uso de N analisado na abordagem univariada e multivariada. Foram utilizadas progênes $S_{0:1}$, selecionadas pelo desempenho em *topcross* em ambientes com alto e baixo nitrogênio. Foram selecionadas as seis mais tolerantes e responsivas e as cinco menos tolerantes e não responsivas para a obtenção do dialelo completo, sendo sintetizado 55 combinações híbridas. Dentre as combinações híbridas, 15 foram somente entre progênes responsivas e tolerantes, 30 foram entre progênes responsivas e tolerantes com não responsivas e não tolerantes e 10 foram somente entre progênes não responsivas não tolerantes. Os 55 híbridos, mais as 11 progênes $S_{0:2}$ provenientes da autofecundação das progênes $S_{0:1}$ e 6 testemunhas foram avaliados em experimentos com diferentes doses de nitrogênio. Foi avaliado a produtividade de grãos e seus componentes secundários (tamanho e diâmetro de espiga, diâmetro de sabugo e tamanho de grão). Para a análise dialélica utilizou-se duas abordagens: univariada (considerando apenas a produtividade de grãos) e multivariada (produtividade de grãos corrigida pelo os seus componentes secundários). Observou-se que a seleção precoce pelo desempenho em *topcross* é mais eficiente para excluir genótipos inferiores quanto ao uso de nitrogênio. O controle genético para eficiência e tolerância ao nitrogênio possuem alelos em comum. Estimativas das variâncias genéticas são maiores em ambientes com disponibilidade de nitrogênio. Os melhores híbridos são oriundos de genitores contrastantes quanto ao uso de nitrogênio. A capacidade geral de combinação para eficiência e tolerância ao nitrogênio é muito influenciada pelo ambiente. Os efeitos gênicos não aditivos apresentam maiores importâncias do que os efeitos gênicos aditivos. A análise multivariada apresenta estimativas com menor erro associado do que a análise univariada.

Palavras-chave: Melhoramento genético. Estresse de nitrogênio. Dialelo completo. Herança genética. *Zea mays* L.

ABSTRACT

Obtaining more detailed information on germplasm efficient and inefficient for using nitrogen is of great importance in maize breeding. So, the objectives were to characterize and determine the inheritance patterns of nitrogen use efficiency through a complete diallel involving inbred progenies contrasting for the use of N analyzed in univariate and multivariate approach. $S_{0.1}$ progenies were used, selected from topcross performance in environments with high and low nitrogen. There were chosen the six most tolerant and responsive progenies and the five least tolerant and unresponsive to obtain the complete diallel, and synthesized 55 hybrid combinations. This hybrids, plus 11 $S_{0.2}$ progenies from selfed $S_{0.1}$, and 6 checks were evaluated in experiments with different nitrogen levels. It was evaluated grain yield and its secondary components (ear length and diameter, cob diameter and grain size). There were used two approaches in the diallel analysis: univariate (considering only grain yield) and multivariate (yield corrected by their secondary components). It was observed that the early selection based on topcross performance is more efficient to eliminate inferior genotypes for the use of nitrogen. The genetic control for responsiveness and tolerance to nitrogen have alleles in common. Estimates of genetic variances are higher in environments with nitrogen availability. The best hybrids are derived from contrasting parents relating the use of nitrogen. The general combining ability for nitrogen use is greatly influenced by the environment. The non-additive genetic effects have higher importance than the additive genetic effects. Multivariate analysis presents estimates associated to less error than the the univariate analysis.

Keywords: Plant breeding. Nitrogen stress. Complete diallel. Genetics inheritance. *Zea mays L.*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Panorama geral da cultura do milho na Região Sul de Minas	13
2.2 Estresse de Nitrogênio	15
2.3 Seleção de plantas para eficiência do uso de nutrientes	18
2.4 Genes envolvidos na assimilação e utilização de nitrogênio	23
2.5 Capacidade de combinação	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Ambientes	30
3.2 Genótipos utilizados	30
3.2.1 Histórico das Progênes S_{0;1}	31
3.3 Estratégia para diferenciação do ambiente em relação ao nitrogênio ..	32
3.4 Características avaliadas	34
3.5 Análise dos dados	35
3.5.1 Estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos	37
3.5.2 Índices de seleção	40
3.5.2.1 Estimativa do índice de responsividade (IR)	40
3.5.2.2 Estimativa do índice de tolerância (IT)	40
3.5.3 Análise Dialética	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
4.1 Resumo das análises de variâncias	43
4.2 Desempenho <i>per se</i> das progênes	50
4.3 Desempenho dos híbridos	56
4.4 Estimativas dos efeitos gênicos quanto ao uso de nitrogênio	66
5 CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho ocupa lugar de destaque, não só pelo grande progresso que tem proporcionado no acúmulo de conhecimento técnico/científico, mas também pelo inestimável valor e imenso potencial que ela representa para o mundo. Nesse ponto de vista, a descoberta da heterose e a introdução de híbridos foram sem dúvida as principais causas do aumento em produtividade, e incentivadoras do desenvolvimento de várias outras tecnologias implementadas na cultura do milho e em diversas outras culturas de importância econômica (VENCOVSKY; RAMALHO, 2000).

Os avanços alcançados com o melhoramento da cultura têm permitido obter produtividades bastante elevadas. Contudo, no Brasil, o milho vem sendo cultivado em várias regiões, desde aquelas consideradas aptas e até mesmo em regiões consideradas marginais para o seu cultivo. Além disso, a cultura é submetida a vários níveis de tecnologias. Essas diferentes condições ambientais e de manejo tem como consequência uma reduzida produtividade média nacional, em torno de $3,2 \text{ t ha}^{-1}$. O estado de Minas Gerais cultiva 1,3 milhões de hectares de milho, com produtividade média de $4,5 \text{ t ha}^{-1}$, sendo cultivado na sua maioria por pequenos e médios agricultores. A safrinha, também chamada de segunda safra chega aos 28 mil hectares e há tendência de aumento para os próximos anos (CIMILHO, 2012). Há um grande contingente de agricultura tipicamente familiar, que usa pouco ou nenhum insumo agrícola, e também empresas rurais que utilizam o que existe de mais moderno em sistema de produção. Essa diferença no sistema de manejo fica bem evidenciada no que se refere ao consumo de fertilizantes, especialmente os nitrogenados.

Entre os nutrientes utilizados na cultura do milho, o nitrogênio (N) é um dos que mais oneram o custo de produção (DANGL, 2000) e com maior risco de

contaminação ambiental quando aplicado em doses excessivas. Lal (1998) relata que o transporte de nitrogênio oriundo de fertilizantes e adubos aplicados às terras agrícolas é um dos fatores que mais afetam a qualidade da água.

Nesse cenário, a obtenção de novas cultivares de milho deve considerar esses aspectos culturais. Por isso é necessário obter plantas eficientes ao estresse de nitrogênio (N) e no outro extremo as que sejam responsivas ao N aplicado. Essa estratégia de melhoramento não só contribui para aumentar a sustentabilidade do sistema, haja vista que o N é um dos nutrientes que mais encarece o custo de produção, como também reduz o impacto ambiental advindo do emprego excessivo de N em plantios sucessivos.

Nesse contexto, é fundamental a geração de informações mais detalhadas sobre germoplasma eficiente e ineficiente no uso de N. A elucidação dos aspectos relacionados com as frequências de alelos favoráveis e complementariedade gênica, e investigação de fatores fisiológicos, bioquímicos e genético-moleculares, além de características de interações bactérias-planta promove melhor entendimento da herança da eficiência de uso de nitrogênio (MANSKE, 2001). Desta forma, uma estratégia interessante para aumentar a produtividade de milho, em condições de baixa disponibilidade de N, é a identificação de fontes de alelos favoráveis e cruzamentos que proporcionem boa complementação gênica, para o desenvolvimento de genótipos adaptados às condições de estresses, possibilitando maior segurança alimentar local e sustentabilidade agrícola.

Por isso, este trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar o desempenho de híbridos de milho e determinar os padrões de herança da eficiência de uso de nitrogênio por meio de um dialelo completo entre progênies contrastantes quanto ao uso de N analisado na abordagem univariada e multivariada.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Panorama geral da cultura do milho na região Sul de Minas

Na região Sul de Minas Gerais, dada à proximidade dos grandes centros consumidores do país, concentra-se grande parte da produção de milho do estado. Estima-se que sejam cultivados 300 mil hectares de milho para atender a demanda regional na forma de silagem para a alimentação dos animais e grãos para fabricação de rações. Apesar da grande produção de milho na região, ainda há necessidade de recorrer à importação de outras regiões para atender uma demanda constante.

Embora na região ocorra certa diversidade nos sistemas de produção, nota-se a tendência da cultura do milho tornar-se cada vez mais tecnificada, com uso mais intensivo de fertilizante, principalmente adubos nitrogenados. Este fato tem sido o grande responsável pelos aumentos nos custos de produção, tornando a cultura menos rentável para os produtores. Para acompanhar este avanço é necessário utilizar cultivares que sejam cada vez mais adaptadas à região e, sobretudo, responsivas ao uso de fertilizantes nitrogenados, visando obter maiores retornos econômicos da cultura.

A região apresenta grande potencial para produção de milho. O cultivo vem sendo realizado na sua maioria na safra de verão, onde os plantios são realizados de outubro a novembro. Entretanto, têm-se observado nos últimos anos um crescente aumento do plantio da segunda safra (safrinha), que normalmente ocorre em janeiro e fevereiro, atingido na safra 2009/2010, 30 mil hectares plantados (CIMILHO, 2012). Nessa época de plantio, a cultura inicialmente é submetida a

condições ideais de chuvas, seguida de períodos prolongados de falta de água.

Desta forma, torna-se necessário que os programas de melhoramento desenvolvam cultivares eficientes no uso da água e do nitrogênio, que venha a atender as necessidades das diferentes classes de produtores nesta região. Atualmente, os híbridos comercializados pelas empresas produtoras de sementes na região (híbridos simples, triplos e duplos) são obtidos em programas conduzidos em outras regiões do país, com características de solo e clima bem distintos das condições da região Sul de Minas.

Dentre os vários tipos de híbridos encontrados no mercado, os híbridos simples vêm se tornando preferenciais entre os agricultores devido principalmente a sua maior uniformidade. Assim, observa-se que os híbridos duplos vêm sendo gradativamente substituídos pelos híbridos triplos e simples (ROSINHA, 2000).

Outro ponto que deve ser comentado é a respeito da estabilidade dos diferentes tipos de híbridos. Alguns autores têm sugerido que, na maioria das vezes, a sensibilidade dos genótipos aos efeitos de ambientes está relacionada com sua estrutura genética, e que, geralmente, populações com maior base genética interagem menos com o ambiente e, portanto são mais estáveis (TORRES, 1988). Neste contexto, os híbridos duplos apresentam maior estabilidade que os triplos, que por sua vez são mais estáveis que os simples. Entretanto, alguns autores comentam ser possível obter híbridos simples tão ou mais estáveis que os melhores híbridos duplos (MACHADO et al., 2008).

Por isso, é necessário verificar qual tipo de genótipo será mais adequado para a região de interesse. Assim, a avaliação de híbridos e seus respectivos parentais em diferentes ambientes contrastantes quanto

a disponibilidade de nitrogênio, não só possibilitará a identificação de linhagens mais adaptadas à região, como também poderá dar novas opções de híbridos aos agricultores.

2.2 Estresse de Nitrogênio

Em um contexto mundial, o Brasil apresenta baixa produtividade de milho, em torno de $3,2 \text{ t ha}^{-1}$ e a média da região alvo, Sul de Minas é $4,5 \text{ t ha}^{-1}$ (CONAB, 2008). Existem vários fatores responsáveis por essa baixa produtividade, dentre os quais pode-se mencionar a irregularidade pluvial, os sistemas tradicionais de cultivo, o manejo da cultura e a ausência de adubação balanceada, principalmente a nitrogenada e a fosfatada. Estima-se que a relação entre os fertilizantes nitrogenados com o preço da venda de grãos está cada vez mais alta, o que limita a utilização desse nutriente (MACHADO, 1997).

O nitrogênio (N) é um dos nutrientes que mais limitam a produção de cereais no Brasil, sendo também o mais caro por tonelada produzida, onerando o custo de produção e com grande risco de poluição ambiental, se aplicado em doses excessivas. Para a cultura do milho, a adubação nitrogenada é recomendada pela perspectiva de produtividade. É indicada a aplicação de um terço do N no plantio, visto que, na fase inicial, as plantas precisam de poucas quantidades deste nutriente e a aplicação do restante em cobertura. Contudo, apresenta baixa eficiência em condições tropicais, pois apresenta grande potencial de perdas, em razão, principalmente, da lixiviação, desnitrificação e volatilização tanto da uréia quanto da amônia (NH_3) (GAMBOA et al., 1971).

Para contornar estes obstáculos, a principal alternativa seria a busca de cultivares mais eficientes em sua utilização. Com isso tem-se realizado a seleção de cultivares adaptadas para ambientes deficientes em nitrogênio, ou identificar

genótipos responsivos à aplicação de nitrogênio (MAGALHÃES; MACHADO, 1995; BÄNZIGER; LAFITTE, 1997).

Deve ser comentado que nos programas de melhoramento no Brasil, a maioria das avaliações de progênies, linhagens e híbridos são realizadas, normalmente, nas condições ideais desse nutriente. Desta forma, é questionável se seria possível a identificação de genótipos mais eficientes ao uso de baixo nível desse nutriente nos solos ou mais responsivo a aplicação deste nutriente (CECCARELLI, 1996).

Há alguns relatos na literatura de diferenças entre cultivares de várias espécies com relação à eficiência no uso de nitrogênio sob condições de campo, como com a cultura do milho (AGRAMA et al., 1999; PRESTERL et al., 2003) e de trigo (GOUIS; PLUCHARD, 1996). Há muitos trabalhos na literatura que mostram resposta positiva da cultura do milho à adubação nitrogenada. De acordo com Cantarella (1992), foram constatadas respostas significativas em 70 a 80% dos ensaios conduzidos para se verificar a eficiência desse nutriente. Balko e Russel (1980) mostraram que mesmo cultivares de milho geneticamente aparentadas podem mostrar respostas diferenciais à adubação nitrogenada.

Deve-se entender que a assimilação do nitrogênio é um processo vital que controla o crescimento e o desenvolvimento das plantas e tem efeito marcante sobre a fitomassa e a produtividade final das culturas. De acordo com Uhart e Andrade (1995), em condições de baixa disponibilidade de nitrogênio diminuem-se o número de grãos por espiga em consequência reduz a assimilação de carbono. Segundo Lafitte e Edmeades (1995), o número de espigas/planta é influenciado pelo suprimento de carbono e nitrogênio próximo ao florescimento.

O conceito de eficiência de plantas na utilização de um nutriente engloba processos pelos quais absorvem, translocam, acumulam e utilizam melhor o referido nutriente para a produção de matéria seca e/ou grãos, em

condições nutricionais normais ou adversas. O melhoramento para eficiência no uso de nitrogênio pode ser entendido sob dois enfoques: i) busca de genótipos superiores em ambientes com limitado suprimento, ou seja, genótipos eficientes no uso do nitrogênio; ii) busca de cultivares altamente responsivos em produtividade, em ambiente com suprimento elevado do nutriente, ou seja, genótipos responsivos à aplicação de adubos nitrogenados.

Na literatura, de um modo geral, ênfase maior é dada ao primeiro aspecto, ou seja, o desempenho sob condições de estresse. Entretanto, a maioria dos experimentos realizados para o caráter produção de grãos, tem demonstrado que a herdabilidade é maior quando os genótipos são avaliados em ambientes favoráveis, pois quando se avalia em ambientes pobres em N a variação ambiental é muito alta e, conseqüentemente se reduz a herdabilidade. Contudo, programas de melhoramento genético de milho em regiões tropicais deveriam incluir seleção em baixo nitrogênio para maximizar ganhos com a seleção (ROSIELLE; HAMBLIN, 1981; BÄNZIGER; LAFITTE, 1997; SANTOS et al., 1998).

Com referência ao controle genético de caracteres associados à eficiência do uso de nitrogênio, são restritas as informações disponíveis na literatura. Pollmer et al. (1979), verificaram que o controle genético de absorção e translocação de nitrogênio na planta de milho, é predominantemente aditivo. Porém, efeitos não aditivos também foram importantes. Resultados semelhantes foram observados por Guimarães (2006), que avaliou progênies híbridas, oriundas de genótipos desenvolvidos sob estresse de nitrogênio, em dois níveis contrastantes de N e concluiu que, para cruzamentos entre linhagens de milho eficientes no uso de N, os efeitos genéticos aditivos e os não aditivos foram importantes para a produtividade, porém, de magnitudes diferentes em cada ambiente. Para ambientes com baixa disponibilidade de N, os efeitos genéticos aditivos e não aditivos apresentaram importâncias similares. Para os ambientes

com alta disponibilidade de N, os efeitos genéticos aditivos apresentaram-se ligeiramente mais importantes que os não aditivos.

