

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**AVALIAÇÃO E DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE LINHAGENS  
PARCIALMENTE ENDOGÂMICAS PARA EFICIÊNCIA NO USO DE  
NITROGÊNIO EM MILHO**

ANDRÉ CARLESSO

DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL

2015

**AVALIAÇÃO E DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE LINHAGENS  
PARCIALMENTE ENDOGÂMICAS PARA EFICIÊNCIA NO USO DE  
NITROGÊNIO EM MILHO**

ANDRÉ CARLESSO

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Manoel Carlos Gonçalves

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração: Produção Vegetal.

Dourados  
Mato Grosso do Sul  
2015

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

C278d Carlesso, André.

Avaliação e divergência genética de linhagens parcialmente endogâmicas para eficiência no uso de nitrogênio em milho. / André Carlesso. – Dourados, MS : UFGD, 2015.

52f.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Carlos Gonçalves.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. *Zea mays*. 2. Parâmetros genéticos. 3. Estresse abiótico.  
4. Análise multivariada. I. Título.

CDD – 633.15

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.**

**©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.**

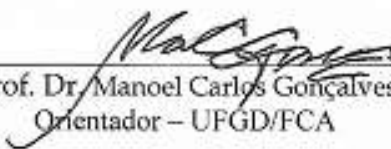
**“Avaliação e divergência genética de linhagens  
parcialmente endogâmicas para eficiência no uso  
de nitrogênio em milho”**

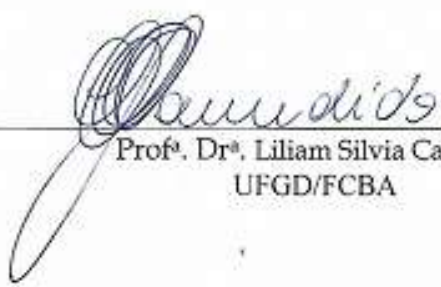
por

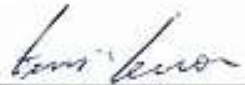
**ANDRÉ CARLESSO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título  
de MESTRE EM AGRONOMIA

Aprovada em: 19/05/2015

  
Prof. Dr. Manoel Carlos Gonçalves  
Orientador – UFGD/FCA

  
Profª. Drª. Liliam Silvia Candido  
UFGD/FCBA

  
Dr. Gessi Ceccon  
EMBRAPA

*A Deus, pela vida, saúde e sabedoria.*

*Aos meus pais, Elío e Graciema, pelo eterno incentivo*

*Aos meus irmãos, Anderson e Sinara, pela amizade e  
companheirismo.*

*A minha noiva Camila Garcia pela paciência e companheirismo.*

*Aos meus familiares e amigos, pelo reconhecimento, amizade e  
apoio.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao nosso bom Deus, por iluminar meu caminho.

A toda minha família, bem mais precioso que possuo, pelo amor e incentivo em todos os momentos de minha vida.

À Universidade Federal da Grande Dourados e em especial a Faculdade de Ciências Agrárias pela oportunidade de realização do curso de Agronomia e pela realização do curso de Mestrado em Agronomia.

Ao Prof. Dr. Manoel Carlos Gonçalves pela orientação, valiosos ensinamentos, amizade e pela sua imensa contribuição para minha formação acadêmica e profissional, ao longo desses dois anos.

Aos membros da banca Dr. Gessi Ceccon e Dra. Liliam Silvia Candido pelas correções e valiosas sugestões.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia que contribuíram para minha formação acadêmica e aperfeiçoamento profissional.

Aos amigos de Graduação e Pós-graduação Arthur Kenji Maeda, Gilmar Augusto Marques, Heverton Ponce Arantes, Matheuz Martinez, Pedro Altomar e Wesley Souza Prado pela enorme contribuição na execução do experimento, e acima de tudo pela amizade.

Aos funcionários da Universidade Federal da Grande Dourados, em especial ao Sr. Jesus, Sasá e Milton pela colaboração e amizade.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

Enfim, a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a execução deste trabalho, o meu reconhecimento e gratidão.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
<b>2.1. Aspectos gerais da cultura do milho</b> .....	3
<b>2.2. Nitrogênio no milho</b> .....	4
<b>2.3. Melhoramento genético para Eficiência no Uso do Nitrogênio</b> .....	6
<b>2.4. Parâmetros genéticos</b> .....	9
<b>2.5. Divergência genética utilizando análises multivariadas</b> .....	10
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
<b>3.1- Histórico da obtenção das linhagens</b> .....	14
<b>3.2- Caracterização dos Ambientes</b> .....	14
<b>3.3- Instalação dos ensaios e Avaliações</b> .....	15
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	19
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	34
<b>6. REFERÊNCIAS</b> .....	35

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Análise química do solo das áreas experimentais da camada 0-20 cm de profundidade.....	15
<b>Tabela 2.</b> Resumo da análise de variância conjunta para seis caracteres avaliados em 49 genótipos de milho, cultivados em baixa e alta disponibilidade de nitrogênio.....	20
<b>Tabela 3.</b> Médias obtidas em alto e baixo N, nos locais de cultivo em alto e baixo nitrogênio, para o teor de clorofila (Clor), altura de espiga (AE), altura de planta (AP), diâmetro de espiga (DE), peso de espiga (PE) e produtividade de grãos (PROD).....	22
<b>Tabela 4.</b> Médias de produtividade de grãos obtidas a partir da avaliação de linhagens parcialmente endogâmicas S3 e sete testemunhas, cultivadas em ambientes contrastantes quanto à disponibilidade de N.....	23
<b>Tabela 5.</b> Estimativas da variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_F^2$ ), da variância genotípica ( $\hat{\sigma}_G^2$ ), da herdabilidade com base na média de famílias ( $\hat{h}_x^2$ ), do coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ), coeficiente de variação ambiental ( $CV_e$ ) e do índice de variação ( $\hat{I}_v$ ) para produtividade de grãos ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) nos três locais e nos dois níveis de nitrogênio.....	26
<b>Tabela 6.</b> Contribuição relativa de cada caráter para a dissimilaridade genética ( $S_{.j}$ ) em 42 progênies de meios-irmãos de milho.....	28
<b>Tabela 7.</b> Médias das sete variáveis avaliadas em 42 linhagens parcialmente endogâmicas S3 de milho.....	29
<b>Tabela 8.</b> Agrupamento de 42 linhagens parcialmente endogâmicas S3 de milho pelo método de otimização de Tocher aplicado à matriz das distâncias generalizadas de Mahalanobis ( $D^2$ ).....	30



**LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1.** Eficiência no uso e resposta à aplicação de nitrogênio em genótipos de milho, pela metodologia de Fageria e Kluthcouski (1980). Valores de 1 a 42 são as linhagens S3 e de 43 a 49 as cultivares comerciais (testemunhas).....24
- Figura 2.** Dendrograma representativo da dissimilaridade genética entre as 42 linhagens parcialmente endogâmicas, obtidas pela ligação média entre grupos (UPGMA), utilizando a distância generalizada de Mahalanobis como medida de dissimilaridade. Correlação cofenética(0,82\*\*)......31
- Figura 3.** Dispersão de escores de 42 linhagens parcialmente endogâmicas de milho em relação aos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2), tendo como base a avaliação de sete variáveis morfoagronômicas.....32

CARLESSO, A. **Avaliação e divergência genética de linhagens parcialmente endogâmicas para eficiência no uso de nitrogênio em milho.** 2015. 54 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

## RESUMO

O milho é uma das culturas mais exigentes em fertilizantes, especialmente os nitrogenados. O melhoramento genético pode contribuir para a redução do uso de fertilizantes nitrogenados, por meio da obtenção de cultivares que sejam eficientes no uso do nitrogênio. O objetivo deste trabalho foi selecionar linhagens de milho, parcialmente endogâmica, com eficiência no uso de nitrogênio. Foram utilizadas 42 linhagens S3 de milho, previamente selecionadas com base em estudos para eficiência do uso de nitrogênio e sete híbridos comerciais utilizados como testemunhas. Foram realizados três experimentos simultâneos em Dourados, Glória de Dourados e Laguna Carapã, todos no estado do Mato Grosso do Sul. O delineamento experimental adotado foi o de blocos incompletos em látice simples 7x7. A parcela experimental foi constituída de uma linha de 5 m, com espaçamento de 0,90 m entre linhas e 0,20 m entre plantas. Foram aplicados 30 kg ha<sup>-1</sup> e 120 kg ha<sup>-1</sup> de N para caracterizar o ambiente com e sem estresse ao nitrogênio, respectivamente. As linhagens apresentaram variabilidade genética para produtividade de grãos em baixa disponibilidade de nitrogênio, assim existe a possibilidade de selecionar linhagens parcialmente endogâmicas para produção de híbridos eficientes no uso do nitrogênio. As linhagens denominadas como L3, L6, L7, L9, L10, L12, L13, L14, L16, L23, L26, L28, L31, L32, L34, L35, L37, L38 e L39, apresentaram potencial para serem exploradas como fonte de germoplasma visando à obtenção de cultivares tolerantes a baixas disponibilidades de nitrogênio, visando o cultivo por pequenos produtores. A utilização das três técnicas de agrupamento possibilitou a individualização das linhagens L5, L36, L9, L6 e L41, que mesmo alterando o método de agrupamento, esses genótipos apresentaram a maior dissimilaridade.

**Palavras-chaves:** *Zea mays* L., Parâmetros genéticos, estresse abiótico, Análise Multivariada.

CARLESSO, A. **Evaluation and genetic divergence of partially inbred lines for efficient nitrogen use in maize**. 2015. 54 f. . Dissertation (MSc in Agronomy) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

### ABSTRACT

Maize is one of the most demanding fertilizers culture, especially nitrogen. The genetic breeding can contribute to reduce the use of nitrogen fertilizer obtaining cultivars that are efficient in the nitrogen use. The objective of this work was select partially inbred maize lines with efficient of nitrogen use. It have been used 42 maize lines S3 previously selected based on efficiency studies for the nitrogen use and seven commercial hybrids as control. Three simultaneous experiments were carry out in Dourados, Glória de Dourados and Laguna Carapã; all in Mato Grosso do Sul state. The experimental design was incomplete blocks in simple lattice 7x7. The experimental plot consisted of a line of 5 m, spaced 0.90 m between rows and 0.20 m between plants. It was applied 30 kg ha<sup>-1</sup> and 120 kg ha<sup>-1</sup> N to characterize the environment with and without nitrogen stress, respectively. The inbred maize lines presented genetic variability for seed yield in low nitrogen availability, therefore, there is the possibility of selecting partially inbred lines to produce hybrids efficient in nitrogen use. The lines L3, L6, L7, L9, L10, L12, L13, L14, L16, L23, L26, L28, L31, L32, L34, L35, L37, L38 and L39 presented potential to be exploited as a source of germplasm to obtain cultivars tolerant in low nitrogen availability aiming cultivation by small producers. The use of the three clustering techniques allowed the individualization of the lines L5, L36, L9, L6 and L41, that even changing the grouping method these genotypes had the highest dissimilarity.