Na avaliação da tolerância ao estresse de qualquer nutriente, um questionamento que surge é qual ou quais características devem ser consideradas visando a avaliação da resposta ao referido nutriente. Várias características podem ser empregadas, entretanto, bänziger e Lafitte (1997) constataram que a seleção direta para produtividade de grãos seria mais eficiente que a seleção indireta baseada em qualquer outra característica secundária.

2.3 Seleção de plantas para eficiência do uso de nutrientes

A variação intraespecífica na resposta das plantas a determinado estresse nutricional geralmente está relacionada a diversos fatores morfológicos, anatômicos e fisiológicos, tais como alteração da relação raiz/parte aérea; aumento do tamanho, densidade, diâmetro e formação de pelos do sistema radicular; associação com microrganismos; modificações do microambiente na rizosfera; distribuição e remobilização do nutriente na parte aérea, compreendendo remobilização de partes maduras como folhas velhas para meristemas de crescimento vegetativo e reprodutivo e variação nos parâmetros cinéticos de absorção. E, ainda, a capacidade do genótipo em manter o metabolismo normal com concentrações reduzidas do nutriente no tecido (MARSCHNER, 1995).

Para conduzir trabalhos visando à identificação de cultivares eficientes, um primeiro questionamento é como medir a eficiência. Diversos parâmetros morfológicos e fisiológicos têm sido adotados, para auxiliar no entendimento da eficiência no uso de nutrientes e também para serem utilizados como indicadores dessa eficiência e da produtividade de grãos.

Tem sido proposta a classificação das cultivares em quatro categorias, dependendo da produção em solos pobres e da capacidade em responder à adubação (BLAIR, 1993), da seguinte forma:

1- cultivares eficientes e não responsivas (ENR): são as que apresentam alta produção sob baixos teores do elemento, não respondendo ao aumento do fornecimento desse elemento;

2- cultivares eficientes e responsivas (ER): são as que apresentam alta produção sob baixos teores do elemento, e respondem positivamente ao aumento do fornecimento do elemento;

3- cultivares ineficientes e responsivas (IR): são as que produzem pouco sob baixos teores do elemento, respondendo positivamente ao aumento no fornecimento do elemento;

4- cultivares ineficientes e não responsivas (INR): são aquelas que produzem pouco sob baixos teores do elemento, não respondendo ao aumento no fornecimento do elemento.

Na avaliação da eficiência nutricional são utilizados diversos índices (BLAIR; CORDERO, 1978; SIDDIQI; GLASS, 1981; MOLL et al., 1982). Destacam-se, entre eles, para seleção e classificação de genótipos, os índices que permitem avaliar isoladamente os processos de absorção, distribuição e utilização do nutriente para a produção de matéria seca de grãos (DECHEN et al., 1999). Alguns índices são listados a seguir:

Eficiência agrônômica (EA): é a produção econômica (grãos, por exemplo) obtida por unidade de nutriente aplicado e expressa em kg kg^{-1} . A EA pode ser calculada pela seguinte equação: $EA = (Y_f - Y_0) / Q_f$, em que Y_f é a produção, em kg, com adubação; Y_0 é a produção, em kg, sem adubação; Q_f é a quantidade de nutriente aplicado, em kilograma.

Eficiência fisiológica (EF): é a produção biológica obtida (grãos mais palha, em culturas anuais) por unidade de nutriente acumulado, expressa em kg

kg^{-1} . Às vezes, esta eficiência é também chamada eficiência biológica e pode ser calculada pela seguinte equação: $EF = (Y_f - Y_0) / (N_{abf} - N_{abo})$, em que Y_f é a produção total de matéria seca, em kg, com adubação; Y_0 é a produção total de matéria seca, em kg, sem adubação; N_{abf} é a acumulação de nutriente com adubação, em kg; N_{abo} é a acumulação de nutriente sem adubação, em kilograma. A acumulação de nutrientes é calculada pela multiplicação do peso da matéria seca da parte aérea e de grãos pelo teor do nutriente.

Eficiência na produção de grãos (IG): é a produção de grãos obtida por unidade de nutriente acumulado, em kg kg^{-1} e pode ser calculada pela seguinte equação: $IG = (Y_f - Y_0) / (Q_{nf} - Q_{n0})$, em que Y_f é a produção de grãos, em kg, com adubação; Y_0 é a produção de grãos, em kg, sem adubação; Q_{nf} é a acumulação de nutriente na parte aérea e grãos, em kg, com adubação e Q_{n0} é a acumulação de nutriente na parte aérea e grãos, em kg, sem adubação.

Eficiência de recuperação (RAN): é a quantidade de nutriente acumulado por unidade de nutriente aplicado; a eficiência de recuperação de nutriente pode ser calculada pela seguinte equação: $RAN = [(Q_{nf} - N_0) / Q_f] \times 100$, em que Q_{nf} é acumulação de nutriente, em kg, com adubação; N_0 é a acumulação de nutriente, em kg, sem adubação e Q_f é a quantidade do nutriente aplicado, em kg. A eficiência de recuperação de nutriente é, geralmente, expressa em porcentagem. Às vezes, a eficiência de recuperação é também chamada eficiência de aquisição de nutriente.

Eficiência de utilização (EUN): a eficiência fisiológica e a eficiência de recuperação podem ser combinadas para se calcular a eficiência da utilização do nutriente, como expressa a seguinte equação: $EUN = EF \times RAN$, em que EF é o índice de eficiência biológica e RAN , o índice de eficiência de recuperação. A EUN é expressa em kg kg^{-1} .

Com relação à eficiência no uso de nitrogênio (EUN), a maioria dos trabalhos foi realizada com gramíneas, principalmente com a cultura do milho.

Um trabalho clássico para a interpretação dos fatores que contribuem para a eficiência de utilização de nitrogênio pelo milho foi apresentado por Moll et al. (1982). Foram avaliados oito híbridos de milho, de acordo com a produtividade de grãos, acumulação de N nos grãos e restos culturais. Diferenças foram encontradas em todos os níveis de N e para todos os caracteres avaliados. Sob baixa disponibilidade de N, a diferença entre híbridos na eficiência no uso de N ocorreu devido, principalmente, à variação na utilização do nutriente acumulado, bem como à proporção do N translocado para os grãos.

Ao estudar a eficiência no uso de nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho, Majerowicz et al. (2002) observaram que a massa seca das plantas deficientes em N apresentou elevada correlação positiva (0,86), com a massa seca acumulada nas raízes dos diferentes genótipos. Os autores relatam a importância do estudo das características morfológicas e fisiológicas do sistema radicular na seleção de genótipos eficientes quanto ao uso do N.

Para pesquisar com mais detalhes o controle genético da produtividade do milho sob baixo nível de N, estudos de correlação entre os diferentes componentes da eficiência de utilização de nitrogênio (EUN) e produção têm sido efetuados. O objetivo é de identificar os componentes da EUN, as regiões cromossômicas e os genes candidatos que podem controlar a produção e seus componentes, direta ou indiretamente, quando a quantidade de fertilizantes nitrogenados fornecidos às plantas é variável (HIREL et al., 2007).

Um parâmetro adicional de importância para avaliação da EUN refere-se ao índice de colheita (IC), que corresponde à razão entre a produção de grãos e a biomassa total (DAWSON et al., 2008). Quanto maior for o índice de colheita, significa que a planta converte, com maior eficiência, o rendimento biológico em rendimento de grãos. Por exemplo, o IC de 20%, comparado ao IC de 40%, para um mesmo rendimento biológico, indica que as plantas com IC de 40% são duas vezes mais eficientes na conversão de seu rendimento biológico em grãos.

Alguns índices propostos para estresse hídrico também podem ser adaptados para estresse de nitrogênio. Fischer e Maurer (1978) desenvolveram o índice de intensidade de seca (*IIS*), que considera a produtividade de todas as linhagens em condições de cultivo com (Y_c) e sem deficiência hídrica (Y_s), resultando na seguinte expressão: $IIS = 1 - (Y_c / Y_s)$.

Os valores desejáveis de *IIS* para a seleção dos melhores genótipos dependerão da média de produtividade de grãos, das condições climáticas e da variabilidade genética dos genótipos avaliados. Contudo, segundo Singh (2007), ambientes com leve estresse ($IIS < 0,5$), permitem apenas identificar cultivares com um intermediário nível de tolerância à seca, sendo ambientes com médio *IIS* requeridos para identificar cultivares com altos níveis de tolerância.

Uma forma de agrupar grande número de genótipos de acordo com sua eficiência e responsividade a um dado nutriente foi apresentada por Fageria e Barbosa Filho (1982). Estes autores utilizaram gráficos bidimensionais do tipo (x, y), em que, no eixo x, tem-se a produção sob baixo nível do nutriente e, no eixo y, tem-se a eficiência de utilização de nitrogênio $[(PGA - PGB) / P(A-B)]$, em que *PGA* e *PGB* correspondem à produção de grãos nos ambientes com alta e baixa dose do nutriente, respectivamente, e *P(A-B)* corresponde a produtividade média em cada ambiente.

Assim, o desenvolvimento de cultivares eficientes no uso de nutrientes requer seleção em ambientes específicos para permitir a expressão dos alelos favoráveis que conferem vantagens adaptativas às condições de estresse, possibilitando a seleção de genótipos superiores quanto às características de absorção, assimilação e/ou utilização de nutrientes.

2.4 Genes envolvidos na assimilação e utilização de nitrogênio

A maioria dos genes codificando enzimas envolvidas na assimilação e utilização de nitrogênio pela planta tem sido clonados e estudados como os genes da glutamina sintetase (GS), da glutamato sintetase (GOGAT), da asparagina sintetase (AS), oxaloacetato aminotransferase (OA) e da glutamato desidrogenase (GDH) (UDVARDI; KAHN, 1991; TSAI; CORUZZI, 1991).

Análises moleculares demonstraram que várias enzimas associadas ao metabolismo de N (GS, GOGAT e GDH) são codificadas por famílias de genes em que genes específicos codificam isoenzimas que são diferencialmente reguladas por estímulos ambientais, controle metabólico, fase do desenvolvimento e especificidade tipo célula-tecido (LAM et al. 1996).

A glutamina sintetase é ativa em diversos órgãos durante o desenvolvimento da planta. Em raízes, a GS assimila amônia derivada da solução do solo (OAKS; HIREL, 1985) e em nódulos de raízes de leguminosas, assimila amônia fixada pelo rizóbio (CULLIMORE et al. 1984). Em cotilédone, a GS reassimila reservas de nitrogênio mobilizadas durante a germinação, e em folhas com clorofila a GS-2 reassimila amônia da fotorespiração, sendo este um processo de grande importância em plantas de metabolismo C3 (BENNETT et al., 1989).

As análises de expressão dos genes GS *in vivo* e plantas transgênicas têm revelado os papéis de várias isoformas de GS no metabolismo de N, e que existe expressão diferencial destes genes (TINGEY et al. 1987). Em feijão, ervilha e arábido, a GS-2 dos cloroplastos é codificada por um gene nuclear e para a GS do citosol existem vários genes (BENNETT et al. 1989). A família de genes GS em ervilha compreende quatro genes nucleares distintos. Três codificam para isoformas GS do citosol e um codifica para isoforma GS-2 cloroplastídica (TINGEY et al., 1987). Análises com *northern blot* (técnica

usada na biologia molecular para estudar a expressão gênica) têm demonstrado que o gene para GS-2 cloroplastídica é expresso em folhas na dependência de luz devido em parte ao fitocromo e em parte devido aos efeitos fotorespiratórios (EDWARDS; CORUZZI, 1989). Os três genes para GS do citosol (GS-1, GS-3A e GS-3B) também parecem ter diferentes papéis. Em raízes, GS-1 do citosol é a isoforma predominante, embora seja também expressa em nódulos. GS-3A e GS-3B do citosol são altamente expressadas em nódulos e também em cotilédones de sementes em processo de germinação (TINGEY et al., 1987; WALKER; CORUZZI, 1989). Enquanto os genes GS-3A e GS-3B são relativamente idênticos na sequência, análises têm revelado que a expressão GS-3A é consistentemente maior que GS-3B (WALKER; CORUZZI, 1989). Usando a fusão promotor-GUS e a análise de plantas transgênicas tem sido mostrado que a GS-2 cloroplastídica é expressa somente em células tipo fotossintéticas e que a GS-3A do citosol é expressa exclusivamente em células do floema da maioria dos órgãos vasculares e também fortemente expresso nos meristemas nodulares e radiculares (EDWARDS et al., 1990).

Dois genes que codificam para asparagina sintetase (AS-1 e AS-2) foram clonados em ervilha com a maior expressão nos nódulos radiculares e cotilédones. AS-1 e AS-2 são expressos em raízes. AS-2 é expresso constitutivamente em raízes, enquanto AS-1 é expresso somente em raízes de plantas no escuro (TSAI; CORUZZI, 1990). Além disso, AS-1 e AS-2 são expressos em folhas maduras de plantas no escuro, uma vez que sua expressão é inibida pela luz. No escuro este nível de expressão dos genes AS corresponde ao uso da asparagina como transportador de nitrogênio a longa distância sob condições de reduzida disponibilidade de carbono fotossintético (asparagina tem maior relação N:C do que glutamina). Estudos de fusões promotor-GUS AS-1 em plantas transgênicas mostraram que este gene, como o gene GS-3A, é também expresso exclusivamente em células do floema.

Em plantas C4, como o milho, existem dois diferentes tipos de células fotossintetizantes nas folhas, caracterizadas como células do mesófilo e células da coroa do feixe vascular. As enzimas envolvidas na redução do nitrato (NR e NiR) estão localizadas nas células do mesófilo, por outro lado, as enzimas GS e Fd-GOGAT (Glutamato sintase dependente de ferredoxina) são distribuídas entre as células do mesófilo e da coroa do feixe vascular. Além disso, estudos mostram que as isoformas da GS (citosólica GS-1 e plastídica GS-2) estão presentes em ambos os tipos celulares, enquanto que a Fd-GOGAT é quase exclusivamente encontrada em cloroplastos das células da coroa. Nas folhas, a GS-2 e a Fd-GOGAT co-atuam para a assimilação primária do amônio e para a refixação do amônio proveniente da fotorrespiração. No milho, a única forma de GS localizada no pedicelo do grão - tecido basal de origem materna - (GSpt) está envolvida na conversão do nitrogênio, de suas formas transportadas, em glutamina, para assimilação pelo endosperma em desenvolvimento (BECKER et al., 2000).

Outra enzima importante é a NADH-Glutamato desidrogenase (GDH) mitocondrial que pode exercer papel fundamental no metabolismo de glutamato e amônio em folhas. A GDH, em sementes, parece estar envolvida no catabolismo de proteínas e, nas folhas, responde a vários estímulos ambientais, como estresses por temperatura e por deficiência de água, estado nutricional, metais tóxicos e herbicidas, podendo ser influenciada, também, por fitormônios e pela senescência. Em folhas de milho, somente as células da coroa do feixe vascular apresentam atividade para a GDH, mas existem, pelo menos, dois genes que codificam para diferentes isoformas desta enzima (BECKER, et al., 2000).

2.5 Capacidade de combinação

Os programas de melhoramento de milho geram milhares de linhagens por ano e, devido à depressão por endogamia, que torna este tipo de genótipo pouco competitivo com baixo potencial *per se*. Existem algumas dificuldades na avaliação e na caracterização fenotípica desses genótipos para a eficiência no uso de N. A identificação de parentais apropriados, mais tolerantes à deficiência de nitrogênio, é o primeiro passo para o melhoramento genético visando à obtenção de cultivares eficientes no uso de N, permitindo estudos que levem à melhor compreensão da herança da eficiência de uso de nitrogênio (EUN), dos processos moleculares envolvidos, dos níveis de expressão gênica e de atividades das principais enzimas envolvidas no metabolismo de N.

Além disso, o efeito ambiental pode promover alterações na classificação dos genótipos pela interação genótipos x ambientes (G x A). Tudo isso pode levar a estimativas imprecisas de parâmetros genéticos importantes, como variabilidade genotípica e herdabilidades para caracteres importantes, além de altas estimativas para coeficientes de variação experimentais, ocasionando baixa eficiência na escolha de linhagens elite. Dessa forma, a avaliação de caracteres agronômicos deve ser feita em híbridos sintetizados em dialelos ou *topcrosses*, que possibilitam a expressão de heterose e permitem avaliar o mérito das linhagens genitoras com menores influências de erros experimentais.

Os cruzamentos dialélicos podem ser empregados para avaliação da capacidade de combinação, mas sua praticidade é reduzida quando o número de linhagens é elevado.

Com a análise do dialelo torna possível a determinação da importância dos efeitos aditivos e não aditivos no controle das características em questão. Entre os métodos mais utilizados, citam-se os propostos por Griffing (1956),

pelos quais são estimados os efeitos da capacidade geral e específica de combinação; o método proposto por Gardner e Eberhart (1966), no qual são avaliados os efeitos de variedades e heterose varietal e o proposto por Hayman (1954), que fornece informações sobre os mecanismos básicos de herança do caráter em estudo, dos valores genéticos e do limite de seleção.