**Key words:** *Zea may* L., Genetic parameters, Abiotic stress, Multivariate analysis.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O milho apresenta grande importância socioeconômica, cultivado em praticamente todas as regiões agrícolas do mundo, é utilizado como fonte de carboidrato e energia tanto para alimentação humana quanto animal. De forma geral, é considerada uma cultura muito dependente e exigente em fertilizantes, principalmente os nitrogenados, onerando a produção agrícola em virtude da grande parte dos solos agricultáveis este elemento não está disponível em quantidades necessárias para altas produtividades exigindo aplicações suplementares.

Assim, o desenvolvimento de novas cultivares de milho eficientes no uso de nitrogênio (EUN) constitui-se uma estratégia importante para a diminuição do uso de fertilizantes, visto que é possível a produção de modo econômico com a utilização de menores quantidades desse nutriente (SOUZA et al., 2008). A seleção de genótipos EUN deve ser feita em ambientes com limitação nutricional de nitrogênio, para que os alelos relacionados a uma maior tolerância à deficiência nutricional sejam expressos nesta condição (BÄNZIGER et al., 1997).

A estimação dos parâmetros genéticos é importante para identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle das características de interesse. Portanto, a estimação avalia a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para que sempre haja possibilidade de ganhos e que a variabilidade genética seja mantida. Além do cálculo de variâncias genéticas e de médias, a obtenção de estimativas de herdabilidade e de variação genética, índice de variação e correlações genéticas, é considerada necessária para prever ganhos.

De acordo com Bertin e Gallais (2000), o melhoramento genético se baseia na seleção de parentais seguida de hibridação objetivando a formação de população base e avanço de geração segregante, com seleção simultânea para mais de uma característica. Na identificação dos parentais para hibridação, recomenda-se a seleção de genótipos dentro dos grupos mais divergentes, com maiores médias em relação aos caracteres que se deseja melhorar (PASSOS et al., 2007).

Os estudos de divergência genética tornam-se importantes para a identificação de grupos de genitores que apresentam a melhor combinação híbrida de maior efeito heterótico e maior heterozigose, possibilitando através do emprego da análise multivariada avanços nos programas de melhoramento. A associação de técnicas multivariadas constitui uma forma eficiente de estimar a divergência genética, as quais

envolvem técnicas analíticas como métodos de agrupamento, componentes principais e variáveis canônicas (MATOS FILHO, 2009).

Os objetivos do presente trabalho foram de avaliar e selecionar linhagens parcialmente endogâmicas com eficiência no uso de nitrogênio, estimar parâmetros genéticos e comparar metodologias de análise multivariadas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Aspectos gerais da cultura do milho

O milho (*Zeamays* L.) é um dos principais cereais cultivados em todo o mundo, é utilizado na alimentação humana e animal e, ainda, é utilizado como matéria-prima para a indústria, sendo utilizado sob diversas formas, tais como: ração ou silagem para a alimentação de animais, alimentação humana na forma “in natura” ou na forma de subprodutos como pães, farinha e massas, além de ser utilizado na indústria, na qual é empregado como matéria-prima de diversos produtos (Bull, 1993).

No Brasil, o cultivo de milho era realizado basicamente na safra normal, no entanto, desde 1980 intensificou-se o plantio na época da safrinha, esse fenômeno iniciou-se no oeste do Paraná e logo se espalhou ao longo do território nacional (GARCIA, 1997). Mesmo com o avanço da área cultivada, a porcentagem de milho safrinha em relação ao milho safra era tímida e com produtividades baixas, em torno de 2.100 kg ha<sup>-1</sup> e uma área de 1,4 milhão de hectares. No entanto, nos últimos anos houve uma inversão da área plantada de milho safra e safrinha, em decorrência de melhores práticas agronômicas e de mercado da cultura da soja e do milho. Atualmente, do total de 15,5 milhões de hectares, 9,1 milhões são destinados a safrinha e 6,4 milhões a safra normal (CONAB, 2014).

Segundo o relatório do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), referente à safra 2014/2015 a produção mundial de milho foi de 985,4 milhões de toneladas, seguido pelo trigo com 716,1 milhões de toneladas, na seqüência está o arroz com 477,3 milhões de toneladas e por fim a soja com 304,7 milhões de toneladas (USDA, 2014). De acordo com os dados da CONAB (2014), a produção brasileira de milho alcançou 78,78 milhões de toneladas e uma média de produtividade de 5.109 kg ha<sup>-1</sup>. No estado do Mato Grosso do Sul obteve-se uma produtividade superior a média nacional, com 5.155kg ha<sup>-1</sup> na última safra. Segundo Gonçalves (2008), as deficiências de fertilidade dos solos podem ser consideradas como um dos principais fatores responsáveis pela incapacidade dos cultivares de milho expressarem todo o seu potencial genético produtivo.

Porém, se consideramos a média de 10 anos atrás, cerca de 3.400 kg ha<sup>-1</sup>, o Brasil vem mantendo uma taxa de crescimento de produtividade na ordem de 5% ao

ano. E para sustentar todo esse crescimento houve a necessidade de investimentos substanciais. A começar pelos programas de melhoramento ofertando híbridos mais adaptados, responsivos ao uso de tecnologia e, conseqüentemente mais produtivos, passando pela geração e difusão de informações de manejo e conseqüentemente, melhor suporte no campo.

## **2.2.Nitrogênio no milho**

A Cultura do milho é considerada uma das culturas mais dependentes e exigentes em fertilizantes, principalmente os nitrogenados (SANGOI, 2006). Diversos fatores influenciam a dinâmica do N no sistema solo-planta e a eficiência da utilização de N pela planta, tais como, o sistema de cultivo, o tipo de fertilizante, as condições edafoclimáticas e as formas de manejo da cultura. As plantas absorvem preferencialmente o nitrogênio nas formas de nitrato e amônia pelas raízes (MARENCO e LOPES, 2009). O nitrato pode ser oriundo de adubos que contenha sal ou pela mineralização da matéria orgânica. Já o amônio é oriundo da adubação mineral ou através da simbiose de vegetais da família das leguminosas com bactérias fixadoras (SILVA et al., 2009).

O nitrogênio (N) desempenha papel importante em vários processos essenciais para a manutenção da vida das plantas, sendo o constituinte da molécula de clorofila (ANDRADE et al., 2003), enzimas, coenzimas, bases nitrogenadas, aminoácidos e ácidos nucléicos (TAIZ e ZEIGER, 2004), sendo considerado o nutriente que mais limita a produção (ROBERTO et al., 2010).

Por ser um dos nutrientes mais exigidos pela cultura do milho, o nitrogênio é o que mais onera a produção agrícola, pois em grande parte dos solos agricultáveis este elemento não está disponível em quantidades necessárias para altas produtividades exigindo aplicações suplementares. Coelho et al. (1992), realizando trabalhos em Sete Lagoas e Janaúba em Minas Gerais, apresentaram um estudo de extração de nutrientes feitos pelo milho e observaram que a extração de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio aumentam linearmente com o aumento na produtividade, tendo como principal exigência N e K, seguido de Ca, Mg e P.

Estudos realizados por Guimaraes (2006), demonstraram que o aumento de produtividade está diretamente relacionado com o uso de suplementação de Nitrogênio. A eficiência da recuperação do nitrogênio aplicado pode variar muito, pois a

recuperação depende de inúmeros fatores, como umidade, temperatura e tipo de solo. Em alguns casos podem-se ter valores inferiores a 50% de recuperação, sendo que a média mundial para cereais é 33%, ou seja, 67% de N não são aproveitados (RAUN e JOHNSON, 1999).

Mesmo com a baixa recuperação, estudos revelaram que 89% das propriedades brasileiras que cultivam milho, fazem o uso de quantidades inadequadas de insumos, representando uma grande diversidade de condições ambientais (RIBEIRO et al., 1999). Devido a baixa otimização da interação genótipos x ambientes, a produtividade média é muito baixa, em decorrência que os cultivares plantados não são selecionados e desenvolvidos para estas condições específicas.

Segundo Baligar e Bennett (1986), a eficiência da adubação nitrogenada é baixa, cerca de 50%, em função de diversos processos de perda de N como a lixiviação de nitrato, volatilização da amônia, desnitrificação e competição com a microbiota do solo. Além disso, a produção industrial de adubos nitrogenados requer alta demanda energética com a utilização de grandes quantidades de combustíveis fósseis que, aliada à baixa taxa de recuperação das culturas, implica em seu alto custo, comprometendo ainda a água dos lençóis freáticos (BUCHANAN et al., 2000)

Em virtude da sua importância e a alta mobilidade no solo, o nitrogênio tem sido intensamente estudado, no sentido de maximizar a eficiência do seu uso, assim, tem se procurado diminuir as perdas do nitrogênio no solo, bem como melhorar a absorção e a metabolização do N no interior da planta (BREDEMEIER e MUNDSTOCK, 2000). A seleção de genótipos com maior eficiência na utilização de nitrogênio é considerada, uma das maneiras mais adequadas para diminuir o custo de produção das culturas (MAJEROWICZ et al., 2002).

A eficiência no uso de nitrogênio foi definida por Moll et al. (1982), como a massa de grãos dividida pela massa de nitrogênio aplicada. Foi definido também dois componentes primários relacionados diretamente com a eficiência. A eficiência de absorção de nitrogênio é obtida pela quantidade de nitrogênio aplicado e a eficiência de utilização de nitrogênio é dada pela razão entre a massa de grãos e a quantidade de nitrogênio total na planta na maturidade. Diante disso, a eficiência no uso de nitrogênio é obtida pelo produto entre a eficiência na absorção e a eficiência de utilização de nitrogênio.

O desenvolvimento de cultivares eficientes no uso de nitrogênio constitui-se uma estratégia importante para a diminuição do uso de fertilizantes, visto que é possível



a produção de modo econômica com a utilização de menores quantidades desse nutriente. No entanto, existe uma dificuldade de encontrar no mercado de cultivares que apresentem essa característica, em decorrência que o germoplasma foi selecionado em condições otimizadas, como acontece nas empresas multinacionais de melhoramento de plantas. Sob condições de estresse, essas cultivares não vão desempenhar o seu potencial produtivo, pois os genes que controlam a produtividade em condições de estresse são diferentes daqueles para condições abióticas ótimas (ATLIN e FREY, 1989).

Souza et al. (2008), também corrobora com esta estratégia, afirmando que desenvolvimento de cultivares adaptadas às condições de estresse nitrogenado apresenta-se como uma opção economicamente viável e ecologicamente sustentável para garantir maior produtividade em sistemas agrícolas com baixa utilização de insumos. Desta forma são mencionadas algumas maneiras para aumentar a eficiência do uso de nitrogênio, um dos mais simples é a diminuição nas doses de adubos para níveis que sejam produtivos e seguros (FERNANDES et al., 1998).

### **2.3.Melhoramento genético para Eficiência no Uso do Nitrogênio**

A genética e o melhoramento de plantas vêm sendo trabalhados e, conseqüentemente, aperfeiçoados com sucesso desde os primórdios da civilização. O avanço genético pode ser alcançado desde que exista a variabilidade genética, que o efeito ambiental não mascare por completo esta variabilidade, e que a seleção e a recombinação de genótipos superiores possam ser realizadas com o propósito de se estabelecer a próxima geração (HALLAUER e MIRANDA FILHO, 1988).