A origem dos procedimentos para análises dialélicas é atribuída a Schmidt, por volta dos anos de 1920 (GHOSH; BISWAS, 2003). Porém, os primeiros a definirem os termos capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) foram Sprague e Tatum (1942). Segundo esses autores, a CGC é definida como sendo o desempenho médio de um genitor em combinações híbridas. Já a CEC é quanto o comportamento de combinações híbridas mostra-se superior ou inferior ao que seria esperado, com base no comportamento médio dos genitores envolvidos.

A interpretação genética da capacidade de combinação auxilia a compreensão da complexidade do processo da escolha do testador adequado. Vencovsky (1987) relata que, considerando um loco com dois alelos, a capacidade geral de combinação (CGC) é obtida com a utilização da expressão: $CGC = (p_i - \bar{p})[a + (1 - 2t)d]$, em que p_i é a frequência do alelo favorável para o referido loco na linhagem sob avaliação; \bar{p} é a frequência alélica média de todas as linhagens que estão sendo avaliadas; t é a frequência alélica do testador utilizado; a é o desvio dos locos em homozigose em relação à média, e d é o desvio do heterozigoto em relação à média, isto é, os efeitos de dominância.

Como se observa, a capacidade geral de combinação é função direta das diferenças de frequências alélicas, ou seja, $p_i - \bar{p}$. Dessa forma, valores superiores de capacidades de combinação são esperados para genótipos cujas frequências de alelos favoráveis são elevadas, ou seja, maiores valores de p_i , o que permite inferir sobre a estrutura genética dos genótipos em avaliação.

Os efeitos da CEC são indicativos de interações não aditivas para o caráter resultante da complementação gênica entre os parentais, possibilitando antever respostas de ganho genético com a exploração da heterose (BASTOS et al., 2003). A ausência de significância do componente quadrático da CEC implica que os parentais não apresentam entre si um apreciável grau de complementação gênica em relação às frequências dos alelos nos locos que apresentam dominância (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992).

A combinação híbrida mais favorável deve ser, portanto, aquela que apresentar maior estimativa de capacidade específica de combinação (CEC) e que seja resultante de um cruzamento em que pelo menos um dos parentais apresente elevada capacidade geral de combinação (CRUZ et al., 2004).

Outra questão que também influencia na obtenção de materiais genéticos superiores é a avaliação de vários caracteres para melhor inferir sobre a superioridade relativa dos mesmos. Na aplicação de técnicas biométricas, o que se utiliza normalmente é a análise univariada, sendo as análises combinadas, em geral, restritas a procedimentos bivariados. A análise dessas variáveis isoladamente poderá não ser suficiente para modelar o fenômeno, pois não consideram as correlações existentes entre elas. Dessa forma, a utilização da teoria de análise multivariada permite combinar as múltiplas informações contidas na unidade experimental, de modo que facilite a execução da seleção com base na combinação de variáveis, possibilitando discriminar as populações mais promissoras, principalmente no contexto genético. É importante ressaltar, também, que essas análises vêm gerando um grande volume de informações para programas de melhoramento genético de diversas espécies (BARBOSA; PINTO, 1998; JARAMILLO et al., 2005; LORENCETTI et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006).

Existe a alternativa da utilização da análise multivariada em cruzamentos dialélicos, que permite combinar as múltiplas informações obtidas

na unidade experimental, o que facilita a seleção e possibilita a discriminação das populações mais promissoras, principalmente no contexto da seleção de genitores para melhoramento genético (LEDO et al., 2003).

Quando os genótipos são avaliados em vários ambientes, pode-se lançar mão da metodologia GGE biplot para visualizar a estratificação ambiental. O gráfico GGE biplot é construído a partir dos dados da decomposição das capacidades de combinação, apresentando graficamente qual é o genótipo com melhor desempenho (YAN et al., 2000). Para analisar as respostas, é construído um polígono unindo os pontos dos genótipos mais afastados da origem em cada quadrante, sendo que todos os outros genótipos estarão incluídos dentro do polígono formado. Posteriormente, é traçada uma perpendicular para cada lado do polígono com relação à origem e, assim, os ambientes e genótipos são separados em setores. Cada setor representa um estrato ambiental, no qual, o genótipo localizado no vértice do polígono, representa o genótipo campeão para este setor ou estrato ambiental. Os genótipos em cada setor são os que apresentam o melhor desenvolvimento nos ambientes incluídos naquele setor.

As interpretações do gráfico “biplot” são feitas segundo a direção e longitude dos vetores. As estimativas da CGC dos genótipos (Y_{ij}) são explicadas pelos escores referentes aos genótipos, no seguinte sentido: no gráfico biplot, quanto maior for o valor do escore do primeiro componente principal (PCA1), maiores são as capacidades de combinação dos genótipos, e se o segundo componente principal (PCA2) está próximo de zero, os genótipos são considerados como mais estáveis, ou seja, possuem pouca interação pelos ambientes avaliados. O gráfico biplot também pode indicar a existência de um ambiente ideal, dado por aquele que tem, no primeiro componente principal (PCA1), um escore alto, apresentando alta capacidade para discriminar os genótipos. Além disso, se o segundo componente principal (PCA2) for próximo

de zero, isso indica que o ambiente proporciona a maior capacidade geral de combinação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Estão descritos a seguir todos os procedimentos adotados neste trabalho.

3.1 Ambientes

Os experimentos foram conduzidos na área experimental da Fazenda Experimental da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (Amb 1), no município de Ijaci-MG, a 951 m de altitude, 21° 10' S e 44° 55' W e na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (Amb 2), no município de Lavras-MG, a uma altitude de 918m, 21° 14' S 45° 00' W.

3.2 Genótipos utilizados

Foram utilizadas progênies $S_{0.1}$ do programa de melhoramento de milho do Departamento de Biologia da UFLA. Estas foram previamente avaliadas em *topcrosses* utilizando dois testadores em ambientes com alto e baixo nitrogênio. Foram selecionadas as seis mais tolerantes e responsivas e as cinco menos tolerantes e não responsivas, as quais foram utilizadas para a obtenção do dialelo completo.

3.2.1 Histórico das Progênes $S_{0:1}$

O programa de melhoramento do Departamento de Biologia da UFLA avaliou 67 progênes $S_{0:1}$ em combinações *topcrosses* com dois testadores (um híbrido simples e uma mistura da 67 progenies) em dois níveis de nitrogênio. Dentre as progênes, com base no desempenho dos *topcrosses*, foram selecionadas as seis de maior tolerância e responsividade ao nitrogênio e as cinco de menor tolerância e responsividade (Tabela 1) (GUEDES et al., 2011).

As 11 progênes selecionadas foram cruzadas em um dialelo completo, sintetizando 55 combinações híbridas. Dentre os híbridos, foram obtidas combinações de progênes tolerantes com tolerantes, tolerantes com não tolerantes e não tolerantes com não tolerantes. O mesmo ocorreu em relação a responsividade.

Os 55 híbridos, mais as 11 progênes $S_{0:2}$ provenientes da autofecundação das progênes $S_{0:1}$, mais 6 testemunhas foram avaliados em experimentos variando as doses de nitrogênio. Para todos os experimentos, o delineamento foi o de blocos casualizados, composto por três repetições, com parcelas de duas linhas de três metros de comprimento, com espaçamento de 0,6 m entre linhas e 0,25 m entre plantas, obtendo uma densidade de aproximadamente 66.666 plantas ha^{-1} .

Tabela 1 Descrição das 11 progênes S_{0.1} selecionadas pelo *topcross*

Progênes	Classificação em relação ao N	
	Genealogia	<i>Topcross</i> [‡]
1	DKB199-50	Responsivo e tolerante
2	DKB199-43	Responsivo e tolerante
3	DKB199-69	Responsivo e tolerante
4	P30K75-03	Responsivo e tolerante
5	P30K75-05	Responsivo e tolerante
6	P30K75-25	Responsivo e tolerante
7	P30K75-37	Não responsivo e não tolerante
8	P30K75-10	Não responsivo e não tolerante
9	2C577-57	Não responsivo e não tolerante
10	P30K75-06	Não responsivo e não tolerante
11	CD307-51	Não responsivo e não tolerante

[‡] Experimento realizado na safra 2008/2009, (GUEDES et. al., 2011).

3.3 Estratégia para diferenciação do ambiente em relação ao nitrogênio

A semeadura foi realizada no sistema de plantio direto no início da safra 2010/2011 no mês de novembro. Para isso, a área foi submetida à prévia dessecação, utilizando-se glifosato, cerca de 15 dias antes da semeadura. Antes das instalações dos experimentos, foram determinadas as principais características químicas dos solos. Para efeito de cálculo da quantidade de nitrogênio no solo, foi considerado que 1% de matéria orgânica no solo equivale a liberação de 20 kg ha⁻¹ de nitrogênio de acordo com Fancelli (2002). Os demais nutrientes foram corrigidos de acordo com as necessidades apresentadas pela análise de solo (Tabela 2).

Tabela 2 Análises químicas dos solos amostrados à profundidade de 0 a 20 cm, nas áreas experimentais^{1/}.

Características ^{2/}	Experimentos			
	Alto N		Baixo N	
	Amb 1	Amb 2	Amb 1	Amb 2
pH H ₂ O	5,93	5,1	5,86	5,03
P (mg dm ⁻³)	5,53	9,63	8,1	36,73
K (mg dm ⁻³)	57,66	90	56,66	116,00
Ca ²⁺ (cmolc dm ⁻³)	2,3	0,7	2,06	0,80
Mg ²⁺ (cmolc dm ⁻³)	0,9	0,2	0,83	0,30
Al ³⁺ (cmolc dm ⁻³)	0,1	0,33	0,1	0,30
H + Al (cmolc dm ⁻³)	2,4	4,33	2,5	4,83
SB (cmolc dm ⁻³)	3,33	1,13	3,03	1,40
t (cmolc dm ⁻³)	3,43	1,46	3,13	1,70
T (cmolc dm ⁻³)	5,76	5,5	5,53	6,27
V (%)	58,16	20,53	54,8	22,17
m (%)	2,93	24	3,2	18,17
MO (dag kg ⁻¹)	2,66	2,96	2,63	3,13
P-rem (mg L ⁻¹)	21,13	8,36	23,63	8,83

^{1/}Análises realizadas nos laboratórios do Departamento de Ciência do Solo (DCS), de acordo com a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 1997).

^{2/} SB – soma de bases, t – CTC efetiva, m – saturação por alumínio, T – CTC a pH 7,0, V – saturação por bases.

Para a diferenciação dos experimentos quanto ao nível de nitrogênio, foi adotado a seguinte estratégia: para os experimentos com alta disponibilidade de nitrogênio (alto N), a adubação de plantio foi a mesma recomendada para a

cultura, sendo colocada no sulco de plantio, a dosagem de 350 kg ha⁻¹ da formulação (N-P-K) 08-24-12; a primeira adubação de cobertura para fornecimento de nitrogênio foi realizada com 200 kg ha⁻¹ de sulfato de amônio (21-00-02) no estágio fenológico V4 e a segunda adubação de cobertura foi realizado com 200 kg ha⁻¹ de uréia (45-00-00) no estágio V8. Portanto foi adicionado nesses experimentos aproximadamente 160 kg ha⁻¹ de N. Para os experimentos com baixa disponibilidade de nitrogênio (baixo N), a adubação de plantio foi a mesma dos experimentos anteriores e a adubação de cobertura não foi realizada, sendo adicionado aproximadamente apenas 30 kg ha⁻¹ de N.

3.4 Características avaliadas

Em todos os experimentos foram avaliados os seguintes caracteres:
Produtividade de grãos: peso de grãos da parcela, medido em kg parcela⁻¹, corrigido para o estande, conforme Schmildt (2001). Posteriormente, foi convertido para kg ha⁻¹, utilizando a área útil da parcela, 6m x 0,60m, que corresponde a 3,6 m². Os dados foram corrigidos para umidade padrão de 13%, utilizando-se a seguinte expressão:

$$P_{13} = \frac{PC(100 - U)}{87}$$

em que:

P_{13} é o peso de espigas despalhadas corrigido para a umidade padrão de 13%;
 PC é o peso de espigas sem correção; U é a umidade dos grãos na ocasião da pesagem das espigas, em porcentagem, amostrados de 10% das parcelas;

Peso de cinco espiga: peso de cinco espigas despalhadas colhidas aleatoriamente da parcela, medido em gramas;

Comprimento de espigas: comprimento de cinco espigas de colhidas aleatoriamente, em cada parcela, que não apresentaram falhas de polinização e problemas de má conformação. Foram medidos em centímetros do ponto de inserção do pedúnculo ao ápice da espiga;

Diâmetro da espiga: diâmetro de cinco espigas colhidas aleatoriamente, em cada parcela, que não apresentaram falhas de polinização e problemas de má conformação. Foram medidos em centímetros no terço médio da mesma;

Diâmetro de sabugo: diâmetro dos cinco sabugos, dos quais já foram medidos o diâmetro da espiga, medidos em centímetros no terço médio dos mesmos;

Tamanho de grão: tamanho médio de grãos de cada uma das cinco espigas amostradas anteriormente, medidos em centímetros.

Devido a importância da produtividade de grãos como caráter quantitativo e englobar vários mecanismos genéticos na planta, servindo como um índice de seleção, este trabalho dará maior ênfase neste caráter do que a seus componentes secundários.

3.5 Análise dos dados

Os dados obtidos para todas as características avaliadas estavam balanceados e foram submetidos à análise de variância individual de acordo com os procedimentos descritos por Ramalho et al. (2005). Depois de atendida as pressuposições da análise de variância, foi realizada análise conjunta dos experimentos. Considerando todos os efeitos do modelo como aleatório, exceto a média geral.

Antes de efetuar o agrupamento dos experimentos, foi realizado o teste de homogeneidade de variâncias residuais para as variáveis, nos grupos de experimentos considerados para as análises conjuntas. Box et al., (1953) citado por Pimentel Gomes (2000), reportam que, se todos os experimentos têm o

mesmo número de parcelas, a situação ideal para análise de variância de grupos de experimentos é que o quociente entre o maior e menor quadrado médio do resíduo das análises individuais não seja superior a 3. Entretanto, utilizando o teste de F máximo, Pimentel Gomes (2000) reporta que, no caso de grupos de experimentos similares em que todos os tratamentos tenham o mesmo número de repetições, pode-se fazer a análise conjunta para um determinado caráter, se o quociente entre o maior e menor quadrado médio do resíduo nos diferentes ambientes for menor que 7. Para o grupo de experimento sob alto N e para o grupo sob baixo N, o quociente entre o maior e menor quadrado médio do resíduo foi menor que 7 para todas as variáveis estudadas, permitindo a realização da análise de variância conjunta.

De posse das médias, os híbridos e as progênies foram classificados em quatro categorias, de acordo com a produção em condições de estresses e em condições ideais de acordo com Blair (1993):

I – cultivares não responsivas e tolerantes (R_nT): são as que apresentam alta produção sob baixos teores do elemento e não respondem ao fornecimento do elemento;

II – cultivares responsivas e tolerantes (RT): são as que apresentam alta produção sob baixos teores do elemento e respondem positivamente ao fornecimento do elemento;

III – cultivares responsivas e não tolerantes (RT_n): são as que produzem pouco sob baixos teores do elemento e respondem positivamente ao fornecimento do elemento;

IV – cultivares não responsivas e não tolerantes (R_nT_n): são aquelas que produzem pouco sob baixos teores do elemento e não respondem ao fornecimento do elemento.

Foram estimados os valores da heterose em porcentagem relacionado com a média dos parentais pela seguinte expressão:

$$\hat{H} = \left(\left(\frac{\bar{F}_1}{\left(\frac{\bar{P}_1 + \bar{P}_2}{2} \right)} \right) - 1 \right) \times 100$$

em que:

\hat{H} : estimativa da heterose em porcentagem;

\bar{F}_1 : produtividade média de grãos do híbrido;

\bar{P}_1 e \bar{P}_2 : produtividade média de grãos dos parentais.

3.5.1 Estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos

A partir das esperanças dos quadrados médios das análises de variâncias, foram estimados os parâmetros genéticos e fenotípicos, por meio dos seguintes estimadores:

a) Variância fenotípica entre as médias dos híbridos ($\hat{\sigma}_F^2$):

$$\hat{\sigma}_F^2 = \frac{Q_{hib}}{r}$$

em que:

$\hat{\sigma}_F^2$: estimativa da variância fenotípica entre os híbridos;

Q_{hib} : quadrado médio da fonte de variação híbridos;

r : número de repetições.

b) Variância genética entre os híbridos ($\hat{\sigma}_G^2$) de cada experimento alto e baixo

N:

$$\hat{\sigma}_G^2 = \frac{Q_{hib} - Q_{Erro}}{r}$$

em que:

$\hat{\sigma}_G^2$: a estimativa da variância genética entre híbridos;

Q_{hib} : quadrado médio da fonte de variação híbridos;

Q_{Erro} : quadrado médio do resíduo;

r : número de repetições;

Os intervalos de confiança (IC) associados às estimativas dos componentes de variância foram estimados a partir da expressão apresentada por Ramalho et al. (2005):

$$IC_{1-\alpha} : \left[\frac{V_p \hat{\sigma}_G^2}{\chi_{\alpha/2}^2}, \frac{V_p \hat{\sigma}_G^2}{\chi_{1-\alpha/2}^2} \right]$$

em que:

α : nível de significância preestabelecido (0,05);

$\hat{\sigma}_G^2$: estimativa da variância genética entre os tratamentos;

V_p : número de graus de liberdade associados ao componente da variância genética;

$\chi_{\alpha/2}^2$ e $\chi_{1-\alpha/2}^2$: valores tabelados da distribuição de qui-quadrado para V_p graus de liberdade.

c) Herdabilidade no sentido amplo na média dos híbridos de cada experimento alto e baixo N:

$$\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_F^2} \times 100$$

em que:

$\hat{\sigma}_G^2$: variância genética entre os híbridos.