O objetivo principal do melhoramento de populações de milho é aumentar a frequência dos alelos desejáveis e criar condições para a obtenção de linhagens superiores. Existem várias modalidades de seleção, sendo que as principais diferenças entre elas se referem ao grau de controle dos progenitores selecionados. Em especial com a cultura do milho, o melhoramento tem sido responsável por incrementos no rendimento, principalmente pela exploração do fenômeno da heterose, fator este, bastante expressivo nas plantas alógamas (SILVA e MIRANDO FILHO, 2003).

Em um programa de melhoramento genético a seleção de genótipos eficiente no uso de nitrogênio em solos de baixa fertilidade e os genótipos responsivos à adubação nitrogenada deve ser priorizada, contribuindo assim para a redução do uso de

fertilizantes nitrogenados, por meio da obtenção de cultivares que sejam eficientes no uso do nitrogênio.

Genótipos com maior EUN e que sejam responsivos à adubação nitrogenada podem ser obtidos simultaneamente nos programas de melhoramento, desde que os genótipos selecionados em condições de estresse de nitrogênio sejam também avaliados em condições de boa fertilidade. Silva (2008), afirma existir evidências experimentais que uma população de milho tropical foi eficiente em condições de estresse de N, comprovando que populações de milho possuem variabilidade genética suficiente para que se tenha sucesso em um programa de melhoramento para condições de baixa disponibilidade de nitrogênio.

Fidelis et al. (2007), observaram elevada variabilidade genética para EUN entre as populações locais de polinização aberta de milho tropical, com valores de produtividade de grãos variando entre 2,0 e 4,0 t·ha<sup>-1</sup>. Embora esta produtividade seja baixa, quando comparada à obtida em condições ideais e de baixa disponibilidade de N, esses autores concluíram que há variabilidade para seleção de genótipos que apresenta potencial para serem utilizados por pequenos e médios produtores rurais.

Avaliações da população de milho UFV 8 realizados por Souza et al. (2008), revelaram um elevado potencial produtivo em condições contrastantes de nitrogênio, mesmo que em condições de estresse houve uma diminuição dos ganhos genéticos comparado com as condições ótimas. Dados semelhantes de variabilidade para produtividade de grãos no conjunto de linhagens da população CMS 28 foram encontrados por Guimaraes (2006), no entanto, as linhagens eficientes se mostraram mais responsivas com o uso de N.

Mesmo com o conhecimento da interferência de diferentes genes que controlam a produtividade em condições de estresse e ótimas, a maioria dos programas de melhoramento sempre foi conduzida em condições ótimas, visto que nessas condições pode ser ter um maior controle ambiental, acarretando no aumento da herdabilidade e a diminuição do erro ambiental (ALMEKINDERS e ELINGS, 2001).

Segundo Blair (1993), os cultivares podem ser divididos em quatro categorias, dependendo da produção em solos pobre e da capacidade em responder a adubação, sendo: 1- cultivares eficientes e não responsivos (ENR), apresentam alta produção sob baixos teores do elemento, não respondendo ao aumento do fornecimento desse elemento; 2- cultivares eficiente e responsivos (ER), apresentam alta produção sob baixos teores do elemento, mas respondem positivamente ao aumento do fornecimento

do elemento; 3- cultivares ineficientes e não responsivos(IR), produzem pouco sob baixos teores do elemento e com aumento do fornecimento do elemento respondem positivamente e 4- cultivares ineficientes e não responsivos(INR), que produzem pouco sob baixos teores do elemento e não responde ao aumento no fornecimento do elemento.

MACHADO (1997), abordou dois preceitos para o melhoramento de plantas buscando a eficiência na utilização do nitrogênio. Sendo o primeiro compreendido pela identificação de cultivares superiores que se apresentam produtivos em ambientes com limitações no suprimento do nutriente (Cultivares eficientes) e o segundo destaca as cultivares que apresentem aumento de produtividade com o aumento da dose de nutriente (Cultivares responsivos).

Diante do contexto e pela necessidade de aumentar o número de cultivares eficientes, se torna fundamental a geração de informações mais detalhadas nos programas de melhoramento de plantas sobre germoplasma eficiente e ineficiente no uso de N. Com isso deve haver uma maior clareza dos aspectos relacionados com a frequência de alelos favoráveis em condições de estresse e a complementaridade de seus genes. Além disso, investigar os processos bioquímicos, fisiológicos e genético-moleculares (MANSKE et al., 2001).

A obtenção e avaliação de linhagens é a etapa mais demorada e onerosa para o desenvolvimento de híbridos. A utilização de linhagens parcialmente endogâmicas a partir de  $S_2$  e  $S_3$  se tornam uma alternativa para acelerar o processo, pois nessas situações 75 % e 87,5% já estão em homozigose, respectivamente (MIRANDA FILHO e VIÉGAS, 1987).

A utilização de linhagens parcialmente endogâmicas para a obtenção de híbridos apresentam inúmeras vantagens, desde vantagens de ordem econômicas até pelo tempo necessário, sendo a principal maior produtividade de sementes, menor tempo para a obtenção dos híbridos, menor custo para a produção das sementes e a possibilidade de se explorar a pequena variabilidade existente, dentro das linhagens parentais, para o melhoramento progressivo dos potenciais híbridos obtidos com o avanço das gerações. O uso de uma das linhagens da combinação híbrida, como testadora para todas as plantas da progênie da outra, na nova geração, e vice-versa para a outra linhagem, poderá possibilitar incrementos gradativos na produtividade de grãos dos híbridos obtidos em  $S_3$  (SILVEIRA e MORO, 2009).

Existem registros que os primeiros milhos duplos e triplos do México foram oriundos de linhagens parcialmente endogâmicas  $S_1$ . No comparativo para obtenção de híbridos utilizando linhagens em diferentes grau de endogamia, sendo  $S_1 \times S_1$  a  $S_4 \times S_4$ , não foi encontrado diferenças significativas de produtividade, sendo a utilização de linhagens a partir de  $S_2$  foi uma alternativa barata e lucrativa para o desenvolvimento (MEDINA, 1990).

Já os estudos realizados por (MANSKE et al., 2001), revelaram a existência de uma grande variabilidade genética para peso de espiga despalhada dos híbridos de linhagens  $S_2$ , possibilitando a seleção das progênies para desempenhos superiores em cruzamentos futuros, podendo em alguns casos substituir híbridos comerciais. Conclusão semelhante foi encontrado por Carvalho et al. (2004), que identificaram híbridos de linhagens  $S_2$  com desempenho semelhante até superior aos híbridos comerciais, mesmo havendo um comportamento distinto para obtenção de linhagens.

A utilização de híbridos de linhagens  $S_2$  foi superior do que alguns híbridos comerciais disponíveis no mercado, apresentando um maior potencial produtivo e altura de plantas, no entanto, a altura de inserção de espigas foi semelhante ao comercial (CARVALHO et al., 2003). Ferreira et al. (2009), constataram que linhagens parcialmente endogâmicas de milho têm elevado potencial produtivo, semelhante ou superior às testemunhas comerciais, e podem ser uma opção aos produtores rurais.

#### **2.4. Parâmetros genéticos**

Para a obtenção de novas cultivares, por meio da seleção, o melhorista tenta identificar os indivíduos geneticamente superiores ou mais adaptados. A seleção, por sua vez, é mais efetiva quando age sobre caracteres de alta herdabilidade, e que tenham alguma associação com a produtividade ou outro caráter de importância econômica. Daí a relevância de se realizarem trabalhos no sentido de estimar parâmetros genéticos como herdabilidade, correlação e ganhos genéticos (PEREIRA et al., 2009).

A estimação dos parâmetros genéticos é importante para identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle das características de interesse (caracteres quantitativos). Portanto sua estimação avalia a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para que sempre haja possibilidade de ganhos e que a variabilidade genética seja mantida.

Além do cálculo de variâncias genéticas e de médias, a obtenção de estimativas de outros parâmetros genéticos, como coeficiente de herdabilidade e de variação genética, índice de variação e correlações genéticas, é considerada necessária para prever ganhos, avaliar a viabilidade de determinado programa de melhoramento e orientar na adoção da estratégia mais eficiente de seleção.

Heinz et al. (2012), observaram que as estimativas dos parâmetros genéticos e o ganho genético esperado com a seleção são maiores em ambiente com alto N. No entanto, constatou que os cultivares de milho estudados apresentam potencial para o melhoramento, visando à adaptação em ambientes com limitações para nitrogênio. Mesmo com a possibilidade de seleção de germoplasma eficientes com relação ao uso de nitrogênio, não existe um consenso entre os estudiosos com relação ao ambiente ideal para obtenção de cultivares superiores (SILVA, 2008).

Em condições contrastante de nitrogênio, a produtividade de grãos sofreu uma redução da herdabilidade de 5,9% em baixo N, quando comparado ao alto N. As estimativas dos coeficientes de herdabilidade e de correlação genética entre produtividade de grãos e outras características variaram de acordo com a disponibilidade de nitrogênio (SOARES et al., 2011). Bertin e Gallais (2000) também encontraram valores de herdabilidade menores para características morfológicas em ambientes com baixo N disponível no solo em relação ao ambiente sem estresse. Já Amorim e Souza (2005), obtiveram valor de 81,69%, de herdabilidade, revelando assim uma alta diversidade genética entre os genótipos avaliados.

### **2.5. Divergência genética utilizando análises multivariadas**

O conhecimento do grau de divergência genética entre genótipos é de fundamental importância em programas de melhoramento que envolve hibridações, pois fornece parâmetros para identificação de genótipos que, quando cruzados, exibem maior efeito heterótico na progênie e maior probabilidade de recuperar genótipos superiores nas populações segregantes (Cruz et al., 1994). A análise de divergência genética tem sido bastante utilizada pelos melhoristas, pois auxilia na escolha de genitores com características de interesse para determinado cruzamento.

A divergência genética mede o grau de distanciamento entre um conjunto de genótipos quanto aos caracteres que lhes são peculiares. Esta por sua vez, mostra-se

correlacionada positivamente com a heterose, assim sendo, pode-se inferir que a magnitude da heterose seja proporcional à distância genética entre os genitores. Desta forma, as análises de divergência genética podem ser úteis para a predição preliminar de cruzamentos que otimizem a heterose (Miranda et al., 2003).

A avaliação da divergência genética é muito utilizada pelos melhoristas de milho para a seleção de parentais. Esse enfoque visa selecionar os genótipos mais promissores, diminuindo os custos e o tempo necessário para a realização de várias combinações híbridas, muitas vezes desnecessárias. Os esforços são concentrados nas combinações entre os genótipos mais divergentes (RINALDI et al., 2007). A grande maioria das análises realizadas em trabalhos científicos obtém os resultados apenas de uma variável aleatória, ou seja, os métodos estatísticos empregados são univariados. Análises multivariadas têm por objetivo avaliar um conjunto de variáveis aleatórias relacionadas entre si, onde cada uma possui o mesmo grau de importância. A análise multivariada fornece coeficientes de distância genética entre os genótipos, proporcionando grande contribuição ao melhoramento genético (CHIORATO, 2004). A associação de técnicas multivariadas constitui uma forma eficiente de estimar a divergência genética, as quais envolvem técnicas analíticas como métodos de agrupamento, componentes principais e variáveis canônicas.

Segundo Cruz (1990), as técnicas de análise de agrupamento têm por objetivo dividir um grupo original de observações em vários grupos homogêneos, de acordo com algum critério de similaridade ou dissimilaridade. Entre os métodos de agrupamento mais utilizados no melhoramento de plantas, citam-se os hierárquicos e os de otimização. Como exemplo de métodos de otimização, tem-se o apresentado por Tocher, que vem sendo extensivamente utilizado em análises de divergência genética de várias espécies de plantas (LOPES PAIXÃO et al., 2008).

Rios et al. (2010), após realizar estudos da divergência genética para o conteúdo de carotenoides em genótipos de milho avaliados em dois ambientes distintos quanto à fertilidade do solo, empregando a distância generalizada de Mahalanobis e o agrupamento de Tocher, concluiu que o efeito do ambiente na expressão dos caracteres avaliados sugere a necessidade de que esses estudos sejam efetuados em várias condições ambientais. Os caracteres que mais contribuíram para a diversidade genética entre os genótipos estudados foram luteína e zeaxantina, considerando os dois ambientes de avaliação.

Lopes Paixão et al. (2008), estimaram divergência genética em populações de milho em diferentes ambientes. Os autores concluíram que existe baixa divergência genética entre as populações de milho, não havendo diferença estatística significativa entre os genótipos avaliados quanto a produtividade de grãos. Os ambientes exercem influência sobre a altura de planta e espigas, relação AP/AE e massa de 100 grãos.

Coimbra et al. (2010), avaliaram potencial produtivo e a divergência genética de populações de milho resgatadas do sudeste de Minas Gerais, visando à identificação de genótipos promissores para o melhoramento genético. Os resultados permitiram inferir algumas populações de milho apresentam potencial para serem utilizadas em programas de melhoramento e que o agrupamento obtido com a utilização de dados quantitativos não foi o obtido ao se utilizar dados qualitativos, por isso, essas informações sobre similaridade devem ser utilizadas de forma conjunta.

Em estudos da dissimilaridade genética que tem por objetivo a identificação de genitores que apresentem maior efeito heterótico, as análises de agrupamento são as técnicas mais utilizadas, permitindo uma maior eficiência na identificação e seleção de genótipos. Os métodos de agrupamento permitem separar e reunir os objetos de estudo em grupos, sendo que os objetos do mesmo grupo sejam tão semelhantes quanto possível, enquanto os diferentes grupos sejam os mais heterogêneos possíveis entre si (JHONSON e WICHERN, 1992) Como exemplos de métodos de agrupamentos, estão o UPGMA, componentes de principais e o método de otimização de Tocher.

Com a utilização do método dos componentes principais é possível identificar quais os caracteres que mais explicam a variação existente, reduzindo a dimensionalidade do conjunto de variáveis originais com um mínimo de perda de informações, e possibilitando aplicar técnicas de dispersão gráfica em espaço bidimensional ou tridimensional de fácil interpretação geométrica (Cruz e Carneiro, 2001; Cruz et al., 2004). De uma forma geral, o método UPGMA é relatado como superior para o agrupamento no estudo de divergência genética (Dias, 1998), nesse método o par de sequências a ser agrupado primeiro é aquele que apresentar a menor distância entre todos os pares ou grupos de sequências.

Outro método existente foi apresentado por Cruz e Carneiro (2003), denominado de Tocher, que é constituído de um agrupamento simultâneo, com a característica de separação dos indivíduos em uma vez só. Nesse método, apresenta como característica que a média das medidas de dissimilaridade dentro de cada grupo deve ser menor que as distâncias médias entre quaisquer grupos. A distância de Mahalanobis é definida pela

soma da matriz de covariâncias associadas as variáveis aleatórias, estabelecendo a distância de um vetor de variáveis aleatórias até a média desse vetor (Ferreira, 2008)



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1- histórico da obtenção das linhagens

Foram utilizadas 42 linhagens de milho parcialmente endogâmicas S2 oriunda da população UFGD 1, que foram selecionadas em avaliação do potencial produtivo eficientemente no uso de nitrogênio pelo Heinz et al.(2012). Na safra 2013/2014, as linhagens S2 foram autofecundadas de acordo com o método de autofecundação descrito por Borém (2009) e posteriormente as plantas mais promissoras de cada linhagem foram selecionadas para serem avaliadas no ensaio de desempenho *per se*. Assim, foram colhidas as plantas correspondentes as linhagens S3 que foram debulhadas separadamente após o ensaio e armazenadas em câmara seca para os ensaios de avaliação.

Alem da utilização das linhagens parcialmente endogâmicas S3 foram utilizadas 6 híbridos e uma variedades, sendo os híbridos o DKB 330, BRS 1060, , BRS 206, CD 355, AG 5011 e BRS 205. E a variedade utilizada foi BRS SOL DA MANHÃ.

#### 3.2- Caracterização dos Ambientes

Na safrinha 2014 foi realizado o ensaio de avaliação dos 49 genótipos, sendo realizados em doses contrastantes de nitrogênio, sendo o ambiente de avaliação constituído da combinação entre o local e a dose de N utilizada. Os locais foram os municípios de Dourados, Gloria de Dourados e Laguna Carapã, municípios do estado do Mato Grosso do Sul. Já as doses de N utilizadas foram 30 kg ha<sup>-1</sup> e 120 kg ha<sup>-1</sup>, formando assim as doses baixa e alta de nitrogênio, respectivamente.

Diante disso, cada local apresentou dois ambientes de avaliação e seleção dos genótipos estudados, assim divididos: Dourados alto N e Dourados baixo N, Gloria de Dourados alto N e Gloria de Dourados baixo N, e Laguna Carapã alto N e Laguna Carapã baixo N.

Na tabela 1 estão apresentados os valores referentes à análise química e granulométrica da camada de 0-20 cm, do solo das áreas experimentais dos municípios de Dourados, Gloria de Dourados e Laguna Carapa.

**Tabela 1.** Análise química do solo das áreas experimentais da camada 0-20 cm de profundidade dos locais de avaliação.

Característica Química	Dourados	Gloria de Dourados	Laguna Carapã
pH em água	5,0	4,9	4,9
P (mg dm-3)	5,8	2,3	7,9
K (cmolc dm-3)	0,2	0,2	0,2
Ca trocável (cmolc dm-3)	7,2	6,8	7,0
Mg trocável (cmolc dm-3)	1,8	1,9	2,0
Al trocável (cmolc dm-3)	0,0	0,0	0,1
CTC (cmolc dm-3)	14,9	14,6	15,5
V%	61,8	61,5	59,3

### 3.3- Instalação dos ensaios e Avaliações

Na safrinha de 2014 foram avaliados os 49 genótipos de milho simultaneamente nos municípios de Dourados, Gloria de Dourados e Laguna Carapã.

O delineamento experimental utilizado foi blocos incompletos em látice 7X7, com 2 repetições por ambiente. A parcela experimental foi constituída de uma linha de cinco metros, espaçadas entre si por 0,90m e 0,20m entre plantas, totalizando a área da unidade experimental de 4,5 m<sup>2</sup>.

A área demarcada para o ensaio em cada município foi aproximadamente de 1050 m<sup>2</sup>, sendo 15 metros de largura x 70 metros de comprimento. Após o estaqueamento da área de cada local, foi realizado a sulcação e marcação da linhas de plantio, com a utilização de uma semeadora com 5 linhas, espaçadas 0,90m entre linhas. Juntamente com a marcação das linhas pela própria semeadora, foi distribuído o adubo com a finalidade de proporcionar a maior uniformidade possível. Foi utilizado 300 kg.ha<sup>-1</sup>, da formula comercial 10-20-20, aplicando dessa forma 30 kg de nitrogênio, 60 kg de fósforo e 60 kg potássio.

A semeadura das linhagens foi realizada manualmente utilizando uma régua, devidamente marcada com espaçamento entre plantas na linha de 0,20 m, foi colocado duas sementes a cada intervalo.e logo em seguida as sementes foram cobertas com terra, com auxilio de uma enxada, tomando o cuidado de cobrir com terra em torno de 3cm acima da semente. Foi realizado uma área de bordadura em torno dos blocos e entre os

mesmos com o híbrido DKB-390, com a finalidade principal de evitar influências ambientais, denominado “efeito bordadura”.

No estágio de desenvolvimento V4 foi realizado o desbaste, com a finalidade de adaptar o número de plantas ao estande de 55.000 plantas ha<sup>-1</sup>. Em seguida, foi aplicado a fonte de nitrogênio para diferenciar os ambientes de avaliação de acordo com a dose de nitrogênio, sendo o ambiente com alto nitrogênio recebeu uma aplicação em cobertura de 90 kg de nitrogênio e logo seguida coberto com terra, evitando possíveis perdas, formando assim as doses alta e baixa, 120 e 30 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

Para o controle de plantas daninhas foi realizada a capina em duas épocas, uma logo após a semeadura e a outra antes da realização do desbaste, evitando assim a competição das ervas daninhas com a cultura do milho por fatores, como, luz, água e nutrientes. A aplicação de inseticida foi realizada utilizando uma bomba costal com jato dirigido no cartucho da planta, utilizando o produto comercial Premio na dose de 150 ml por hectare.

As avaliações foram realizadas em três momentos distintos. No florescimento feminino, ou seja, quando 50% das plantas da parcela apresentar estilo-estigma receptivos, foi avaliado o teor de clorofila de 5 plantas de cada parcela com auxílio de um clorofilômetro da marca Minolta (modelo SPAD-502), conforme proposto por Catapatti (2008). As leituras foram realizadas conforme ARGENTA et al. (2001) recomendaram, sendo realizado na primeira folha abaixo da espiga, em pontos situados no terço médio da folha amostrada a 2 cm de uma das margens da folha.

Na fase de pré colheita foram avaliados os caracteres de altura de planta e altura de espiga. A altura de planta foi obtida pelas médias das amostragens feitas no nível do solo à inserção da folha-bandeira, em metros. A altura de espiga foram obtidas pelas média das distâncias do nível do solo até a inserção da espiga superior, em metros. Em ambos as avaliações foi utilizada uma trena e avaliadas 5 plantas por parcela. Após a colheita foi determinado o diâmetro da espiga através da média do diâmetro de 5 espigas despalhadas, em milímetros com auxílio de um paquímetro; o peso de espiga obtida pela média do peso individual da espiga, em gramas, e a produtividade de grãos sendo estimada através da produtividade de grãos da unidade experimental, corrigido para 13% de umidade, em kg ha<sup>-1</sup>.

### 3.4. Análises Estatísticas

No primeiro momento foi realizada uma análise de variância para cada ambiente isoladamente, verificando a homogeneidade da variância residual, posteriormente foi realizada a análise de variância conjunta, considerando os seis ambientes. Para seleção das linhagens.

A análise conjunta foi realizada considerando um modelo misto, com todos os efeitos aleatórios, excetuando-se a média e o efeito de tratamento:

$$Y_{ijkl} = m + t_i + a_l + b_{k(l)} + r_{k(l)} + (ta)_{il} + e_{ijkl} \quad (1)$$

em que:

$Y_{ijkl}$ : é o valor do tratamento  $i$  no bloco  $j$  dentro da repetição  $k$  no ambiente  $l$ ;

$m$ : é a média geral do experimento;

$t_i$ : é o efeito do tratamento  $i$  ( $i=1,2,3,\dots,t$ );

$a_l$ : é o efeito do ambiente  $l$  ( $l=1,2$ );

$b_{k(l)}$ : é o efeito do bloco  $j$  dentro da repetição  $k$  no ambiente  $l$  ( $j=1,2,3,\dots,b$ );

$r_{k(l)}$ : é o efeito da repetição  $k$  dentro do ambiente  $l$  ( $k=1,2$ );

$(ta)_{il}$ : é o efeito da interação tratamentos x ambientes;

$e_{ijkl}$ : é o erro experimental associado à observação  $Y_{ijkl}$ .