$\hat{\sigma}_{\bar{F}}^2$: variância fenotípica entre os híbridos.

Pelas expressões apresentadas por Knapp et al. (1985), com confiança de $1-\alpha = 0,95$, foram obtidos os limites inferiores (LI) e superiores (LS) da herdabilidade (h^2):

$$LI = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{Q_{hib}}{Q_{Erro}} \right) x F_{1-\alpha/2; v_2; v_1} \right]^{-1} \right\}$$

$$LS = \left\{ 1 - \left[\left(\frac{Q_{hib}}{Q_{Erro}} \right) x F_{\alpha/2; v_2; v_1} \right]^{-1} \right\}$$

em que:

$F_{\alpha/2}$ e $F_{1-\alpha/2}$: valores tabelados da distribuição de F, com v_2 e v_1 graus de liberdade, sendo $\alpha = 0,05$;

v_1 e v_2 : graus de liberdade associados QM de híbrido e QM do erro, respectivamente;

Q_{hib} e Q_{Erro} : quadrado médio de híbrido e quadrado médio do resíduo, respectivamente.

Para cada experimento foi estimada a acurácia seletiva (\hat{r}_{gg}^2) pela expressão (RESENDE, 2007):

$$\hat{r}_{gg}^2 = \sqrt{1 - \frac{1}{F}}$$

em que:

F : valor do teste F de Snedecor para o efeito de híbridos associados à análise de variância;

3.5.2 Índices de seleção

Para a avaliação da eficiência nutricional e classificação dos genótipos quanto ao uso do nitrogênio foram utilizados os índices de seleção relacionados à responsividade e à tolerância ao N.

3.5.2.1 Estimativa do índice de eficiência agronômica (EA)

Utilizando os dados médios da produtividade de grãos (kg ha^{-1}) dos híbridos, foi estimado o índice de eficiência de utilização de nitrogênio pela expressão de Thung (1990), ou seja:

$$\hat{\alpha}_i = (N_{1i} - N_{2i})/Q$$

em que:

α_i : índice de resposta ao nitrogênio do tratamento i;

N_{1i} : produtividade média do híbrido i no alto N;

N_{2i} : produtividade média do híbrido i no baixo N;

Q : quantidade de N aplicado.

3.5.2.2 Estimativa do índice de tolerância (IT)

Utilizando os dados médios da produtividade de grãos (kg ha^{-1}) dos híbridos, foi estimado o índice de tolerância a falta de nitrogênio pela expressão de Fischer e Maurer (1978):

$$\hat{\gamma}_i = (Y_i(N^-)/Y_i(N^+)) \times (\bar{Y}_x(N^-)/\bar{Y}_x(N^+))$$

em que

γ_i : índice de resposta ao nitrogênio do tratamento i

$Y_i(N^-)$: produtividade média do híbrido i sob baixo N;

$Y_i(N^+)$: produtividade média do híbrido i sob alto N;

$\bar{Y}_x(N^-)$: a produção média de todos os híbridos sob baixo N;

$\bar{Y}_x(N^+)$: a produção média de todos os híbridos sob alto N

3.5.3 Análise Dialélica

Para estimar as importâncias relativas dos efeitos genéticos aditivos e não aditivos sobre a expressão da característica produtividade de grãos, em ambientes contrastantes quanto a disponibilidade de N, foi adotada a metodologia de análise dialélica proposta por Griffing (1956) método 4, utilizando apenas as combinações híbridas. Esta metodologia permite a decomposição do efeito de genótipos (híbridos dialélicos) em efeitos de capacidade geral e específica de combinação, que são relativos, respectivamente, à frequência de alelos favoráveis nos genitores e à complementação gênica que se expressa como heterose devido aos efeitos dos desvios da dominância e epistasia nas combinações híbridas. Utilizando a abordagem REML (*Residual Maximum Likelihood*) foram realizados dois tipos de análises: i) análise univariada, considerando apenas a variável produtividade de grãos; ii) análise multivariada considerando a produção de grãos e os seus componentes secundários (comprimento e diâmetro de espiga, diâmetro de sabugo e tamanho de grão).

Considerando a análise multivariada, o modelo adotado nesse estudo foi semelhante ao apresentado por Henderson e Quaas (1976), porém adaptado para análise de capacidade de combinação dado por:

$$y_n = X_n \beta + Z_{1_n} \alpha + Z_{2_n} \omega + Z_{3_n} \phi + Z_{4_n} \tau + e_n$$

em que y_n é o valor médio de parcela referente ao n-ésimo caráter ($n=1, 2, 3, 4$ e 5) avaliados em dois locais e dois níveis de N, totalizando quatro ambientes, X_n é a matriz de incidência dos efeitos fixos para o caráter n, Z_{1_n} é a matriz de incidência dos efeitos da capacidade geral de combinação para o caráter n, Z_{2_n} é a matriz de incidência dos efeitos da capacidade específica de combinação para o caráter n, Z_{3_n} é a matriz de incidência da interação das capacidades gerais de combinação por ambientes para o caráter n, Z_{4_n} é a matriz de incidência da interação das capacidades específicas de combinação por ambientes para o caráter n. β , α , ω , ϕ e τ são os vetores dos efeitos de X_n , Z_{1_n} , Z_{2_n} , Z_{3_n} e Z_{4_n} respectivamente e e_n o erro aleatório do modelo.

Com o objetivo de melhor visualizar o comportamento das capacidades gerais de combinação em relação aos ambientes e níveis de nitrogênio, foi plotado um gráfico denominado por Yan et al. (2000) como GGE biplot (Genotype and Genotypes by Environments Interaction), por meio do pacote computacional SAS v 8,0 (SAS INSTITUTE, 2000) considerando o modelo simplificado para dois componentes principais:

$$CGC - CGC_I = \lambda_1 \gamma_{i1} \alpha_{j1} + \lambda_2 \gamma_{i2} \alpha_{j2} + \rho_{ij}$$

em que: CGC é a média blup da capacidade geral de combinação do genitor i no ambiente j , CGC_I é a média blup da interação entre as capacidades gerais de combinação e ambientes, $\lambda_1 \gamma_{i1} \alpha_{j1}$ é o primeiro componente principal (PCA1),

capta maior parte do efeito de genótipos (G) + interação (GxA) do tipo simples, $\lambda_2\gamma_{i2}\alpha_{j2}$ é o segundo componente principal (PCA2), capta efeito de genótipos (G) + interação (GxA) do tipo complexa, λ_1 e λ_2 são os autovalores associados ao PCA1 e ao PCA2, γ_{i1} e γ_{i2} são os escores do PCA1 e do PCA2, respectivamente, para genótipos, α_{j1} e α_{j2} são os escores do PCA1 e do PCA2, respectivamente, para ambientes, ρ_{ij} é o resíduo da interação CGC x ambientes, também conhecido por ‘ruído’, correspondente aos componentes principais não retidos no modelo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todos os resultados encontrados são reportados e discutidos a seguir.

4.1 Resumo das análises de variâncias

As análises de solo constatou-se que os dois ambientes apresentaram pequena diferença quanto à matéria orgânica disponível no solo, da qual a cada 1% equivale a liberação de aproximadamente 20 kg ha⁻¹ de nitrogênio (FANCELLI, 2002) . Os dois ambientes diferiram também quanto a outras propriedades químicas como pH e saturação de bases (Tabela 3). No entanto, para cada nível de N em cada ambiente não houve diferença quanto à matéria orgânica, sendo então a diferença na disponibilidade de N definida pela adubação de cobertura utilizando 130 kg ha⁻¹ de N no nível definido como alto N e o nível baixo N não recebeu adubação de cobertura.

No geral, observou-se através do coeficiente de variação (CV) uma boa precisão experimental para todas as variáveis nos dois níveis de N. Exceto para produtividade de grãos no nível baixo N, todas as estimativas de CV foram

abaixo de 20%, sendo esse fato bastante importante para que tenha uma maior confiabilidade nas informações experimentais (Tabela 3). Vale ressaltar que o coeficiente de variação para produtividade de grãos no nível alto N foi menor do que no nível baixo N. Em estudos de melhoramento de plantas para estresse de baixa disponibilidade de nitrogênio é normal a obtenção de CV's mais elevados do que para ambientes sem estresse, pois sob estresse as médias geralmente são menores e os quadrados médios dos resíduos são maiores. A obtenção de maiores coeficientes de variação em ambientes sob estresse foi relatado por Bänziger e Lafitte (1997). Santos et al. (1998) obtiveram coeficientes de variação de 22,3 e 23,4% para o peso de espiga e produtividade de grãos, respectivamente, avaliando uma população de sintéticos de milho sob baixo nitrogênio. Outro parâmetro que se utiliza para verificação da precisão experimental é a acurácia seletiva (Tabela 5), a qual apresentou estimativas concordantes com as do CV para o caráter produtividade de grãos, em que os experimentos com alto N possuem maiores acurácia seletiva do que os com baixo N. Chama a atenção que todos os experimentos apresentaram acurácia acima de 80 %, que é considerada alta e por isso apresentam boa qualidade para seleção (RESENDE; DUARTE, 2007).

Observou-se que a variável produtividade de grãos e a maioria dos componentes secundários foram significativas ($P < 0,01$) para a fonte de variação genótipos (G) nos dois níveis de N, as exceções foram as variáveis diâmetro de espiga e tamanho de grãos no nível baixo N e diâmetro de sabugo no nível alto N. Isto evidencia a existência de diferença entre os genótipos (Tabela 3).

Para a fonte de variação ambiente (Amb) no nível alto N só foi detectado significância para a variável produtividade de grãos e no nível baixo N foi detectado efeito significativo para todas as variáveis (Tabela 2). Isto mostra como a diminuição de um nutriente no ambiente pode favorecer a expressão de variabilidade no conjunto de caracteres entre os genótipos avaliados. Nesse caso,

o nutriente em questão é o nitrogênio, em função da sua dinamicidade, pode ser fixado e disponibilizado no solo por vários mecanismos como na forma de compostos orgânicos (restos vegetais e animais) e/ou inorgânicos, fixação biológica (simbiótica ou não) e fixação por descargas elétricas, sendo que seu metabolismo também é influenciado por diversos fatores ambientais (HIREL et al., 2001; MAJEROWICZ et al., 2002), para a cultura do milho, a sua principal fonte deste nutriente é através de adubos químicos nitrogenados.

Tabela 3 Resumo da análise de variância conjunta por nível de N, coeficiente de variação (CV %), média fenotípica, significância dos efeitos de genótipos (G), ambientes (Amb) e interação (GxAmb) para produtividade de grãos e seus componentes secundários avaliados na safra 2010/2011.

Variável	Conjunta por Nível de N									
	Alto N					Baixo N				
	G	Amb	GxAmb	CV (%)	Média	G	Amb	GxAmb	CV (%)	Média
Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹)	**	**	NS	18,11	9496,29	**	*	NS	22,16	8199,80
Peso de 5 espigas (kg)	**	NS	NS	14,10	1,04	*	**	NS	11,68	1,08
Comprimento espiga (cm)	*	NS	NS	11,23	15,98	**	**	NS	12,32	15,78
Diâmetro espiga (cm)	NS	NS	NS	8,12	47,23	**	**	NS	8,09	46,38
Diâmetro sabugo (cm)	*	NS	NS	7,26	27,75	NS	*	NS	8,16	27,47
Tamanho de grãos (cm)	NS	NS	NS	15,39	9,74	**	**	NS	14,39	9,45

*, ** - Significante aos níveis de 5 e 1%, respectivamente. NS - Não significativo

Em relação à análise conjunta considerando simultaneamente os dois ambientes e os dois níveis de N (Tabela 4), observou-se que a fonte de variação nível de N (N) foi significativa para todos os caracteres, o que evidencia que os níveis de N em cada experimento nos dois ambientes foram diferentes. E também reflete na produtividade média de grãos em cada nível de N (Tabela 3), sendo que o nível alto N foi 13,65 % mais produtivo que o baixo N.

O índice de Fischer e Maurer (1978), proposto para caracterizar os ambientes com estresse (*IIS*) aponta que experimentos com *IIS* abaixo de 0,5 (leve estresse abiótico) permitem identificar apenas genótipos com um intermediário nível de tolerância (SINGH, 2007). Dessa forma, com o *IIS* de 0,13 para produtividade de grãos esses experimentos se caracterizam como leve estresse abiótico, fato esse que pode ser comprovado pela alta produtividade média de grãos do nível baixo N (8199,8 kg ha⁻¹). Esse nível apenas recebeu adubo nitrogenado no plantio. Isso evidencia que experimentos com estresse de nitrogênio em áreas de plantio direto necessitam de uma preparação prévia da área. A matéria orgânica presente no solo, conforme já ressaltado, contribui para o fornecimento de nitrogênio para a planta. Assim, para aumentar o nível de estresse deste nutriente, no caso para experimentação com estresse abiótico, pode-se recorrer ao plantio de milho visando a produção de silagem, por conseguinte, o percentual de matéria orgânica no solo seria reduzido, assim como o teor de nitrogênio.

Considerando que a diferença de produção de grãos entre os dois ambientes foi de 1296 kg ha⁻¹ e que a diferença de dose de N aplicada foi de 130 kg ha⁻¹, a resposta média de kilograma de grãos produzidos por kilograma de N aplicado foi de 6,5 kg. Esse resultado está abaixo dos encontrado por Fidelis et al. (2007), que encontraram resposta média de 17 kg de grãos por kg de N aplicado, na cultura do milho.

Não foi detectado interação significativa para as fontes de variação genótipos com níveis de N (GxN) e genótipos com ambientes (GxAmb) para nenhum caráter na análise conjunta (Tabela 4). Isso evidencia o comportamento coincidente dos genótipos nos dois níveis de N e nos dois ambientes, condição essa favorável para a seleção de genótipos. A não detecção de interação, principalmente a G x N, é um indício que as variáveis possuem controle genético semelhante nos dois níveis de N avaliados, ou seja, alelos favoráveis para determinado nível de N podem ser pleiotrópicos para o outro nível de N. Estes resultados concordam com Médici et al. (2005) e Fernandes et al. (2005) que relataram o mesmo efeito para produtividade de grãos e seus componentes secundários em milho.

A existência de variabilidade genética entre os híbridos para o caráter produtividade de grãos pode ser ratificada também pelas estimativas dos parâmetros genéticos (Tabela 5). As estimativas das variâncias genéticas entre os híbridos ($\hat{\sigma}_G^2$) foram todas diferentes de zero, uma vez que as estimativas do limite inferior foram sempre maiores do que zero. Fica nítido que as estimativas para o nível alto N nos dois ambientes foram sempre maiores que as estimativas para o nível baixo N. Isso evidencia claramente que os híbridos expressaram maior variabilidade em ambientes favoráveis. As estimativas das herdabilidades foram superiores a 67%, e os intervalos de confiança apresentam limites inferiores todos acima de zero. O nível alto N apresentou sempre as maiores estimativas da herdabilidade associada a uma alta acurácia seletiva (Tabela 5), o que indica que a avaliação dos genótipos em ambientes favoráveis é uma etapa importante para a seleção de genótipos tolerantes ao N.

Tabela 4 Resumo da análise de variância conjunta, coeficiente de variação (CV %), média fenotípica, significância dos efeitos de genótipos (G), ambientes (Amb), níveis de nitrogênio(N) e interações (GxAmb) e (NxG) para produtividade de grãos e seus componentes secundários avaliados na safra 2010/2011.

Variável	Conjunta							Média
	G	N	Amb	NxG	GxAmb	NxAmb	CV (%)	
Produtividade de grãos (kg.ha ⁻¹)	**	**	NS	NS	NS	**	19,41	8848,05
Peso de 5 espigas (kg)	**	**	**	NS	NS	**	13,37	1,05
Comprimento espiga (cm)	**	*	**	NS	NS	NS	6,93	15,88
Diâmetro espiga (cm)	**	**	**	NS	NS	**	3,81	46,80
Diâmetro sabugo (cm)	**	**	**	NS	NS	*	4,11	27,61
Tamanho de grãos (cm)	**	**	**	NS	NS	**	6,87	9,60

*, ** - Significante aos níveis de 5 e 1%, respectivamente. NS - Não significativo

Tabela 5 Estimativas dos componentes de variância para o caráter produtividade de grãos (kg ha⁻¹) nos dois ambientes e nos dois níveis de N.