Na análise conjunta, foram desdobradas as somas de quadrados de ambientes em locais e doses de N, sendo o ambiente formado pela combinação de locais e doses e seus contrastes. Também foram realizado as interações de genótipos x locais e doses de N.

Os parâmetros genéticos e seus estimadores foram obtidos para cada característica utilizando-se as seguintes equações:

Estimativa da variância genotípica ( $\hat{\sigma}_G^2$ )

$$\hat{\sigma}_G^2 = \frac{QM_G - QM_r}{r} \quad (2)$$

Estimativa da variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_P^2$ )

$$\hat{\sigma}_p^2 = \frac{QM_P}{r} \quad (3)$$

Estimativa da variância ambiental ( $\hat{\sigma}_E^2$ )

$$\hat{\sigma}_E^2 = \frac{QM_r}{r} \quad (4)$$

Estimativa da variância da interação genótipos *versus* ambiente ( $\hat{\sigma}_{GxA}^2$ )

$$\hat{\sigma}_{GxA}^2 = \frac{QM_{GxA} - QM_r}{r} \quad (5)$$

Estimativa da herdabilidade média entre família

$$\hat{h}_x^2 = \frac{\hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_p^2} \quad (6)$$

Estimativa do coeficiente de variação genético percentual

$$\hat{CV}_g = 100 \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_G^2}{\bar{X}}} \quad (7)$$

Estimativa do Índice de variação

$$\hat{I}_v = \frac{CV_g}{CV_e} \quad (8)$$

em que:  $QM_G$ : quadrado médio das progênes;

$QM_r$ : quadrado médio do resíduo;

$QM_{GxA}$ : quadrado médio da interação genótiposxambiente;

$r$ : número de repetições;

$\bar{X}$ : média geral das progênes.

Para identificar os genótipos adequados aos ambientes, utilizou-se a metodologia proposta por Fageria e Kluthcouski (1980). A utilização do nutriente foi definida pela média de produtividade de grãos em baixo nível. A resposta à utilização do nutriente é obtida pela diferença entre a produtividade de grãos nos dois níveis dividida pela diferença entre as doses.

$$EUN = \frac{\text{Produção em } (N^+) - \text{Produção em } (N^-)}{\text{Diferença entre os níveis de N}} \quad (9)$$

Utilizou-se a representação gráfica no plano cartesiano para classificar os cultivares. No eixo das abscissas, encontra-se as médias da produtividade em baixo nitrogênio e no eixo da ordenadas a eficiência na utilização do nitrogênio. O ponto de origem dos eixos é a produtividade média e a eficiência média dos genótipos. No primeiro quadrante são representados os cultivares eficientes e responsivos; no segundo, os não eficientes e responsivos; no terceiro, os não eficientes e não responsivos e no quarto, os eficientes e não responsivos.

Para as análises multivariadas, inicialmente foi realizada a análise de variância univariada para obtenção das estimativas das médias ajustadas. Posteriormente foi realizada a análise da divergência genética empregando-se as técnicas multivariadas componentes principais e agrupamento. Na aplicação da técnica de agrupamento dos genótipos pelo método da ligação média entre grupos (UPGMA) adotou-se a distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ), como medida de dissimilaridade, levando em consideração o grau de dependência entre as variáveis estudadas (CRUZ e REGAZZI, 1997).

Com relação ao estabelecimento de grupos similares, foi aplicado o método hierárquico aglomerativo de otimização proposto por Tocher, cujos cálculos foram igualmente embasados na distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ). Foi utilizada a análise de componentes principais (ACP), avaliando a contribuição relativa de cada caráter para a divergência genética entre eles e elaborada a dispersão gráfica em função dos dois primeiros componentes principais. Também, construiu-se um gráfico de dispersão utilizando as variáveis canônicas (Cruz e Regazzi, 1997). Para a realização das análises estatísticas, utilizou-se o aplicativo computacional GENES e SAS (Cruz, 2013).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foi realizado os testes de normalidade e homoscedasticidade dos erros e verificando esses pressupostos foi realizado a análise para cada ambiente. Em seguida, foi realizado o teste de Bartlett, verificando a homogeneidade dos erros, o que permite a realização da análise conjunta.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância conjunta para seis caracteres avaliados em 49 genótipos de milho, cultivados em baixa e alta disponibilidade de nitrogênio.

Fontes de Variação	G.L.	Quadrados Médios		
		Clor	AE (cm)	AP (cm)
Repetição/ambientes	6	58,3973	140,1002	763,7602
Genótipos (G)	48	135,3919**	1.009,8238**	1.662,6173**
Ambientes (A)	5	370,8386**	5317,3421**	12.483,2149**
Locais (L)	2	206,5049 <sup>ns</sup>	10.654,7821**	22.484,5222**
Doses de N (N)	1	1216,3985**	4.856,7955**	14.877,1304**
Locais vs Doses de N	2	112,3919**	210,1746 <sup>ns</sup>	1284,9468*
Genótipos x Locais	96	7,0711 <sup>ns</sup>	254,5053**	490,5409**
Genótipos x Doses de N	48	11,1316 <sup>ns</sup>	66,7396 <sup>ns</sup>	335,5549 <sup>ns</sup>
Genótipos X Ambientes	240	8,2488 <sup>ns</sup>	130,6215 <sup>ns</sup>	341,077 <sup>ns</sup>
Erro Efetivo médio	216	19,0144	142,8694	304,7112

Fontes de Variação	G.L.	Quadrados Médios		
		DE (mm)	PE (g)	PROD (kg ha <sup>-1</sup> )
Repetição/ambientes	6	64,1813	2.433,5892	1.181.792,1209
Genótipo (G)	48	47,5443**	8.641,2253**	4.694.298,3153**
Ambiente (A)	5	399,2308**	22.129,2875**	7.560.753,2552**
Locais (L)	2	456,7381*	43.065,9468**	9.415.965,0874*
Doses de N (N)	1	888,3802**	22.491,3814*	18.259.588,631**
Locais vs Doses de N	2	97,1485**	1.011,5790 <sup>ns</sup>	356.123,8054**
Genótipos x Locais	96	7,8396 <sup>ns</sup>	1.196,3959**	932.005,8140**
Genótipos x Doses de N	48	20,0898**	143,2843 <sup>ns</sup>	64.496,4570 <sup>ns</sup>
Genótipos X Ambientes	240	9,7197**	654,418**	7.560.753,2552 <sup>ns</sup>
Erro Efetivo médio	216	4,8204	464,2792	554951,6395

Clor: teor de clorofila; AE: altura de espiga; AP: altura de planta; DE: diâmetro de espiga; PE: peso de espiga; PROD: produtividade de grãos. \*\*, \*, ns: significativo a (P<0,01), significativo a (P<0,05) e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

De acordo com os resultados das análises de variâncias conjuntas, observa-se que houve diferença significativa entre os genótipos (P<0,01), para todas as características, confirmando a existência de variabilidade entre as linhagens. A classificação relativa das linhagens para as características, teor de clorofila (Clor), altura de planta (AP), altura de espiga (AE), peso de espiga (PE) e produtividade de grãos

(PROD) foram semelhantes em baixo e em alto nitrogênio, fato este que pode ser ratificado pela não significância da interação linhagens x doses de N (Tabela 2).

Os genótipos apresentam desempenho similar nos dois níveis de N e nos três locais, 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. Interação não significativa entre genótipos de milho e doses de nitrogênio para estes caracteres foram encontrados por Soares et al. (2011) e para produção de grãos por Szelés (2007).

Quando a interação genótipos x níveis de disponibilidade de nitrogênio para os caracteres que serão utilizados na seleção for significativa, a seleção neste caso, não deve ser realizada com base no desempenho dos genótipos em apenas um ambiente, pois os genes são expressos de formas diferentes de acordo com a disponibilidade de nitrogênio no solo (FRITSCHÉ-NETO e BORÉM, 2011).

O efeito significativo ( $p < 0,01$ ) para doses de N para todos os caracteres avaliados demonstraram que as quantidades de N aplicadas foram adequadas para diferenciar os ambientes para todas as características avaliadas. Deste modo as doses aplicadas (30 e 120 kg ha<sup>-1</sup>) possibilitaram a formação de ambientes contrastantes, e, portanto, caracterizou adequadamente o ambiente com e sem estresse ao nitrogênio.

O contraste locais vs doses de N (L vs N) foi significativo para o teor de clorofila, altura de planta, diâmetro de espiga e produtividade de grãos, indicando que esses caracteres alteram suas médias em decorrer do local a dose de nitrogênio utilizado. Deste modo a utilização de ambientes formados pela combinação de locais e doses torna-se mais informativa, tornando a seleção de genótipos em ambientes contrastantes mais eficientes.

As médias do teor de clorofila em alto N foram superiores a de baixo N. Como o teor de clorofila está intimamente relacionado com o teor de nitrogênio na planta este resultado indica a existência de ambientes com diferentes disponibilidade de nitrogênio, caracterizando ambiente com estresse (Tabela 3). Entretanto, de acordo com Miranda et al. (2005), os teores de clorofila permitem apenas a eliminação de genótipos pouco eficientes no uso de N, sendo falhos para seleção de materiais genéticos mais eficientes.

Para todos os caracteres avaliados houve reduções na média dos genótipos, nos ambientes com baixo nitrogênio quando comparados aos ambientes com alto nitrogênio.



A redução desses caracteres pode estar relacionado, dentre outros fatores, pela diminuição da taxa fotossintética corroborada pela redução do teor de clorofila em baixo N, pois de acordo com Taiz e Zeiger (2004), o nitrogênio é um elemento essencial na estrutura da molécula de clorofila e um constituinte dos aminoácidos, e deste modo, a sua ausência pode prejudicar as unidades de montagem das proteínas, das quais muitas têm funções enzimáticas e regulatórias importantíssimas em todo o metabolismo da planta.