Ambientes	Componentes de variâncias			
	Variância Fenotípica ($\hat{\sigma}_{\bar{F}}^2$)	Variância Genética ($\hat{\sigma}_G^2$) (IC) [□]	Herdabilidade (\hat{h}_a^2) (LI - LS) [¥]	Acurácia Seletiva ($\hat{r}_{\hat{g}g}^2$)
Amb 1 Alto N	5,20	4,39 (3,74 – 7,69)	84,45 (76,4 – 89,5)	91,92
Amb 1 Baixo N	3,50	2,67 (2,27 – 4,68)	76,29 (63,93 – 83,97)	87,34
Amb 2 Alto N	6,01	5,02 (4,27 – 8,80)	83,93 (75,56 – 89,14)	91,62
Amb 2 Baixo N	3,45	2,33 (1,98 – 4,08)	67,66 (50,72 – 78,10)	82,22

[□] Intervalo de confiança. [¥] Limite inferior e superior da estimativa da herdabilidade, respectivamente.

4.2 Desempenho *per se* das progênies

Em todos os experimentos foram avaliados os híbridos gerados no dialelo completo e seus respectivos genitores, porém, uma geração avançada, $S_{0.2}$. Com os dados *per se* de produtividade de grãos dos genitores, verificou-se a validação da seleção dessas progênies pela capacidade geral realizada com base no desempenho dos seus *topcrosses* em alto e baixo N em trabalho anterior (GUEDES et. al., 2011). Foram selecionadas 11 progênies, sendo que as seis primeiras (1 a 6) foram consideradas responsivas e tolerantes ao nitrogênio (N) e as cinco últimas (7 a 11) foram consideradas não responsivas e não tolerantes ao N. Foram realizadas as análises de variância do desempenho *per se* dessas progênies em cada nível de N e em cada ambiente e, posteriormente, foi realizada uma análise conjunta dos níveis de N considerando os dois ambientes. Na média do nível alto N, as seis progênies previamente classificadas como responsivas e tolerantes a deficiência de N foram 1,4 vezes mais produtivas do que as cinco progênies previamente classificadas como não responsivas e não tolerantes a deficiência de N. No entanto, não houve diferença de produtividade média de grãos entre os dois grupos na média do nível baixo N (Figura 1).

Quanto ao desempenho individual de cada progênie em dois níveis diferentes de nutrientes, Gourley, Allan e Russele (1993) definiram conceitos para distinguir entre “genótipos superiores” e “genótipos eficientes” em estudos de eficiência nutricional em plantas. De acordo com estes autores, atividade metabólica superior em um dado genótipo deverá resultar em produções mais altas, independente da disponibilidade do nutriente no meio e, neste caso, um genótipo superior (e não um genótipo eficiente) estaria sendo identificado. A condição chave para classificar um par de genótipos como eficiente e ineficiente seria então que os mesmos atingissem produções semelhantes sob níveis adequados do nutriente e que diferissem entre si nos ambientes sob baixo suprimento do mesmo. Nesse contexto, das seis progênies consideradas de maior tolerância e

responsividade ao nitrogênio com base no desempenho dos seus *topcrosses*, 50% mantiveram essa mesma classificação pelo desempenho *per se* nesse experimento. Os cinco genitores considerados de menor tolerância e menor responsividade com base no desempenho dos seus *topcrosses*, apenas um mudou de classificação pelo desempenho *per se* (Tabela 6).

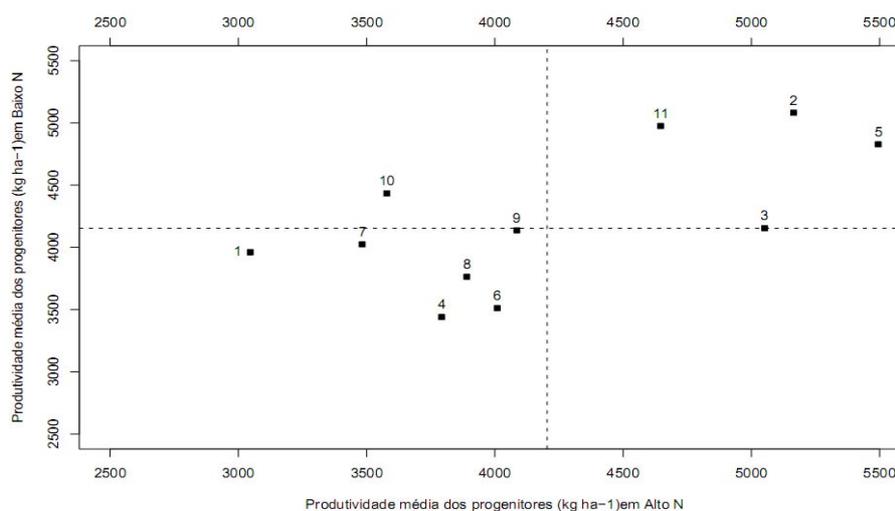


Figura 1 Comportamento quanto à tolerância ao baixo N e responsividade ao alto N dos 11 genitores $S_{0.2}$ em relação à produtividade média de grãos (kg ha^{-1}), na média dos ambientes.

Estes resultados indicam uma baixa equivalência da seleção realizada pelo desempenho do *topcross* com o desempenho *per se* quando se trata de selecionar para eficiência e tolerância ao N, mas uma boa equivalência quando se trata de eliminar os genótipos de piores desempenho. Isso comprova que a seleção precoce pelo desempenho em *topcross* é mais eficiente para excluir genótipos inferiores, uma vez que a geração $S_{0.1}$ das progênes na obtenção do *topcross* apresentam muita segregação genotípica (BERNARDO, 1991). Outra opção seria realizar a seleção com base na análise conjunta do desempenho em *topcross* com o desempenho *per se*.

Essa preocupação sobre a relação do desempenho da progênie em *topcross* e o desempenho *per se* ainda é controverso. Troyer e Wellin (2009) verificaram que o aumento da produtividade dos híbridos nos últimos anos

foi devido principalmente ao melhor desempenho das linhagens parentais e não devido ao aumento da heterose. No entanto, os melhoristas de milho que trabalham com híbridos de linhagens continuam avaliando e selecionando as linhagens genitoras quanto à capacidade de combinação. O ideal seria que fosse realizado um dialelo completo com todas as linhagens, no entanto, na prática, os cruzamentos dialélicos completos limitam o número de linhagens a serem utilizadas, requerendo muito esforço nas polinizações manuais para obtenção de todos os cruzamentos desejados. Para contornar o problema, melhoristas têm optado pelo método de *topcrosses* proposto por Davis (1924) para testar linhagens em programas de milho híbrido, o qual consiste em avaliar o mérito relativo de um grande número de linhagens em cruzamentos com testadores, eliminando as de desempenho agrônômico inferior, tornando mais racional o programa de híbridos.

No entanto, a maior eficiência seria alcançada se a seleção também fosse realizada com base no desempenho *per se* das progênies (TROYER; WELLIN, 2009). Neste caso, não se pode esquecer que na obtenção do híbrido, vários fenômenos genéticos poucos conhecidos acontecem, como pleiotropia, epistasia, complementação gênica, os quais são conjuntamente traduzidos em heterose. Por isso, a seleção de genótipos superiores devem ser com base em mais de uma avaliação, como por exemplo, *topcross* e *per se*.

Outra questão que pode ser enfatizada é a origem (genealogia) de cada progênie, que no total foram oriundas de quatro populações oriundas de híbridos simples diferentes (DKB199, P30K75, 2C77, CD307) (Tabela 6). Observa-se que as progênies classificadas como responsivas e tolerantes ao N pelo desempenho do *topcross* foram oriundas de apenas duas populações diferentes, e as classificadas como não responsivas e não tolerantes ao N foram oriundas de três populações diferentes. No entanto, pelo desempenho *per se* observa-se que o fator população não influenciou na classificação das progênies (Tabela 6), uma vez que as progênies classificadas como responsivas e tolerantes foram oriundas de três populações diferentes e as

classificadas como não responsivas e não tolerantes foram também oriundas de três populações diferentes. Observa-se que tanto progênies responsivas e tolerantes como também progênies não responsivas e não tolerantes foram originadas da mesma população. Essa observação é importante para mostrar que existe variabilidade tanto entre quanto dentro das populações, por isso esse fator não foi considerado para a seleção das progênies, sendo apenas considerado o desempenho de seus *topcrosses* em experimento com e sem estresse de nitrogênio (GUEDES et al., 2011).

Tabela 6 Classificação das progênies em relação ao desempenho em topcross e pelo desempenho *per se* avaliados em dois níveis de N.

Progênies	Classificação em relação ao N		
	Genealogia	Topcross [‡]	Per se
1	DKB199-50	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
2	DKB199-43	Responsivo e tolerante	Responsivo e tolerante
3	DKB199-69	Responsivo e tolerante	Responsivo e tolerante
4	P30K75-03	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
5	P30K75-05	Responsivo e tolerante	Responsivo e tolerante
6	P30K75-25	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
7	P30K75-37	Não responsivo e não tolerante	Não responsivo e não tolerante
8	P30K75-10	Não responsivo e não tolerante	Não responsivo e não tolerante
9	2C577-57	Não responsivo e não tolerante	Não responsivo e não tolerante
10	P30K75-06	Não responsivo e não tolerante	Não responsivo e tolerante
11	CD307-51	Não responsivo e não tolerante	Responsivo e tolerante

[‡] Experimento realizado na safra 2008/2009, (GUEDES et. al., 2011).

Uma das mais importantes funções do melhorista é realizar seleção de genótipos eficientes para determinada característica de interesse. Na prática não é uma tarefa muito simples, principalmente quando se trata de selecionar genótipos sob estresses abióticos, como por exemplo, ambientes que não possuem disponibilidade de fertilizantes nitrogenados adequado para a cultura. Nesse contexto alguns trabalhos mostram que é possível aumentar a produtividade de grãos em solos pobres em N sem prejudicar a produtividade em solos férteis. A população Across 8339 BN tem demonstrado isto após seleção para produtividade tanto no ambiente com deficiência de N quanto no solo sem esta limitação (LAFITTE; EDMEADES, 1994).

Outros trabalhos também indicam a possibilidade de associação entre tolerância e produtividade de grãos. Um exemplo é o dos híbridos modernos dos EUA, que superam os antigos tanto em baixo N quanto em alto N (DUVICK, 1984). Outro exemplo são as variedades locais brasileiras, que estiveram muito tempo submetidas à solos deficientes em nutrientes, e são menos produtivas, mesmo em solo pobre, do que os genótipos melhorados para solos férteis (MACHADO et al., 1998). Lafitte et al. (1997) também mostraram que variedades locais tropicais foram menos produtivas, em solos com deficiência em N, do que genótipos melhorados. Fontes para tolerância à solos com deficiência em N não têm sido especificamente localizadas e, ao que parece, genótipos com alta produtividade de grãos podem ser melhorados para este fim. A população originou o Across 8339 BN, por exemplo, estava sendo selecionada em solos com alto nível de N (LAFITTE; EDMEADES, 1994). A população Sintético Elite NT, que vem sendo melhorada com êxito para produtividade de grãos em solos pobres em N, também passou por seleção em solo fértil antes de sofrer seleção sob deficiência de N (SANTOS et al., 1998). Outro exemplo ainda é o das variedades Sol da Manhã Nitroflint e BR 106, melhoradas respectivamente em solo com e sem deficiência de N e que apresentam produtividades semelhantes, mesmo em solos pobres (MACHADO et al., 1998).

Considerando estas evidências mais as encontradas neste trabalho, ocorre um indicio que a tolerância à deficiência de N e a produtividade de grãos apresentam certa correlação em milho, mesmo que existam genes específicos para cada uma destas características.

4.3 Desempenho dos híbridos

Este trabalho teve como principal objetivo avaliar o desempenho de híbridos sintetizados de progênies contrastantes quanto ao uso de nitrogênio selecionadas pelo seu desempenho em *topcross*. Os resultados esperados eram que os híbridos sintetizados dentro do grupo de progênies responsivas/tolerantes (RT) apresentassem melhores desempenho do que os híbridos sintetizados pelos cruzamentos entre progênies responsivas/tolerantes e progênies não responsivas/não tolerantes (RT x R_nT_n). Também era esperado que esses cruzamentos RT fossem superiores aos híbridos sintetizado dentro do grupo de progênies não responsivas/não tolerantes (R_nT_n), conforme alguns resultados encontrados na literatura (GUIMARÃES, 2006; BALKO; RUSSEL, 1980; TSAI et al.,1991).

Foram sintetizados 55 híbridos, sendo 15 híbridos provenientes de progênies responsivas/tolerantes (RT), 30 híbridos proveniente de cruzamentos RT x R_nT_n e 10 híbridos oriundos de progênies R_nT_n (Tabela 7). Dos 15 híbridos que eram esperados apresentar desempenho fenotípico RT, apenas 20% mantiveram essa classificação, 60% foram não responsivos/não tolerantes (R_nT_n) e 20% apresentaram desempenho intermediário (RT_n) (Tabela 7). Dos 30 híbridos esperado ter desempenho intermediário (R_nT ou RT_n), apenas 30% mantiveram essa classificação, 40% apresentaram desempenho RT e 30% foram R_nT_n . Dos 10 híbridos oriundos de progênies R_nT_n , apenas 10% mantiveram essa classificação, 50% apresentaram desempenho fenotípico intermediário (R_nT ou RT_n) e 40% inverteram de classificação, apresentando desempenho fenotípico RT (Tabela 7). No geral, houve uma distribuição equitativa dos híbridos com relação ao uso de N,

sendo 34,5% RT, 34,5% R_nT_n e 31% com desempenho intermediário (Tabela 7). No entanto, observa-se muita variação nos resultados e o que chama atenção é a baixa porcentagem quando se compara o que era esperado com o observado, e a alta porcentagem de inversão de classificação. Esta falta de consistência entre o esperado com o observado sugere que pode estar ocorrendo um forte desvio de dominância ou epistasia, portanto a seleção precoce de progênies eficientes e responsivas ao N pelo seu desempenho em *topcross* sob alto e baixo N não é uma boa estratégia de seleção.

Este trabalho difere dos demais encontrados na literatura exatamente na seleção das progênies, que foram realizadas com base no seu desempenho em *topcross* com dois testadores (GUEDES et al., 2011), uma vez que esse método é utilizado na maioria das empresas de melhoramento de milho (TROYER; WELLIN, 2009). Já os trabalhos relacionados com estresse de nitrogênio, as progênies foram selecionadas pelo seu desempenho *per se* sob solos deficientes desse nutriente (GUIMARÃES, 2006; MEDICI et al., 2005)

No entanto alguns trabalhos encontraram resultados semelhantes aos apresentados aqui. No trabalho de Lafitte e Edmeades (1995) não existiu associação entre as produtividades de grãos de progênies S_3 , em solos pobres em N, com a produtividade de seus híbridos nos níveis alto e baixo de N. É interessante observar, entretanto, que tanto as linhagens mais produtivas quanto as menos produtivas, sob deficiência de N, do trabalho de Lafitte e Edmeades (1995), mostraram, na média, uma elevada resposta ao N. Esta observação indica que a responsividade das linhagens pode ser importante para a formação de híbridos superiores para solos com e sem deficiência de N. Medici et al. (2005) também confirmaram que a produtividade de grãos das linhagens sob deficiência de N não se correlaciona com a superioridade dos híbridos formados com estas linhagens, em solos com e sem deficiência de N.

Tabela 7 Classificação dos híbridos sintetizados no dialelo completo em relação ao que era esperado e pelo que foi observado quanto ao uso de N.

Tratamentos	Genitores		Híbridos	
			Esperado	Observado
2	1	2	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
3	1	3	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
4	1	4	Responsivo e tolerante	Não responsivo e tolerante
5	1	5	Responsivo e tolerante	Responsivo e tolerante
6	1	6	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
13	2	3	Responsivo e tolerante	Não responsivo e tolerante
14	2	4	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
15	2	5	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
16	2	6	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
23	3	4	Responsivo e tolerante	Responsivo e tolerante
24	3	5	Responsivo e tolerante	Responsivo e tolerante
25	3	6	Responsivo e tolerante	Não responsivo e tolerante
32	4	5	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
33	4	6	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
40	5	6	Responsivo e tolerante	Não responsivo e não tolerante
7	1	7	Intermediário	Não responsivo e não tolerante
8	1	8	Intermediário	Não responsivo e tolerante
9	1	9	Intermediário	Responsivo e tolerante

Tabela 7, continua

Tratamentos	Genitores		Híbridos	
			Esperado	Observado
10	1	10	Intermediário	Não responsivo e tolerante
11	1	11	Intermediário	Não responsivo e não tolerante
17	2	7	Intermediário	Responsivo e não tolerante
18	2	8	Intermediário	Responsivo e não tolerante
19	2	9	Intermediário	Responsivo e tolerante
20	2	10	Intermediário	Não responsivo e não tolerante
21	2	11	Intermediário	Responsivo e tolerante
26	3	7	Intermediário	Não responsivo e não tolerante
27	3	8	Intermediário	Não responsivo e tolerante
28	3	9	Intermediário	Responsivo e tolerante
29	3	10	Intermediário	Não responsivo e não tolerante
30	3	11	Intermediário	Responsivo e tolerante
34	4	7	Intermediário	Responsivo e tolerante
35	4	8	Intermediário	Não responsivo e não tolerante
36	4	9	Intermediário	Responsivo e não tolerante
37	4	10	Intermediário	Não responsivo e tolerante
38	4	11	Intermediário	Responsivo e tolerante
41	5	7	Intermediário	Responsivo e tolerante

Tabela 7, conclusão

Tratamentos	Genitores		Híbridos	
			Esperado	Observado
42	5	8	Intermediário	Não responsivo e não tolerante
43	5	9	Intermediário	Responsivo e tolerante
44	5	10	Intermediário	Responsivo e não tolerante
45	5	11	Intermediário	Responsivo e tolerante
47	6	7	Intermediário	Não responsivo e não tolerante
48	6	8	Intermediário	Não responsivo e tolerante
49	6	9	Intermediário	Responsivo e tolerante
50	6	10	Intermediário	Não responsivo e não tolerante
51	6	11	Intermediário	Responsivo e tolerante
53	7	8	Não responsivo e não tolerante	Não responsivo e não tolerante
54	7	9	Não responsivo e não tolerante	Responsivo e não tolerante
55	7	10	Não responsivo e não tolerante	Responsivo e tolerante
56	7	11	Não responsivo e não tolerante	Não responsivo e tolerante
58	8	9	Não responsivo e não tolerante	Responsivo e não tolerante
59	8	10	Não responsivo e não tolerante	Responsivo e não tolerante
60	8	11	Não responsivo e não tolerante	Responsivo e tolerante
62	9	10	Não responsivo e não tolerante	Responsivo e tolerante
63	9	11	Não responsivo e não tolerante	Responsivo e tolerante
65	10	11	Não responsivo e não tolerante	Não responsivo e tolerante

Os híbridos sintetizados dentro do grupo de progênes RT variaram de 7877 kg ha⁻¹ até 10239 kg ha⁻¹ apresentando uma média de 8884 kg ha⁻¹ no nível alto N. No nível baixo N esses híbridos variaram de 6860 até 9448 kg ha⁻¹ com média de 8033 kg ha⁻¹ (Figura 2). Os híbridos sintetizados pelos cruzamentos entre progênes RT x R_nT_n variaram de 6978 kg ha⁻¹ até 12310 kg ha⁻¹ apresentando uma média de 9600 kg ha⁻¹ no nível alto N. No nível baixo N esses híbridos variaram de 6055 até 10314 kg ha⁻¹ com média de 8353 kg ha⁻¹. Os híbridos sintetizados dentro do grupo de progênes R_nT_n variaram de 9145 kg ha⁻¹ até 11070 kg ha⁻¹ apresentando uma média de 10103 kg ha⁻¹ no nível alto N. No nível baixo N esses híbridos variaram de 6224 até 8998 kg ha⁻¹ com média de 7988 kg ha⁻¹. Observa-se que o grupo que apresentou maior média geral no nível alto N foi os híbridos sintetizados de progênes R_nT_n e no nível baixo N foi os híbridos oriundos de cruzamentos entre progênes RT x R_nT_n que também apresentaram maior variação e maiores valores de produtividade nos dois níveis de N.

Estes resultados demonstram mais uma vez que a seleção precoce das progênes pelo seu desempenho em *topcross* quanto ao uso de nitrogênio não possui uma boa previsibilidade para sintetizar híbridos responsivos e tolerantes ao N. Apesar de não ter sido realizado um contraste entre os grupos de híbridos, os resultados mostram uma tendência de que os melhores híbridos foram sintetizados entre progênes RT com progênes R_nT_n, o que sugere que grupos heteróticos contrastantes quanto ao uso de N é a melhor opção para sintetizar os melhores híbridos. Nesse contexto o trabalho de Balko e Russel (1980) fornece a importância da capacidade das linhagens responderem ao N para a formação de híbridos superiores, uma vez que eles trabalharam com dez linhagens reconhecidamente importantes para a formação de híbridos comerciais e demonstraram que nove se comportaram como responsivas. Supondo que esta amostra tenha alguma representatividade das linhagens usadas em híbridos comerciais, é razoável supor que em um par de linhagens progenitoras de um híbrido simples comercial, pelo menos uma deve ser responsiva ao N.

A associação entre responsividade de linhagens ao N e responsividade dos seus híbridos ao N está presente também nos trabalhos de Tsai et al. (1991). Os híbridos mais responsivos ao N neste trabalho tiveram como genitor uma linha avaliada como altamente responsiva no trabalho de Balko e Russel (1980). Os híbridos menos responsivos tiveram genitores menos responsivos, embora um dos híbridos mais responsivos tenha tido como genitores, uma linha altamente responsiva e uma não responsiva. Outros trabalhos encontraram comportamento previsível dos híbridos sintetizados de linhagens selecionadas pelo desempenho *per se* quanto ao uso de N (GUIMARÃES, 2006; MEDICI et al., 2005)

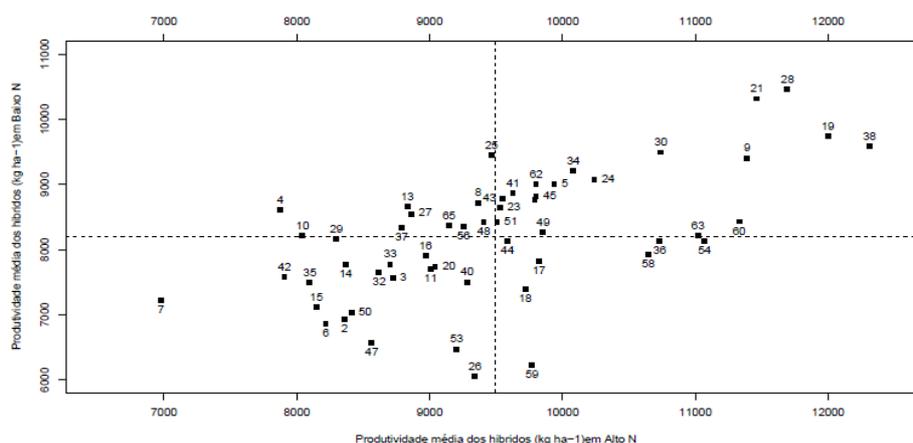


Figura 2 Comportamento quanto à tolerância ao baixo N e responsividade ao alto N dos 55 híbridos (identificação dos números na Tabela 6), oriundos de dialelo completo entre progênes contrastante quanto ao uso de N, em relação à produtividade média de grãos (kg ha^{-1}), na média dos dois níveis de N.

Quando se observa a heterose em porcentagem entre os grupos de cruzamentos, mais uma vez os híbridos sintetizados pelos cruzamentos entre progênes $R_T \times R_n T_n$ apresentaram maiores porcentagens e também maiores variações da heterose em todos ambientes e em todos os níveis de N (Tabela 8). Isso enfatiza que a heterose é maior quando os híbridos são sintetizados entre progênes de grupos heteróticos diferentes quanto ao uso de N, ou seja, as progênes RT seriam um grupo heterótico e as progênes $R_n T_n$ seriam o

outro grupo (Tabela 8). Também pode ser um indício de ocorrência de sobredominância, considerando que as progênies RT contribuem com alelos favoráveis e as progênies R_nT_n contribuem com alelos não favoráveis, e a combinação desses dois conjuntos de alelos nos híbridos é a que apresenta o melhor desempenho em relação aos híbridos que possuem apenas um dos tipos de alelo (favorável ou desfavorável). No entanto, não pode ser descartada a hipótese de epistasia.

As menores porcentagens da heterose na maioria dos ambientes foram observadas nos híbridos provenientes dos cruzamentos dentro do grupo de progênies RT, a exceção foi no ambiente 2 (Amb 2) baixo N (Tabela 8). A menor variação da porcentagem da heterose foi observada nos híbridos provenientes dos cruzamentos dentro do grupo de progênies R_nT_n . No geral, o nível alto N nos dois ambientes apresentou maiores porcentagens da heterose do que o nível baixo N, o que demonstra mais uma vez que a falta de um nutriente não deixa que os genótipos expressem toda sua potencialidade.

Para melhor visualizar e caracterizar o comportamento dos grupos de híbridos entre as progênies selecionadas foram calculados, com as médias de cada híbrido nos dois níveis de nitrogênio, dois índices de seleção relacionados com a tolerância a falta de N (IT) (FISCHER; MAURER, 1978) e também com a eficiência agrônômica a aplicação de N (EA) (THUNG, 1990) (Tabela 9). Considerando que se deseja uma informação mais generalizada, foi estimado o índice de resposta médio e tabulado a variação máxima e mínima. Observa-se que o grupo de híbridos que apresentou maior eficiência agrônômica (EA), ou seja, maior produtividade por quilograma de nitrogênio aplicado, foi o grupo do cruzamento entre progênies R_nT_n , e a menor eficiência agrônômica foi o grupo entre progênies RT, sendo o ambiente 1 (Amb 1) apresentou os maiores índices em comparação com o ambiente 2 (Amb 2).

No entanto, os índices de eficiência agrônômica (gramas de grãos/gramas de N aplicado), não indicam a tolerância do genótipo à falta de

N. Desta forma, basta que um genótipo seja mais produtivo que outro na média de ambas as condições para ser indicado como mais eficiente, pois se já produziu mais, o fato de dividir esta produção pela mesma quantidade de N, aplicado em todos os genótipos, não irá alterar a aparente superioridade. Esta superioridade pode não ser relacionada ao melhor uso do N, como estaria sugerindo este índice, mas pode estar relacionada a outra qualidade. Por esse motivo, Santos et al. (1998) definiram o genótipo tolerante como o que teve menor perda de produção quando da passagem de um ambiente fértil para um deficiente em N. Nesse contexto, para evitar a obtenção de genótipos adaptados para condições específicas, o índice de tolerância sugerido por Fischer e Maurer (1978) é a melhor opção. Um valor alto deste índice indica relativa tolerância à deficiência de N, e valor reduzido indica relativa sensibilidade. Observa-se que os maiores valores foram para os híbridos do grupo de cruzamento entre progênies RT, e os menores valores foram para os híbridos do grupo de cruzamento entre progênies R_nT_n .

Esses resultados mostram comportamentos diferenciados entre os dois índices de seleção, o que dificulta definir qual melhor grupo de híbrido a ser selecionado. O ideal é que o híbrido apresente alta responsividade ao N aplicado, mas acima de tudo, ser o bastante tolerante a falta de N. No entanto, estes dois índices são excludentes, uma vez que para ter um híbrido com alta responsividade, ele tem que ter uma maior diferença de comportamento entre os dois níveis de N, sendo assim, é impossível que seja tolerante a falta de N, pois esse índice contempla genótipos que possui menor diferença de comportamento entre os dois níveis de N.

Tabela 8 Valores mínimos e máximos da heterose em porcentagem dos híbridos sintetizados entre as progênies responsivas e tolerantes (RT), dos híbridos entre responsivas e tolerantes com não responsivas e não tolerantes (RT x R_nT_n) e dos híbridos entre não responsivas e não tolerantes (R_nT_n).

Ambientes	Variação média da heterose em porcentagem		
	RT	RT x R _n T _n	R _n T _n
Amb 1 Alto N	47 - 125	80 - 221	92 - 198
Amb 1 Baixo N	38 - 124	52 - 212	96 - 190
Amb 2 Alto N	58 - 170	54 - 298	121 - 216
Amb 2 Baixo N	35 - 186	36 - 189	13 - 96
Conjunta Alto N	52 - 132	68 - 219	122 - 192
Conjunta Baixo N	44 - 147	48 - 153	52 - 111
Conjunta Geral	48 - 131	72 - 173	99 - 144

Tabela 9 Valores mínimos e máximos dos índices seleção de tolerância (IT) e de eficiência agronômica (EA) dos híbridos sintetizados entre as progênies responsivas e tolerantes (RT), dos híbridos entre responsivas e tolerantes com não responsivas e não tolerantes (RT x R_nT_n) e dos híbridos entre não responsivas e não tolerantes (R_nT_n).

Ambientes	Variação média dos índices de Seleção					
	RT		RT x R _n T _n		R _n T _n	
	IT	EA	IT	EA	IT	EA
Amb 1	0,66 - 1,03	2,32 - 17	0,67 - 1,17	0,36 - 33	0,76 - 1,03	8,25 - 34
Amb 2	0,7 - 1,38	(-22) - 12,18	0,7 - 1,12	(-10,21) - 16,19	0,51 - 0,92	(-0,52) - 29,51
Conjunta	0,69 - 0,94	4,72 - 11,94	0,55 - 0,89	(-1,51) - 21,99	0,55 - 0,79	5,31 - 23,63

A preocupação atual é diminuir a quantidade de N aplicado no ambiente, por isso o índice mais interessante para seleção de genótipos é o de tolerância (IT) sendo eficiente quando associado com alta porcentagem produtividade de grãos. De acordo com Rosielle e Hamblin (1981) a situação mais favorável é quando a tolerância e a produtividade de grãos são positivamente correlacionadas, e isto deve ocorrer quando a variância genética é alta no ambiente estressado.

4.4 Estimativas de efeitos gênicos quanto ao uso de nitrogênio

Os estudos da natureza e magnitude dos efeitos gênicos que controlam um dado caráter são de grande importância nos processos de seleção e predição do comportamento de híbridos e gerações segregantes. Estes estudos se baseiam na avaliação fenotípica de um dado caráter em múltiplos ambientes, seguida de análises genéticas/estatísticas as quais são utilizadas para estimar parâmetros que definem o tipo de efeitos gênicos envolvidos na expressão do caráter.

O grande interesse do melhorista de plantas na estimação de efeitos gênicos que controlam um caráter é utilizar métodos de seleção mais adequados para explorar favoravelmente os tipos predominantes de efeitos gênicos identificados (FALCONER; MACKAY, 1996). Em milho, diversos estudos mostram que efeitos de dominância contribuem significativamente para a expressão de caracteres como produção de grãos (GAMBLE 1962; MORENO-GONZALES; DUDLEY, 1981; CARLBORG; HALEY, 2004; HALLAUER, 2007), e ainda detectaram contribuição significativa de epistasia digênica na expressão destes caracteres em combinações específicas.

Uma análise crítica baseada nos dados de herança é necessária para verificar possíveis estratégias de melhoramento que seriam mais adequadas em um programa de seleção visando o desenvolvimento de híbridos de milho eficientes e responsivos ao N. Por exemplo, caracteres com herança

predominantemente aditiva poderiam ser avaliados em progênies endogâmicas ($S_3 - S_4$), ou em linhagens avaliadas “*per se*”. Já aqueles caracteres onde os efeitos não aditivos (dominância e/ou epistasia) são muito mais importantes que os efeitos aditivos, deveriam ser preferencialmente avaliados em cruzamentos (“*topcrosses*”, dialelos, seleção recorrente interpopulacional, etc.). Por fim, caracteres com importância semelhante de efeitos aditivos e não aditivos poderiam ser avaliados tanto em cruzamentos, quanto em avaliação “*per se*” de progênies menos endogâmicas ($S_1 - S_2$).

A investigação do tipo de herança dentro de cada grupo de ambiente (alto e baixo N) permite então verificar quais estratégias de seleção seriam mais adequadas em cada um destes ambientes. Além disso, o estudo da herança de um caráter entre os grupos de cruzamentos classificados como eficientes ou ineficientes ao N utilizados neste estudo, pode sugerir a existência de alguma tendência do tipo predominante de ação gênica atuando sobre a média de um dado caráter variar entre genótipos eficientes ou ineficientes ao N.

Neste trabalho, como foi focada a variável produtividade de grãos, realizou-se dois tipos de análises: uma com enfoque univariada, considerando apenas esse caráter de maneira isolada; e outra com enfoque multivariado, considerando os componentes secundários (comprimento de espiga, diâmetro de espiga, diâmetro de sabugo e tamanho de grão) de forma conjunta para interpretar a variável produtividade de grãos, no intuito de verificar qual das duas abordagens geram melhores estimativas das capacidades gerais e específicas de combinação. Os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) são relativos aos efeitos aditivos (ou à frequência de alelos favoráveis nos locos gênicos importantes para o caráter) e os efeitos de capacidade específica de combinação (CEC) são referentes aos efeitos gênicos não aditivos (dominância e/ou epistasia – ou efeitos de complementação intra e intergênica).

Observa-se que a análise multivariada apresentou menor erro quadrático médio do que a análise univariada, sendo assim apresentou uma

maior precisão nas estimativas da capacidade geral de combinação (Tabela 11). Ao realizar um estudo estatístico quer seja univariado ou multivariado sempre existirá a perda de informação, pois no momento que se está reduzindo um conjunto de dados para ser representado pela sua média, no caso univariado, se perde informação. O mesmo ocorre quando se aplica uma técnica multivariada, pois ao reduzir a dimensionalidade de um problema também se perde informação. Então fica a critério do pesquisador decidir qual estratégia usar em cada caso.