**Tabela 3.** Médias obtidas em alto e baixo N, nos locais de cultivo em alto e baixo nitrogênio, para o teor de clorofila (Clor), altura de espiga (AE), altura de planta (AP), diâmetro de espiga (DE), peso de espiga (PE) e produtividade de grãos (PROD)

Médias	Clor	AE (cm)	AP (cm)
Alto N	48,29 a	90,85 a	192,06 a
Baixo N	45,41 b	85,10 b	182,00 b
Dourados alto N	47,52 a	83,34 c	181,76 b
Dourados baixo N	44,97 b	78,52 c	171,65 c
Laguna Carapã alto N	48,81 a	97,79 a	200,54 a
Laguna Carapã baixo N	47,26 a	93,48 b	195,63 a
Glória de Dourados alto N	48,53 a	91,42 b	193,86 a
Glória de Dourados baixo N	44,01 b	83,30 c	178,71 bc
Geral	46,85	87,97	187,03
Médias	DE (mm)	PE (g)	PROD (kg ha <sup>-1</sup> )
Alto N	44,72 a	168,43 a	4.241,61 a
Baixo N	42,26 b	156,06 b	3.889,17 b
Dourados alto N	46,64 a	186,43 a	4.521,97 a
Dourados baixo N	43,65 c	170,19 b	4.088,21 bc
Laguna Carapã alto N	42,57 cd	152,77 c	4.007,06 bcd
Laguna Carapã baixo N	41,70 d	145,41 c	3.743,32 d
Glória de Dourados alto N	44,96 b	166,08 b	4.195,80 b
Glória de Dourados baixo N	41,43 d	152,58 c	3.835,98 cd
Geral	43,49	162,247	4065,39

Médias seguidas pela mesma letra na coluna para alto e baixo N, não diferem entre si pelo teste F, e médias seguidas pela mesma letra na coluna para os locais em baixo e alto N, não diferem entre si pelo teste de Tukey a ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 4.** Médias de produtividade de grãos obtidas a partir da avaliação de linhagens parcialmente endogâmicas S3 e sete testemunhas, cultivadas em ambientes contrastantes quanto à disponibilidade de N.

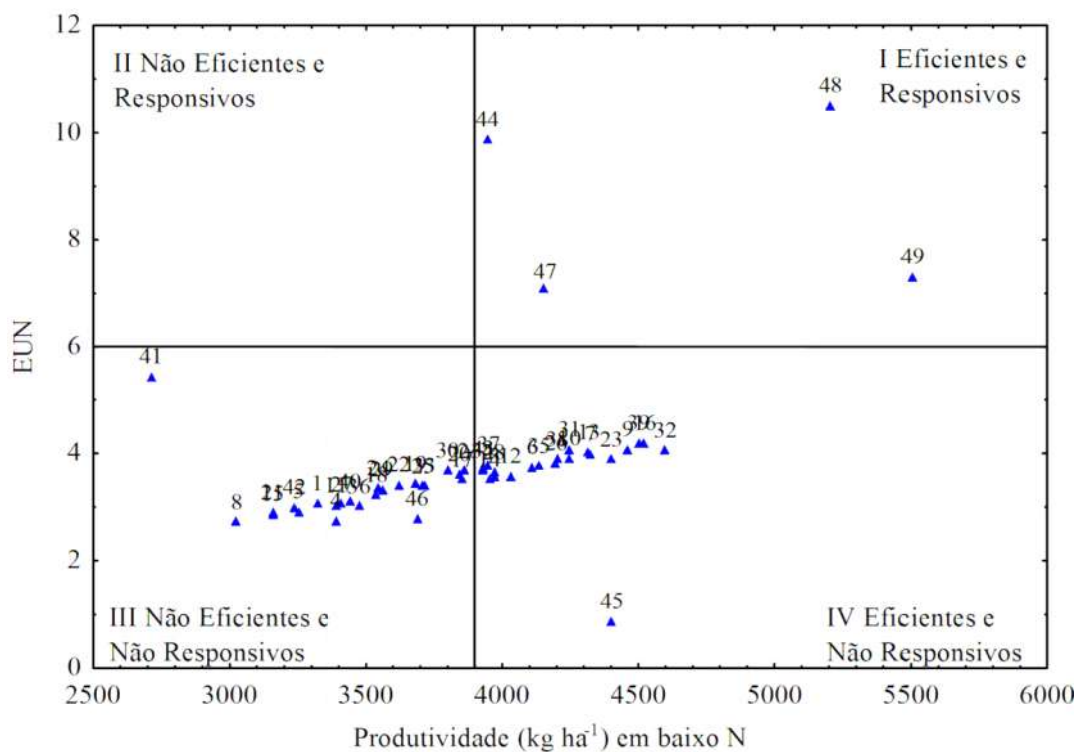
Genótipos	PROD N <sup>+</sup>	PROD N <sup>-</sup>	EUN (kg grãos/kg N)	Classificação
L1	3.597,0 c	3.320,5 c	3,1	NENR
L2	4.190,0 c	3.858,8 c	3,7	NENR
L3	4.297,1 c	3.974,3 b	3,6	ENR
L4	3.637,7 c	3.389,8 c	2,8	NENR
L5	3.512,9 c	3.249,6 c	2,9	NENR
L6	4.449,5 b	4.111,0 b	3,8	ENR
L7	4.683,5 b	4.323,5 b	4,0	ENR
L8	3.271,0 c	3.025,8 c	2,7	NENR
L9	4.828,9 b	4.461,4 b	4,1	ENR
L10	4.598,7 b	4.245,8 b	3,9	ENR
L11	3.662,8 c	3.388,7 c	3,0	NENR
L12	4.350,3 c	4.027,8 b	3,6	ENR
L13	4.680,4 b	4.318,0 b	4,0	ENR
L14	4.269,1 c	3.952,3 b	3,5	ENR
L15	3.416,7 c	3.156,6 c	2,9	NENR
L16	4.901,4 b	4.523,6 b	4,2	ENR
L17	4.169,0 c	3.852,4 c	3,5	NENR
L18	3.829,7 c	3.538,3 c	3,2	NENR
L19	3.991,1 c	3.681,1 c	3,4	NENR
L20	4.167,5 c	3.841,6 c	3,6	NENR
L21	3.416,9 c	3.155,1 c	2,9	NENR
L22	3.927,4 c	3.619,2 c	3,4	NENR
L23	4.752,4 b	4.401,5 b	3,9	ENR
L24	3.847,4 c	3.545,3 c	3,4	NENR
L25	4.014,2 c	3.708,9 c	3,4	NENR
L26	4.542,4 b	4.198,3 b	3,8	ENR
L27	3.684,8 c	3.409,7 c	3,1	NENR
L28	4.297,2 c	3.967,9 b	3,7	ENR
L29	3.859,0 c	3.558,5 c	3,3	NENR
L30	4131,1 c	3.798,5 c	3,7	NENR
L31	4.614,6 b	4.246,7 b	4,1	ENR
L32	4.965,3 b	4.599,7 b	4,1	ENR
L33	4.020,7 c	3.714,0 c	3,4	NENR
L34	4.260,0 c	3.928,6 b	3,7	ENR
L35	4.475,3 b	4.135,8 b	3,8	ENR
L36	3.746,4 c	3.474,2 c	3,0	NENR
L37	4.291,9 c	3.949,9 b	3,8	ENR
L38	4.553,1 b	4.202,1 b	3,9	ENR
L39	4.879,9 b	4.502,0 b	4,2	ENR
L40	3.719,5 c	3.439,1 c	3,1	NENR
L41	3.203,9 c	2.712,2 c	5,5	NENR
L42	3.506,7 c	3.235,9 c	3,0	NENR
DKB 330	4.265,1 c	3.929,5 b	3,7	ENR
BRS 1060	4.835,0 b	3.945,0 b	9,9	ER
BRS Sol da Manhã	4.482,7 b	4.403,1 b	3,9	ENR
BRS 206	3.938,4 c	3.687,6 c	2,8	NENR
CD 355	4.787,0 b	4.149,4 b	7,1	ER
AG 5011	6.153,1 a	5.206,3 a	10,5	ER
BRS 205	6.163,5 a	5.504,1 a	7,3	ER
Média	4.241,6	3.889,2		

PROD N<sup>+</sup>: Produção em alto N; PROD N<sup>-</sup>: Produção em baixo N; EUN: Eficiência no uso de nitrogênio; ER: eficientes e responsivos; ENR: eficientes e não responsivos; NER: não eficientes e responsivos; NENR: não eficientes e não responsivos

Média seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a (P<0,05).

A produtividade, em ambientes com alto nitrogênio, demonstrou ser um bom indicativo para classificar as linhagens, pois, houve alta coincidência com a classificação (EUN) proposta por Fageria e Kluthcouski (1980). Formando três grupos, o grupo “a” apresenta os genótipos eficientes e responsivos, o grupo “b” apresenta os genótipos eficientes e responsivos e não eficientes e responsivos, e o grupo “c” apresenta os genótipos não eficientes e não responsivos (Tabela 4).

A metodologia proposta por Fageria e Kluthcouski (1980), específica para estresse mineral, identificou 23 genótipos como eficientes no uso do nitrogênio, sendo as 19 linhagens L3, L6, L7, L9, L10, L12, L13, L14, L16, L23, L26, L28, L31, L32, L34, L35, L37, L38 e L39, e 4 testemunhas comerciais BRS 1060, CD 355, AG 5011 e BRS 205, pois apresentaram as maiores médias de produtividade de grãos em baixo nitrogênio e, portanto, estão representados no primeiro e quarto quadrantes (Figura 1).



**Figura 1.** Eficiência no uso e resposta à aplicação de nitrogênio em genótipos de milho, pela metodologia de Fageria e Kluthcouski (1980). Valores de 1 a 42 são as linhagens S3 e de 43 a 49 as cultivares comerciais (testemunhas).

A eficiência desses genótipos em relação aos demais, na absorção e utilização do N na produção de grãos, permite inferir que os processos associados à absorção, translocação, assimilação e redistribuição de nitrogênio são mais eficientes do que nos

demais genótipos. Desta forma, estas linhagens podem vir a constituir um banco de germoplasma visando à obtenção de fontes genéticas para maior eficiência ao nutriente.

Os demais genótipos, por terem apresentado rendimento de grãos inferior a média em ambiente com deficiência de nitrogênio ( $3890 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e também por terem apresentado baixos índices de resposta a aplicação de nitrogênio (inferior a 6) foram considerado como não eficientes e não responsivos, situados então no terceiro quadrante.

Apesar disso, esses genótipos não devem ser descartados, uma vez que apresentou produtividade acima de  $3.000 \text{ kg ha}^{-1}$ , podendo compor o grupo de linhagens elites do programa de melhoramento, a fim de se ter linhagens parcialmente eficientes no uso do nitrogênio, pois quando se trata de estudo de herança para a eficiência ao uso de nutrientes, é importante que se tenha além dos genótipos contrastantes, tenha-se também, genótipos intermediários, pois deste modo, tem-se uma distribuição dos alelos favoráveis a eficiência do uso do nitrogênio.

As linhagens eficientes no uso do nitrogênio apresentaram médias acima de  $3.889 \text{ kg ha}^{-1}$ , sendo que a produtividade variou de  $2.217$  a  $4.599 \text{ kg ha}^{-1}$ . A superioridade dos genótipos EUN, provavelmente, decorre da existência de diferenças adaptativas entre os genótipos avaliados, quanto à produtividade de grãos e à eficiência na absorção do nitrogênio. Deste modo, estas linhagens, possuem potencial para ser utilizadas em programas de melhoramento de milho voltados a pequenos agricultores, ou até mesmo para exploração da heterose, através da obtenção de híbridos eficientes no uso do nitrogênio.

Os três grupos formados pelo teste de Scott-Knott em baixo e alto nitrogênio, comprova a variabilidade existente entre os genótipos avaliados. Entretanto, Segundo Coque e Gallais (2006), em condições de estresse abiótico, ocorrem redução da variabilidade genética e, conseqüentemente, da herdabilidade, pois os genótipos tendem a apresentar desempenhos similares, o que dificulta a seleção.