Neste estudo, houve pequenas diferenças nas magnitudes das CGC entre as duas análises, sendo que apenas duas estimativas apresentaram diferenças maiores, do genitor 1 e 5 (G1 e G5) no ambiente 1 baixo N (Tabela 10). Esta semelhança nas estimativas entre as duas abordagens provavelmente deva ser devido a boa precisão experimental e, conseqüentemente, altas estimativas da herdabilidade.

Observa-se que dos seis genitores selecionados como RT (G1 a G6), apenas um apresentou comportamento previsível quanto a capacidade geral de combinação (G3), com todas as estimativas positivas tanto no alto quanto no baixo N (Tabela 10). Dois apresentaram todas as estimativas da CGC negativas (G1 e G6) e três apresentaram comportamento imprevisível (G2, G4 e G5), ora apresentando estimativas da CGC positivas em determinado nível e ambiente, ora apresentando estimativas negativas em mesmo nível, porém, em ambiente diferente. Já entre os cinco genitores selecionados como R_nT_n (G7 a G11), três apresentaram comportamento previsível, com todas as estimativas da CGC negativas, e apenas dois apresentaram comportamento inesperado, com todas as estimativas da CGC positivas e de maiores magnitudes (Tabela 10).

Tabela 10 Estimativas *BLUPs empírica* das capacidades gerais de combinação (CGC) na abordagem univariada e multivariada do caráter produtividade de grãos ($t\ ha^{-1}$) avaliado nos híbridos sintetizados entre os 11 genitores.

Progênie	CGC							
	Amb 1 Alto N		Amb 1 Baixo N		Amb 2 Alto N		Amb 2 Baixo N	
	Univariada	Multivariada	Univariada	Multivariada	Univariada	Multivariada	Univariada	Multivariada
G1	-0,3364	-0,3263	-0,1431	-0,3132	-0,7068	-0,6931	-0,3082	-0,2908
G2	-0,1758	-0,1800	0,0295	0,0169	0,1235	0,1233	-0,1232	-0,1220
G3	0,0548	0,0546	0,1671	0,1325	0,1703	0,1655	0,4317	0,4225
G4	0,0905	0,0887	0,0335	0,0124	-0,3173	-0,3206	0,0795	0,0812
G5	-0,0117	-0,0159	-0,1523	-0,0046	-0,2911	-0,2799	0,1608	0,1633
G6	-0,5829	-0,5800	-0,1520	-0,1290	-0,1693	-0,1665	-0,5136	-0,5117
G7	-0,2789	-0,2708	-0,5553	-0,5621	-0,0238	-0,0201	-0,1182	-0,1146
G8	-0,0497	-0,0438	-0,2478	-0,2481	-0,1792	-0,1761	-0,4435	-0,4541
G9	0,8006	0,8037	0,2987	0,3049	1,1702	1,1668	0,9185	0,9304
G10	-0,3165	-0,3145	-0,1357	-0,1306	-0,3443	-0,3441	-0,2740	-0,2654
G11	0,8061	0,7843	0,8574	0,8247	0,5677	0,5449	0,1902	0,1614

Para melhor visualizar o comportamento dos genitores quanto a capacidade geral de combinação nos diferentes ambientes e níveis, foi utilizado os recursos gráficos pela metodologia GGE biplot (YAN et al., 2000), bastante empregada em estudos de adaptabilidade e estabilidade (Figura 3 e 4).

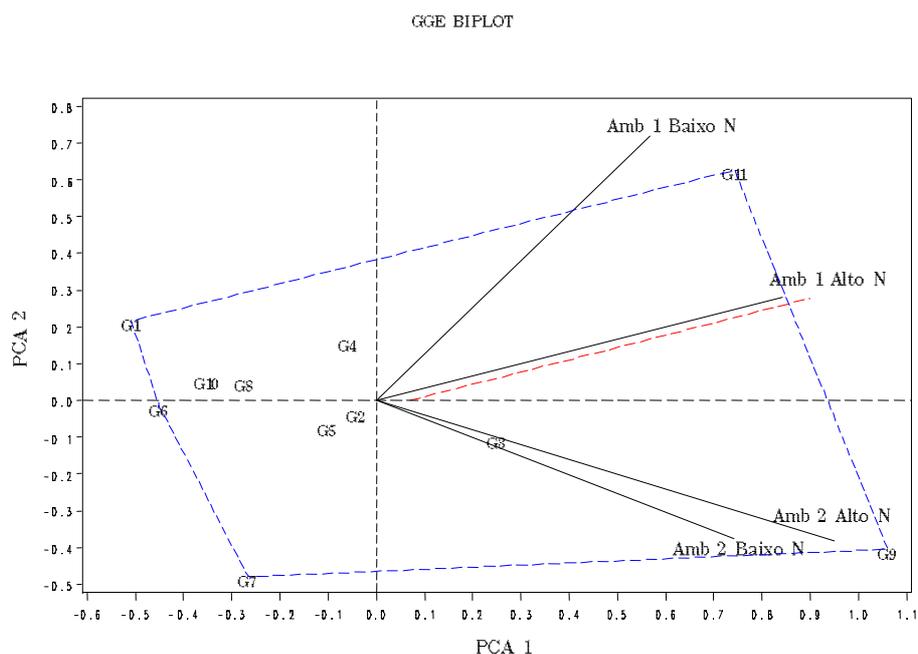


Figura 3 Biplot GGE da análise univariada com os dois primeiros componentes principais de CGC e CGC x Amb (PCA1 e PCA2), correspondente à representação dos onze genitores (G n°) em dois ambientes e em dois níveis de nitrogênio.

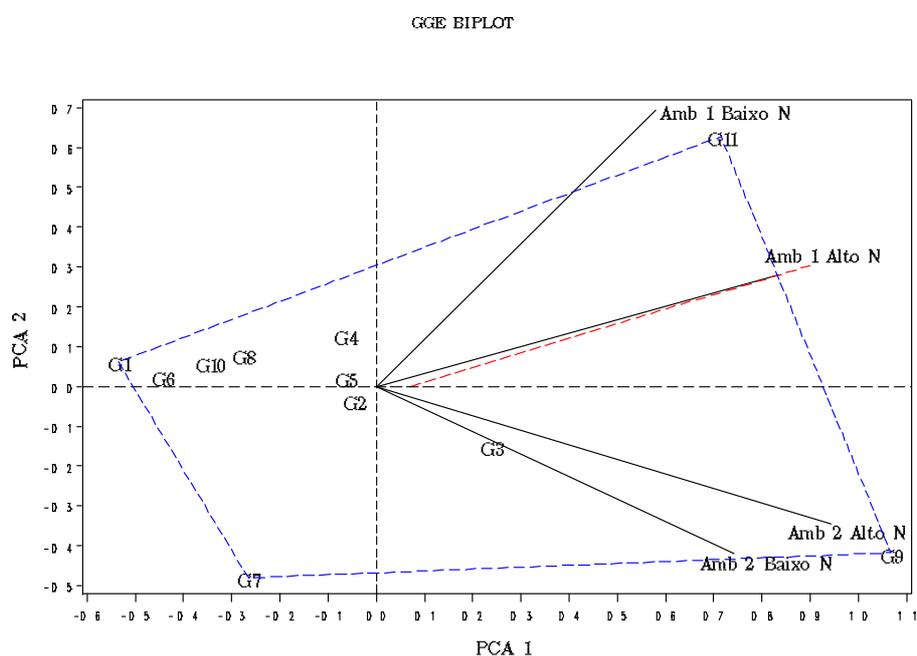


Figura 4 Biplot GGE da análise multivariada com os dois primeiros componentes principais de CGC e CGCxAmb (PCA1 e PCA2), correspondente à representação dos onze genitores (G nº) em dois ambientes e em dois níveis de nitrogênio.

Observa-se pela estrutura dos dois gráficos que realmente não houve considerável mudança entre as análises univariada e multivariada (Figuras 3 e 4). Houve uma clara diferenciação entre os dois ambientes (Amb 1 alto e baixo N; Amb 2 alto e baixo N) que foram separados em dois mega-ambientes pela linha vermelha tracejada. Observa-se também uma diferenciação nos níveis de N aplicado, sendo que o nível alto N nos dois ambientes (Amb 1 e Amb 2) apresentou menor escore do segundo componente principal (PCA2) em relação ao nível baixo N nos dois ambientes, indicando que nesse nível em média, as capacidades gerais de combinação foram de maiores magnitudes. No entanto, os dois ambientes e os dois níveis apresentaram escore positivo para o primeiro componente principal (PCA1) o que mostra alta capacidade de discriminar os genótipos quanto a capacidade geral de combinação. E outra vez o nível alto N nos dois ambientes apresentou melhores condições do que o nível baixo N.

Na interpretação para o desempenho dos genótipos, o primeiro componente principal (PCA1) está relacionado a adaptabilidade, ou seja, indica os genótipos com alta capacidade geral de combinação. Nesse sentido, pode-se observar que o genitor 9 (G9) foi o mais adaptado aos ambientes de avaliação seguido dos genitores 11 e 3, apresentando em média as maiores capacidades gerais de combinação (Figuras 3 e 4). O segundo componente principal (PCA2) indica a estabilidade, ou seja, está diretamente relacionada com a interação das capacidades gerais de combinação com ambientes, e os genótipos com PCA2 mais próximos de zero seriam os genótipos mais estáveis quanto a capacidade geral de combinação (YAN et al. 2000). Assim, em ordem decrescente de estabilidade, os genitores 6, 5 e 2 apresentaram as maiores estabilidades da CGC, porém com sinais negativo (Figuras 3 e 4). Já o genitor 3 apresenta uma boa estabilidade da CGC, pois está próximo de zero no PCA 2, além de sinal apresentar sinal positivo para o PCA 1, que o qualifica como um genótipo promissor.

Analisando os dois componentes do gráfico conjuntamente, pode-se inferir que o melhor genótipo considerando a adaptabilidade e estabilidade da capacidade geral de combinação, foi o genitor 9, apesar de sua estabilidade ter sido melhor apenas no ambiente 2 alto e baixo N, apresentou uma alta média para os efeitos da capacidade geral de combinação. Observa-se que o genitor 11 teve melhor desempenho no ambiente 1 alto e baixo N, e os genitores 3 e 9 tiveram melhores desempenho no ambiente 2 alto e baixo N.

A variação média das CECs tiveram pequenas diferenças entre as duas análises univariada e multivariada, no entanto, os híbridos entre o grupo de progênies responsivas e tolerantes com não responsivas e não tolerantes ($RT \times R_n T_n$) apresentaram maior variação e magnitude da CEC, mostrando mais uma vez uma provável relação de sobredominância e que a melhor estratégia para desenvolvimento de híbridos produtivos em alto e baixo N é incluir no cruzamento pelo menos um genótipo responsivo e tolerante a deficiência de N (Tabela 11). Segundo Cruz e Regazzi (2001), o cruzamento

mais promissor é aquele que a combinação híbrida apresenta estimativa alta e positiva para CEC e com pelo menos um genitor com estimativa alta e positiva para CGC. Nesse caso, o híbrido entre o genitor 4 (responsivo e tolerante) e 11 (não responsivo e não tolerante) (tratamento 38, Figura 2) é composto por alta estimativa de CEC (0,887) e tem pelo menos um genitor com alta capacidade geral de combinação ($G_{11} = 0,5$). Esse híbrido apresentou desempenho muito bom, com média acima de 12000 kg ha⁻¹ no nível alto N e acima de 9000 kg ha⁻¹ no nível baixo N, superior até mesmo as testemunhas, que apresentaram produtividade média de 10000 kg ha⁻¹ (dados não apresentados).

Analisando as magnitudes das variâncias da capacidade geral e específica de combinação (Tabela 11), observa-se que os efeitos da CEC foram maiores do que da CGC, sendo que a relação (CGC/CEC) foi de 0,54, indicando que os efeitos gênicos não aditivos apresentaram maiores importâncias do que os efeitos gênicos aditivos. A interação CGC x Amb teve alta magnitude, indicando que as quantidades de alelos favoráveis, doados pelos genitores, são alteradas entre os ambientes e níveis de N, de modo que genitores que promovam aumentos nas médias de seus híbridos avaliados em um determinado ambiente e nível de N podem não ser vantajosos quando os híbridos são avaliados em outro ambiente e nível de N. Isto implica que ocorre baixa precisão na predição do comportamento dos híbridos. No entanto, a magnitude da interação CEC x Amb foi baixa, isso mostra que em média as complementações gênicas não apresentaram diferenças na expressão de heterose dos híbridos em ambientes e níveis distintos (Tabela 11).

Tabela 11 Estimativas *BLUPs empírica* das variâncias da CGC, CEC e de suas interações (CGC x Amb, CEC x Amb), variação média dos valores e mínimos da capacidade específica de combinação (CEC), erro quadrático médio das análises, na abordagem univariada e multivariada do caráter produtividade de grãos ($t\ ha^{-1}$) avaliado nos híbridos sintetizados entre as 11 progênes.

Varição média da CEC						
	[‡]RT		RT x R_nT_n		R_nT_n	
	Univariada	Multivariada	Univariada	Multivariada	Univariada	Multivariada
Conjunta	(-0,629); 0,609	(-0,644); 0,622	(-0,643); 0,865	(-0,647); 0,887	(-0,360); 0,536	(-0,323); 0,528
Variâncias						
CGC	CEC		CGC x Amb		CEC x Amb	
0,1702	0,3171		0,1080		0,0072	
Erro Quadrático médio						
	Univariada			Multivariada		
	0,2616			0,0663		

[‡](RT) Híbridos sintetizados entre as progênes responsivas e tolerantes, (RT x R_nT_n) híbridos entre responsivas e tolerantes com não responsivas e não tolerantes, (R_nT_n) híbridos entre não responsivas e não tolerantes

Vale ressaltar que neste conjunto gênico os genitores estão na geração $S_{0.1}$, que ainda tem poucos locos fixados. Pacheco (1997) observou que os efeitos gênicos não aditivos, relativos à dominância e à epistasia, foram mais determinantes que os efeitos gênicos aditivos para desviar a tendência de adaptabilidade geral e provocar comportamentos menos previsíveis nas progênies híbridas. Resultados diferentes foram encontrados por Médici (2005) e Guimarães (2006), que evidenciaram, para os ambientes com alta disponibilidade de N, que os efeitos genéticos aditivos apresentaram-se ligeiramente mais importantes que os efeitos genéticos não aditivos e, para ambientes com baixa disponibilidade de N, os efeitos genéticos aditivos e não aditivos apresentaram importâncias similares.

5 CONCLUSÕES

A seleção precoce pelo desempenho em *topcross* é mais eficiente para excluir genótipos inferiores quanto ao uso de nitrogênio.

O controle genético para responsividade e tolerância ao nitrogênio possuem alelos em comuns.

Estimativas das variâncias genéticas são maiores em ambientes com disponibilidade de nitrogênio.

Os melhores híbridos são oriundos de genitores contrastantes quanto ao uso de nitrogênio.

A capacidade geral de combinação para eficiência e tolerância ao nitrogênio é muito influenciada pelo ambiente.

Os efeitos gênicos não aditivos apresentam maiores importâncias do que os efeitos gênicos aditivos.

A análise multivariada apresenta estimativas com menor erro associado do que a análise univariada.

REFERÊNCIAS

- AGRAMA, H. A. S. Identification of quantitative trait loci for nitrogen use efficiency in maize. **Molecular breeding**, Netherlands v.5, p.187-195, May. 1999.
- BALKO, L. G.; RUSSEL, W. A. Response of maize inbred lines to N fertilizer. **Agronomy Journal**, Madison, v.72, n.5, p.723-728, Oct. 1980.
- BÄNZIGER, M.; LAFITTE, H. R. Efficiency of high-nitrogen selection environments for improving maize for low-nitrogen target environments. **Crop Science**, Madson, v.37, n.4, p.1103-1109, Jan. 1997.
- BARBOSA, M. H. P.; PINTO, C. A. B. P. Análise dialélica parcial entre cultivares de batatas nacionais e introduzidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, p.307-320, jun./jul. 1998.
- BASTOS, I. T.; BARBOSA, M. H. P.; CRUZ, C. D.; BURNQUIST, W. L.; BRESSIANI, J. A.; SILVA, F. L. da. Análise dialélica em clones de cana-de-açúcar. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 199-206, abr./jun. 2003.
- BECKER, T. W.; CARRAYOL, E.; HIREL, B. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase isoforms in maize leaves: localization, relative proportion and their role in ammonium assimilation or nitrogen transport. **Planta**, Freiburg, v. 211: p. 800 - 806, Oct. 2000.
- BENNETT, M. J.; CULLIMORE, J. V. Glutamine-synthetase isoformes of *Phaseolus vulgaris* L. subunit composition in developing root nodules and plumules. **Planta**, Freiburg, v. 179, n. 4, p. 433 - 440, Nov. 1989.
- BERNARDO, R. Correlation between tests cross performance of lines at early and last selfing generation. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 82, p.17-21, Jan.1991.
- BLAIR, G. J. Nutrient efficiency: what to we really mean. In: RANDALL, P. J.; DELHAIZE, E.; RICHARD, R. A.; MUNNS, R. **Genetic aspects of plant mineral nutrition**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1993, p. 205 - 213.
- BLAIR, G. J.; CORDERO, S. The phosphorus efficiency of three annual legumes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 50, n. 2, p. 387-398, Dec. 1978.
- CANTARELLA, H. Calagem e adubação do milho. In: BULL, L; T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho: fatores que afetam a produção. POTAFÓS - Associação brasileira para pesquisa da potassa e do fosfato**. Piracicaba, 1992. p. 147-196.

CARLBORG, O.; HALEY, C.S. Epistasis: too often neglected in complex trait studies? **Nature Reviews Genetics**, London, v. 5, p. 618–624, Apr. 2004.

CECCARELLI, S. Adaptation to low/high input cultivation. **Euphytica**, Dordrecht, v.92, p. 203-214, May 1996.

CIMILHO. **Área Plantada com Milho por Estado. Segunda Safra/Safrinha (1.000 ha). 2003-2010**. Disponível em: <<http://cimilho.cnpms.embrapa.br>>. Acesso em: 20 jan. 2012.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Projeção safra brasileira de milho 2008/09**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 20 mar. 2010.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. v. 1, Viçosa, MG: UFV, 2001. 390 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. v. 2, Viçosa, MG: UFV, 2004. 585p.

CULLIMORE, J.V.; GEBHART, C., SAARELAINEN, R., IDLER, K.B., BARKER, R.F. Glutamina synthetase of *Phaseolus vulgaris* L.: organ-specific expression of a multigene family. **Journal of Molecular and Applied Genetics**, New York, v. 2, p. 589 - 599, Mar. 1984.

DANGL, J. L.; DIETRICH, R. A.; THOMAS H. Senescence and programmed cell death. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**, Rockville, 2000, p.1044-1100.

DAVIS, R. L. Report of the plant breeder. **Puerto Rico Agricultural Experimental Station Annual Reporter**, Puerto Rico, p.14-15, Jul. 1924.

DAWSON, J. C.; MURPHY, K. M.; JONES, S. S. Decentralized selection and participatory approaches in plant breeding for low-input systems. **Euphytica**, Dordrecht, v. 160, n. 2, p. 143-154, Mar. 2008.

DECHEN, A. R.; FURLANI, A. M. C.; FURLANI, P. R. Tolerância e adaptação de plantas aos estresses nutricionais. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G. **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras: UFLA/DCS, 1999. p. 183-204.

DUVICK, D. N. Genetic Contributions to Yield Gains of U.S. Hybrid Maize, 1930 to 1980. In: FEHR, W. R. **Genetic Contributions to Yield Gains of Five Major Crop Plants**. Madison: CSSA Special Publication. Crop Science Society of America, 1984, p. 15-47.

EDWARDS, J. W.; CORUZZI, G. M. Photorespiration and light act in concert to regulate the expression of the nuclear gene for chloroplast glutamine synthetase. **Plant Cell**. Waterbury, v.1, p. 41- 48, Sept. 1989.

EDWARDS, J. W.; WALKER, E. L.; CORUZZI, G. M. Cell-specific expression in transgenic plants reveals nonoverlapping roles for chloroplast and cytosolic glutamine synthetase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**. Washington, v. 87, p.3459- 34563, Dec. 1990.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CNPS, 1997, 212 p.

FAGERIA, N. K.; BARBOSA FILHO, M. P. Avaliação preliminar de cultivares de arroz irrigado para maior eficiência de utilização de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 12, p. 1709-1712, nov./dez. 1982.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Essex: Longman, 1996. 464p

FANCELLI, A. L. **Ecofisiologia e fenologia**. (CAD - Cursos de Atualização à Distância. Tecnologia da produção de milho. Modulo1. Piracicaba: Aldeia Norte, 2002. 51 p.

FERNANDES, F. C. S.; BUZETTI, S.; ARF, O.; ANDRADE, J. A. C. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 2, p. 195 - 204, abr. 2005.

FIDELIS, R. R.; MIRANDA, G. V.; SANTOS, I. C. dos; GALVÃO, J. C. C.; PELUZIO, J. M.; LIMA, S. O. Fontes de germoplasma de milho para estresse de baixo nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 147-153, jul./set. 2007.

FISCHER, R. A.; MAURER, R. Drought resistance in spring wheat cultivars: I, grain yield responses. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 29, n. 5, p. 897 - 912, Sept. 1978.

GAMBLE, E. E. Gene effects in corn (*Zea mays*, L.): Separation and relative importance of gene effects for yield. **Canadian Journal Plant Science**, Ottawa, v. 42, p. 339-348, Apr. 1962.

GAMBOA, J.; PEREZ, G.; BLASCO, M. Um modelo para descrever los procesos de retención y lixiviación em los suelos. **Turrialba**, Cononado, v. 21, n. 3, p. 312-316, Set. 1971.

GARDNER, C. O.; EBERHART, S. A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related population. **Biometrics**, Alexandria, v. 22, n. 3, p. 439 - 452, Sept. 1966.

GHOSH, D. K.; BISWAS, P. C. Complete diallel crosses plans through balanced incomplete block designs. **Journal of Applied Statistics**, Hants, v. 30, n. 6, p. 697 -708, Jul. 2003.

GOUIS, J. L.; PLUCHARD, P. Genetic variation for nitrogen use efficiency in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Euphytica**, Wageningen, v.92, p. 221 - 224, Oct. 1996.

GOURLEY, C. J. P; ALLAN, D. L.; RUSSELLE, M. P. Defining phosphorus efficiency in plants. **Plant and Soil**, Hague, v. 156, p. 289 - 292, Sept. 1993.

GRIFFING, B. A. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 9, n. 6, p. 463 - 493, Jun. 1956.

GUEDES, F. L.; SOUZA, J. C.; COSTA, E. F. N.; REIS, M. C.; CARDOSO, G. A.; EMATNE, H. J. Avaliação de top crosses de milho em duas doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras v. 35, p. 1115-1121, nov/dez. 2011.

GUIMARÃES, L. J. M. **Caracterização de genótipos de milho desenvolvidos sob estresse de nitrogênio e herança da eficiência de uso deste nutriente**. 2006. 110 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

HALLAUER, A.R. History, contribution, and future of quantitative genetics in plant breeding: lessons from maize. **Crop Science**, Madison, v.47, p. 4–19, Jan. 2007.

HAYMAN, B. I. The theory and analysis of diallel crosses. **Genetics**, Baltimore, v. 39, n. 6, p. 789 - 809, Jun. 1954.

HENDERSON, C. R.; QUAAS, R. L. Multiple trait evaluation using relatives records. **Journal of Animal Science**, v. 43, p. 1188–1197, Mar. 1976.

HIREL, B.; BERTIN, P.; QUILLERÉ, I.; BOURDONCLE, W.; ATTAGNANT, C.; DELLAY, C.; GOUY, A.; CADIOU, S.; RETAILLIAU, C.; FALQUE, M.; GALLAIS, A. Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. **Plant Physiology**, Waterbury, v.125, n.3, p.1258 - 1270, Nov. 2001.

HIREL, B.; GOUIS, J. L.; NEY, B.; GALLAIS, A. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n. 9, p. 2369 - 2387, Sept. 2007.

JARAMILLO, G.; MORANTE, N.; PÉREZ, J. C.; CALLE, F.; CEBALLOS, H.; ARIAS, B.; BELLOTTI, A. C. Diallel analysis in cassava adapted to the midaltitude valleys environment. **Crop Science**, Madison, v.45, p.1058-1063, Feb. 2005.

KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, Madison, v. 25, n. 1, p. 192-194, Jan./Feb. 1985.

LAFITTE, H. R.; EDMÉADES, G. O. Association between traits in tropical maize inbred lines and their hybrid under high and low soil nitrogen. **Maydica**, Bergamo, v. 40, p. 259 - 267, Aug. 1995.

LAFITTE, H. R.; EDMÉADES, G. O. Improvement for tolerance to low nitrogen in tropical maize II. Grain yield, biomass production, and N accumulation. **Field Crops Research**, Netherlands, v. 39, n.1, p.15-25, Apr. 1994.

LAFITTE, H. R.; EDMÉADES, G. O.; TABA, S. Adaptive strategies identified among tropical maize landraces for nitrogen-limited environments. **Field Crops Research**, Netherlands, v.49, n.2-3, p.187-204, Jun. 1997.

LAL, R. Agronomic Consequences of Soil Erosion. In: VRIRES, F. W. T.; AGUS, F.; KERR, E. J. **Soil Erosion at Multiple Scales – Principles and Methods for Assessing Causes and Impacts**. Wallingford: Cabi Publishing, 1998, p. 149 - 160.

LAM, H. M.; COSCHIGANO, K. T.; OLIVIEIRA, I. C.; MELO-OLIVEIRA, R.; CORUZZI, G. M. The molecular genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. **Annual Review of Plant**

Physiology and Plant Molecular Biology. Palo Alto, v. 47, p. 569 - 593, Dec. 1996.

LEDO, C. A. S.; FERREIRA, D. F.; RAMALHO, M. A. P. Análise de variância multivariada para os cruzamentos dialélicos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, p.1214-1221, fev. 2003.

LORENCETTI, C.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; VALÉRIO, I. P.; HARTWIG, I.; MARCHIORO, V. S.; VIEIRA, E. A. Retrocruzamento como uma estratégia de identificar genótipos e desenvolver populações segregantes promissoras em aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, p.1118-1125, ago. 2006.

MACHADO, A. T. **Perspectiva do melhoramento genético em milho (*Zea mays* L.) visando eficiência na utilização do nitrogênio**. 1997. 96 p. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

MACHADO, J. C.; SOUZA, J. C. de ; RAMALHO, M. A. P.; LIMA, J. L. Estabilidade de produção de híbridos simples e duplos de milho oriundos de um mesmo conjunto gênico. **Bragantia**, São Paulo, v. 67, p. 627-631, mar. 2008.

MACHADO, A. T.; PEREIRA, M. B.; PEREIRA, M. E.; MACHADO, C. T. T.; MEDICI, L. O. Avaliação de variedades locais e melhoradas de milho em diversas regiões do Brasil. In: SOARES, A. C.; MACHADO, A. T.; SILVA, B. M.; VON DER WEID, J. M. (Org.). **Milho crioulo: conservação e uso da biodiversidade**. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1998. cap. 4, p.93 - 106.

MAGALHÃES, J. R.; MACHADO, A. T. Biochemical pramerers selecting maize for nitrogen assimilation efficiency under stress conditions. In: MACHADO, A.T.; MAGNAVACA, R.; PANDEY, S.; SILVA, A. F. **Anais do Simpósio Internacional sobre Estresse Ambiental: o milho em perspectiva** &, eds.). Belo Horizonte, p. 346 - 367. 1995.

MAJEROWICZ, N.; PEREIRA, J. M. S.; MEDICI, L. O.; BISON, O.; PEREIRA, M. B.; SANTOS JÚNIOR, U. M. Estudo da eficiência de uso do nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 129-136, abr./jun. 2002.

MANSKE, G. G. B.; ORTIZ-MONASTERIO, J. I.; VLEK, P. L. G. Techniques for measuring genetic diversity in Roots. In: REYNOLDS, M. P.; ORTIZ-MONASTERIO, J. I.; MCNAB, A. **Application of physiology in wheat breeding**. México: CIMMYT, 2001. 240 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. San Diego: Academic, 1995. 889 p.

- MEDICI, L. O.; PEREIRA, M. B.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. de. Identification of maize lines with contrasting responses to applied nitrogen. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 28, n. 5, p. 903-915, May 2005.
- MOLL, R. H.; KAMPRATH, E. J.; JACKSON, W. A. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, n. 3, p. 562-64, Jun. 1982.
- MORENO-GONZALES, J.; DUDLEY, J. W. Epistasis in related and unrelated maize hybrids determined by three methods. **Crop Science**, Madison, v. 121, p. 644 - 651, Oct. 1981.
- OAKS, A.; HIREL, B. Nitrogen metabolism in roots. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.36, p.345-365, Jan.1985.
- PACHECO, C.A.P. **Associação das metodologias de análise dialélica de Griffing e de análise de adaptabilidade e de estabilidade de Eberhart e Russell**. 1997, 102 p. Tese de Doutorado, UFV, Viçosa, MG.
- PIMENTEL-GOMEZ, F. **Curso de Estatística Experimental**. 14 ed. Piracicaba: Nobel, 2000. 477 p.
- POLLMER, E. G; EBERHARD, D.; KLEIN, D.; Genetic Control of nitrogen uptake and translocation in maize. **Crop Science**, Madison, v. 19, n. 1, p. 83 - 86, Apr. 1979.
- PRESTERL, T. Improvement nitrogen-use efficiency in European maize: Estimation of quantitative genetic parameters. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 4, p. 1259 - 1265, Jan. 2003.
- RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 326p.
- RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 359p.
- RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.37, n.3, p.182-194, abr./jun. 2007.
- RODRIGUES, M. C.; CHAVES, L. J.; PACHECO, C. A. P. Heterosis in crosses among white grain maize populations with high quality protein. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, p.59-66, Ago. 2006.

ROSIELLE, A. A.; HAMBLIN, J. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. **Crop Science**, Madison, v. 21, n. 6, p. 943 - 946, Dec.1981.

ROSINHA, R. O. **Estratégias competitivas e reestruturação da indústria de sementes no Brasil: a análise do segmento do milho**. 2000. 134 p. Dissertação (Mestrado em Mercadologia e Administração Estratégica). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte

SANTOS, M. X. dos; GUIMARÃES, P. E. O.; PACHECO, C. A. P. Melhoramento intrapopulacional no sintético elite NT para solos pobres em nitrogênio. I. Parâmetros genéticos de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 55 -61, jan. 1998.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT Use's guide**. Cary, N.C.: SAS Institute, 2000. 584 p.

SCHMILDT, E. R.; CRUZ, C. D.; ZANUNCIO, J. C.; PEREIRA, P. R. G.; FERRÃO, R. G. Avaliação de métodos de correção do estande para estimar a produtividade em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 8, p. 1011-1018, Ago. 2001.

SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 4, n. 3, p. 289 - 302, Mar. 1981.

SINGH, S. P. Drought resistance in the race durango dry bean landraces and cultivars. **Agronomy Journal**, Madison, v. 99, n. 6, p. 1219 - 1225, Dec. 2007.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, Madison, v. 34, n. 10, p. 923 - 932, Oct. 1942.

THUNG, M. Phosphorus: a limiting nutrient in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) production in Latin America and field screening for efficiency and response. In: In: EL BASSAM, N.; DAMBROTH, M.; LOUGHMAN, B.C. (Ed.). **Genetic aspects of plant mineral nutrition**. Dordrecht: Kluwer, 1990. p. 501-521.

TINGEY, S. V.; WALKER, E. L.; CORUZZI, G. M. Glutamine synthetase genes of pea encode distinct polypeptides which are differentially expressed in leaves, roots and nodules. **EMBO Journal**. Heidelberg, v. 6, p. 1 - 9, Jan. 1987.

TORRES, R. A. A. **Estudo do controle genético da estabilidade fenotípica de cultivares de milho (*Zea mays* L.)**. Piracicaba, 1988. 133p. (Tese – Doutorado - ESALQ/USP).

TROYER, A. F.; WELLIN, E. J. Heterosis decreasing in hybrids: yield test inbreds. **Crop Science**, Madison, v. 49, p. 1969 - 1976, Nov./Dec. 2009.

TSAI, F. Y.; CORUZZI, G. M. Dark-induced and organ-specific expression of two asparagine synthetase gns in *Pisum sativum*. **EMBO Journal**. Heidelberg v. 9: p. 323 - 332, Aug. 1990.

TSAI, C. L.; HUBER, D. M.; WARREN, H. L.; TSAI, C. Y. Effects of cross-pollination dry matter accumulation, nutrient partitioning and grain yield of maize hybrids grown under different levels of fertility. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 57, n. 2, p. 163 - 174, Sept. 1991.

UDVARDI, M. K., KAHN, M. L. Isolation and analysis of a cDNA clone that encodes an alfalfa aspartate aminotransferase. **Molecular & General Genetics**. Göteborg, v. 231, p. 97 - 105, Sept. 1991.

UHART, S. A.; ANDRADE, F. H. Nitrogen deficiency in maize I: effects on crop growth, development, dry matter partitioning, and kernel set. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 5, p. 1376 - 1383, Oct. 1995.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. (Ed.). **Melhoramento e produção do milho**. 2 ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap. 5, p.137-214.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 486 p.

VENCOVSKY, R., RAMALHO, M.A.P. Contribuição do melhoramento genético de plantas no Brasil. In: PATERNIANI, E. (ed.). **Agricultura brasileira e pesquisa agropecuária**. Brasília: EMBRAPA, 2000. p. 57 - 89.

WALKER, E.L.; CORUZZI, G.M. Developmentally regulated expression of the gene family for cytosolic glutamine synthetase in *Pisum sativum*. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 91, p. 702 - 708. Nov. 1989.

YAN, W.; HUNT, L. A.; SHENG, Q.; SZLAVNICS, Z. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 3, p. 597 - 605, Jun. 2000.