Fidelis et al. (2007), observaram elevada variabilidade genética para eficiência e uso do nitrogênio entre populações de polinização aberta de milho tropical, obtendo valores de produtividade de grãos variando entre  $2.000 \text{ kg ha}^{-1}$  a  $4.000 \text{ kg ha}^{-1}$ , resultado similar ao deste trabalho. Apesar da reduzida produtividade, quando comparada à obtida em condições ideais de cultivo, os autores concluíram que há variabilidade para seleção de genótipos que apresentem potencial para serem utilizados para pequenos produtores.

Deve-se ressaltar que, as cultivares modernas são desenvolvidos em condições de alta fertilidade de solo, com foco em alta produtividade. Deste modo, é provável que a seleção de genótipos mais responsivos à adubação tenha levado à redução da diversidade alélica associada à tolerância à baixa disponibilidade de nitrogênio (WISSUWA et al., 2009). Neste contexto, o germoplasma selecionado em condições ótimas de cultivo geralmente não é adequado para ser utilizado em condições de estresse abiótico. Sousa et al. (2008), afirmaram que isso ocorre, devido, parte dos genes que controlam a produtividade de grãos em condições de estresses abióticos é diferente daqueles que controlam em condições ótimas de cultivo.

A existência de variabilidade genética entre os genótipos para o caráter produtividade de grãos pode ser ratificada pelas estimativas dos parâmetros genéticos (Tabela 5).

**Tabela 5.** Estimativas da variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_F^2$ ), da variância genotípica ( $\hat{\sigma}_G^2$ ), da herdabilidade com base na média de famílias ( $\hat{h}_x^2$ ), do coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ), coeficiente de variação ambiental ( $CV_e$ ) e do índice de variação ( $\hat{I}_v$ ) para produtividade de grãos ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) nos três locais e nos dois níveis de nitrogênio.

Ambientes	$\hat{\sigma}_F^2$	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{h}_x^2$	$CV_g$	$CV_e$	$\hat{I}_v$
DDOS N <sup>+</sup>	896,922.32	732,988.38	81,72	18,93	12,66	1,49
DDOS N <sup>-</sup>	758,023.84	618,554.04	81,60	19,23	12,91	1,48
GDDOS N <sup>+</sup>	575,906.62	103,966.20	18,05	8,04	18,05	0,33
GDDOS N <sup>-</sup>	562.885,51	124,726.56	22,16	9,43	25,00	0,37
LAGCAR N <sup>+</sup>	179,788.04	365,609.67	49,17	10,10	14,52	0,69
LAGCAR N <sup>-</sup>	6,734.00	321,853.49	54,79	14,78	18,99	0,77

DDOS N<sup>+</sup>: Dourados alto N; DDOS N<sup>-</sup>: Dourados baixo N; GDDOS N<sup>+</sup>: Gloria de Dourados alto N; GDDOS N<sup>-</sup>: Gloria de Dourados baixo N; LAGCAR N<sup>+</sup>: Laguna Carapã alto N; LAGCAR N<sup>-</sup>: Laguna Carapã baixo N.

Pode-se observar que as estimativas da variância fenotípica para o nível alto N nos três locais foram sempre maiores que as estimativas para o nível baixo N. Isso evidencia claramente que os genótipos expressaram maior variabilidade em ambientes favoráveis. As herdabilidades no ambiente de Dourados nas duas condições de disponibilidade de nitrogênio foram superiores a 80%, o que indica que a avaliação dos genótipos nesse local torna-se eficiente, uma vez que a avaliação dos genótipos em ambientes favoráveis é uma etapa importante para a seleção de genótipos tolerantes ao N.

Nos demais ambientes a herdabilidade variou de 18,05 a 54,79, Do Vale et al. (2011), citam que a seleção para caracteres que apresentam alta herdabilidade e controle genético, principalmente do tipo aditivo, poderá ser realizada pelo desempenho individual, ou seja, desempenho *per se* das linhagens. Quando o caráter for de baixa herdabilidade ou apresentar herança devida a genes de efeitos não aditivos, a seleção dos genótipos deverá ser realizada com base no desempenho em híbridos

Avaliando os CVE para a produtividade de grãos nos ambientes isoladamente, observa-se que, no geral, uma boa precisão experimental para todas as variáveis nos dois níveis de N. Exceto em Glória de Dourados (GDDOS) em baixo N, todas as estimativas de CVE foram abaixo de 20%, sendo esse fato importante para que tenha uma maior confiabilidade nas informações experimentais (Tabela 5).

Vale ressaltar que em todos os ambientes o coeficiente de variação 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 comum 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. Valores de CVE, mais elevados ocorre devido à média entrar como denominador na equação que estima o coeficiente de variação experimental. Maiores valores do coeficiente de variação em ambientes com estresse a nitrogênio, também foram relatados por Soares et al. (2011).

### **Divergência genética**

Como não houve efeito significativo para interação genótipos x ambientes para a maioria dos caracteres, incluindo a produtividade de grãos (Tabela 2). Na avaliação da divergência genética entre as linhagens foram utilizadas os valores da análise conjunta envolvendo a média dos seis ambientes.

Os caracteres que mais contribuíram para a diversidade genética foram o peso de espiga PE (22,77%), produtividade de grãos PROD (16,43%), altura de espiga AE (15,12%) e teor de clorofila Clor (14,81) (Tabela 6). Indicando a existência de maior variabilidade genética para estes caracteres no germoplasma estudado. Já Rotili et al.(2012), estudando a divergência genética em milho concluíram que as características produtividade e comprimento de espiga foram as que mais e menos, respectivamente, contribuíram na diversidade genética das populações.

**Tabela 6.** Contribuição relativa de cada caráter para a dissimilaridade genética ( $S_j'$ ) em 42 linhagens parcialmente endogâmicas S3 de milho.

Variável	$S_j'$	%	% acumulada
Clor	1004,42	14,81	14,81
AE	1025,09	15,12	29,93
AP	537,37	7,92	37,86
DE	938,40	13,84	51,70
CE	616,70	9,09	60,80
PE	1543,99	22,77	83,57
PROD	1114,03	16,43	100,000

Clor: teor de clorofila; AE: altura de espiga (cm); AP: altura de planta (cm); DE: diâmetro de espiga (cm); CE: comprimento de espiga (cm); PE: peso de espiga (g) e PROD: produtividade de grãos ( $\text{kg ha}^{-1}$ ).

Pode se observar ainda em relação à contribuição relativa de cada caráter, que as variáveis altura de planta (AP) e comprimento de espiga (CE), tiveram baixo poder de divergência entre as progênies, mesmo apresentando uma heterogeneidade entre as progênies avaliadas, formando dois grupos distintos pelo teste de agrupamento de Scott-Knott (Tabela 7).

**Tabela 7.** Médias das sete variáveis avaliadas em 42 linhagens parcialmente endogâmicas S3 de milho, para o teor de clorofila (CLOR), altura de espiga (AE), altura de planta (AP), diâmetro de espiga (DE), comprimento de espiga (CE), peso de espiga (PE) e produtividade de grãos (PROD).

	CLOR	AE	AP	DE	CE	PE	PROD
L1	44,82 b	81,02 b	186,53 b	43,82 a	16,14 b	167,03 a	3458,77 b
L2	44,43 b	86,89 a	183,64 b	42,15 b	16,68 a	159,15 a	4024,40 a
L3	44,33 b	88,12 a	188,11 a	42,65 b	17,29 a	176,27 a	4135,69 a
L4	44,72 b	83,74 b	176,73 b	46,34 a	16,80 a	181,64 a	3513,76 b
L5	36,69 b	96,41 a	184,95 b	42,05 b	15,89 b	109,33 b	3381,25 b
L6	43,53 b	68,53 b	163,72 b	41,43 b	15,33 b	135,36 b	4280,26 a
L7	43,57 b	94,45 a	181,56 b	42,87 b	16,19 b	145,47 b	4503,50 a
L8	49,76 a	82,65 b	175,10 b	41,51 b	16,13 b	123,20 b	3148,43 b
L9	45,08 b	107,06 a	195,90 a	46,43 a	16,80 a	184,10 a	4645,15 a
L10	46,81 a	87,69 a	198,42 a	44,79 a	15,92 b	179,83 a	4422,23 a
L11	47,25 a	91,51 a	183,09 b	42,17 b	16,35 b	153,70 b	3525,79 b
L12	46,91 a	91,17 a	184,91 b	44,69 a	15,58 b	172,70 a	4189,08 a
L13	48,02 a	78,55 b	181,33 b	45,35 a	15,93 b	200,00 a	4499,22 a
L14	48,41 a	91,31 a	190,23 a	41,08 b	16,33 b	133,00 b	4110,69 a
L15	41,97 b	93,59 a	192,00 a	42,94 b	16,63 a	136,16 b	3286,65 b
L16	49,84 a	91,83 a	191,06 a	45,26 a	16,99 a	174,65 a	4712,53 a
L17	48,08 a	93,00 a	196,00 a	44,71 a	17,39 a	179,41 a	4010,70 a
L18	44,65 b	81,37 b	174,83 b	43,06 b	14,87 b	143,87 b	3684,01 b
L19	46,09 a	87,06 a	173,18 b	42,62 b	15,52 b	162,43 a	3836,10 b
L20	48,53 a	89,12 a	188,42 a	44,93 a	17,83 a	168,82 a	4004,55 a
L21	49,76 a	89,06 a	181,55 b	44,22 a	16,15 b	169,20 a	3286,02 b
L22	48,61 a	81,38 b	181,41 b	42,55 b	16,53 b	154,64 b	3773,26 b
L23	49,21 a	78,45 b	172,14 b	45,44 a	16,78 a	177,22 a	4576,94 a
L24	47,17 a	95,31 a	199,93 a	42,70 b	17,42 a	163,83 a	3696,36 b
L25	47,35 a	95,75 a	199,63 a	41,61 b	16,72 a	166,91 a	3861,56 b
L26	47,88 a	90,60 a	191,24 a	45,96 a	17,55 a	174,61 a	4370,35 a
L27	44,47 b	75,29 b	173,47 b	41,33 b	15,44 b	134,63 b	3547,28 b
L28	48,98 a	90,63 a	182,06 b	44,62 a	16,24 b	157,54 b	4132,59 a
L29	46,77 a	77,17 b	180,20 b	45,01 a	18,61 a	174,94 a	3708,76 b
L30	42,28 b	86,14 a	202,88 a	41,68 b	14,66 b	140,71 b	3964,79 a
L31	46,83 a	95,01 a	206,59 a	44,29 a	16,40 b	182,78 a	4430,64 a
L32	50,02 a	86,28 a	193,44 a	43,78 a	18,21 a	187,76 a	4782,53 a
L33	49,27 a	77,85 b	173,02 b	43,93 a	15,91 b	162,77 a	3867,34 b
L34	45,94 a	89,84 a	184,64 b	43,30 b	16,89 a	156,19 b	4094,32 a
L35	40,58 b	95,04 a	204,43 a	41,58 b	16,15 b	148,44 b	4305,56 a
L36	47,71 a	109,7 a	215,06 a	42,97 b	17,84 a	151,47 b	3610,33 b
L37	46,05 a	94,16 a	196,66 a	42,82 b	16,93 a	172,33 a	4120,89 a
L38	42,14 b	97,22 a	189,79 a	42,24 b	16,94 a	156,45 b	4377,58 a
L39	46,35 a	71,85 b	173,82 b	44,07 a	18,43 a	155,48 b	4690,97 a
L40	49,51 a	85,14 b	182,95 b	42,35 b	16,76 a	154,17 b	3579,30 b
L41	50,48 a	78,24 b	191,79 a	39,24 b	16,51 b	126,45 b	2958,05 b
L42	45,85 a	75,50 b	185,67 b	41,49 b	16,50 b	131,35 b	3506,7 b

Médias seguidas pela mesma letra, pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o teste de Scott-Knott, ( $P < 0,05$ ).

A utilização do método de otimização de Tocher, fundamentado na dissimilaridade, expressa pela distância de Mahalanobis ( $D^2$ ), possibilitou a formação



de treze grupos distintos, sendo que o grupo cinco agrupou o maior número de linhagens. Entretanto, ocorreu uma certa distribuição das linhagens dentro de cada grupo, sendo que a maioria dos grupos formados apresentaram no mínimo 3 genótipos. Os grupos XII e XIII foram formados por progênies individuais (Tabela 8).

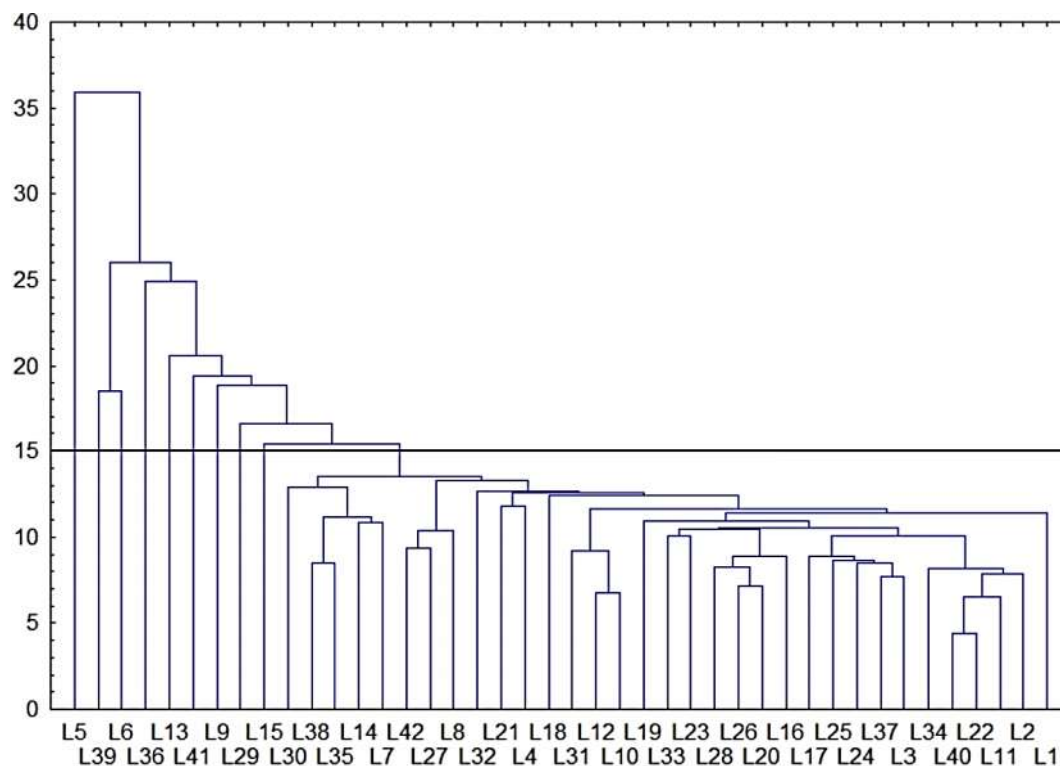
**Tabela 8.** Agrupamento de 42 linhagens parcialmente endogâmicas S3 de milho pelo método de otimização de Tocher aplicado à matriz das distâncias generalizadas de Mahalanobis ( $D^2$ ).

Grupos	Genótipos						
I	L2	L9	L29				
II	L3	L17	L25	L38			
III	L5	L33	L23	L22	L4		
IV	L6	L41					
V	L11	L31	L32	L37	L39	L19	L24
VI	L16	L21	L14	L26	L13		
VII	L27	L30	L36	L28			
VIII	L8	L34					
IX	L7	L20					
X	L12	L40	L1	L42			
XI	L18	L35					
XII	L10						
XIII	L15						

A identificação de genótipos superiores com base na divergência genética é a estratégia mais adequada para um programa de melhoramento. Neste caso, é mais efetivo realizar cruzamentos entre as progênies parcialmente endogâmicas com alto potencial produtivo e pertencente a grupos distintos para, deste modo, maximizar a heterose. Entretanto, se houver a necessidade de se optar entre genótipos com média de produção intermediária e ampla diversidade ou outros com alta produção e diversidade intermediária, deve prevalecer a última opção (Miranda et al., 1999).

Com base nas distâncias multivariadas entre as 42 linhagens parcialmente endogâmicas de milho utilizadas foi realizada a análise de agrupamento da distância média entre grupos UPGMA (Figura 1), a partir da matriz de dissimilaridade. Com base

no corte no dendrograma, em 37% de dissimilaridade, foi observada a formação de dez grupos. A menor dissimilaridade foi entre L40 e L22 e a maior dissimilaridade foi encontrada obtida pela L5 e L22 ou L40 (Figura 2).



**Figura 2.** Dendrograma representativo da dissimilaridade genética entre as 42 linhagens parcialmente endogâmicas S3 de milho, obtidas pela ligação média entre grupos (UPGMA), utilizando a distância generalizada de Mahalanobis como medida de dissimilaridade. Correlação cofenética (0,82\*\*).

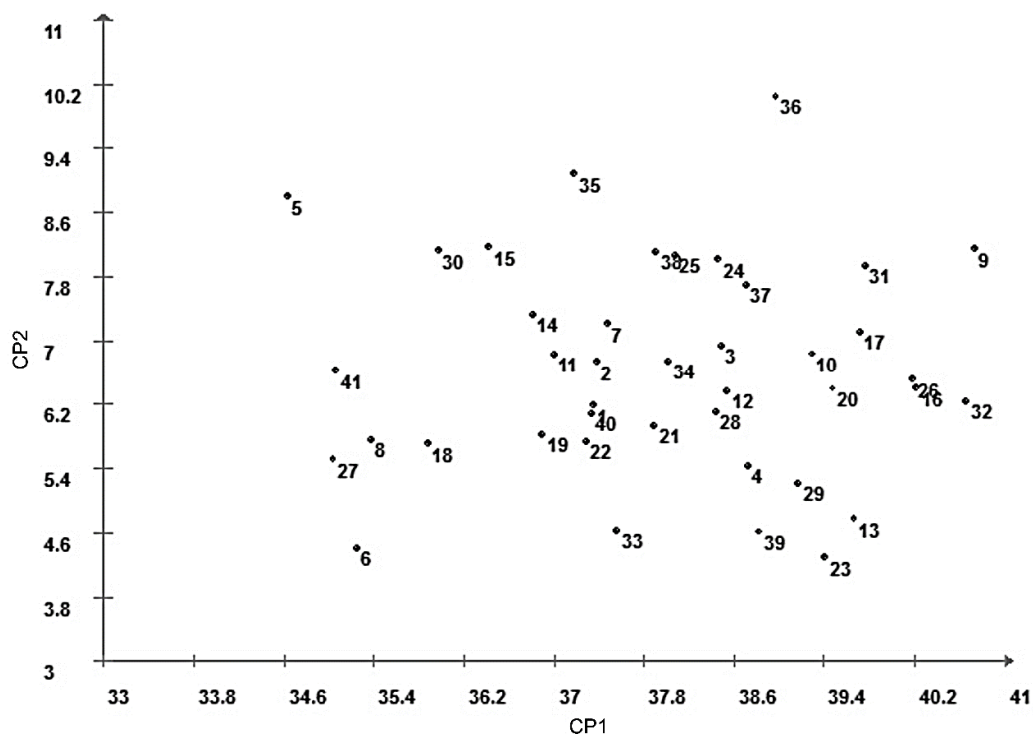
Este resultado é um indicativo de que hibridações entre esses indivíduos podem acarretar em geração de progênies muito similares, com base genética muito estreita de modo a inviabilizar os ganhos a serem obtidos pela heterose. Entretanto, dependendo da estratégia e objetivo do programa de melhoramento, pode-se utilizar esse tipo de cruzamento, considerado convergente, para facilitar o trabalho dos melhoristas na seleção de linhagens superiores em menor tempo, quando estas possuem desempenho superior em importantes características agrônômicas, tais como potencial produtivo.

Observa-se que dos dez grupos formados, nove possuem apenas um genótipo e os demais foram agrupados em apenas um grupo. Este resultado permite inferir que a hibridação entre os grupos com apenas um indivíduo podem possibilitar a maior heterose. Outra estratégia eficaz para início de um programa de melhoramento seria um

*testecross* utilizando um testador de base estreita e outro de base ampla, possibilitando assim nortear o programa.

O Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC) obtido foi de 0,82 e significativo ( $p < 0,01$ ) pelo teste t, o que representa um bom ajuste entre a matriz cofenética e a matriz de dissimilaridade construída com base na distância generalizada de Mahalanobis. Tal coeficiente, de acordo com Sokal e Rohlf (1962), indica boa confiabilidade dos agrupamentos estabelecidos.

Os dois primeiros componentes principais explicaram 89% da variação total (Figura 3), o que permite o estudo da dissimilaridade genética no espaço bidimensional, conforme critério adotado por Cruz e Regazzi (1997).



**Figura 3** - Dispersão de escores de 42 linhagens parcialmente endogâmicas S3 de milho em relação aos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2), tendo como base a avaliação de sete variáveis morfoagronômicas.

Observa-se que mesmo explicando uma grande proporção da variação (89%), os primeiros componentes principais não foram eficientes em agrupar de forma clara as progênies parcialmente endogâmicas. Porém pode-se perceber a individualização das linhagens L5, L36, L9, L6 e parcialmente a L41. Deste modo, estes genótipos são, portanto, os mais indicados na combinação híbrida nas etapas iniciais de um programa

de melhoramento, esperando-se que, devido à divergência genética, haja uma produção de híbridos de maior efeito heterótico, de maneira a elevar as chances de combinações gênicas favoráveis, que permitam a seleção de genótipos superiores.

Ainda que os métodos de agrupamento empregados sejam diferentes pode-se observar a existência de certa similaridade na formação dos grupos individuais entre o dendrograma e os componentes principais. De um modo geral, embora cada técnica de agrupamento formaram diferentes tamanhos e quantidade de grupos heteróticos, houve uma certa dissimilaridade para 5 genótipos nas técnicas, sendo que as maiores dissimilaridades foram encontradas pelas L5, L36, L9, L6 e L41, revelando a existência de uma maior divergência genética para essas linhagens. Diante disso, o cruzamento dirigido ocasionara maior ganho genético.

## 5. CONCLUSÕES

As linhagens parcialmente endogâmicas S3 apresentaram variabilidade genética para produtividade de grãos em baixa disponibilidade de nitrogênio.

As linhagens L3, L6, L7, L9, L10, L12, L13, L14, L16, L23, L26, L28, L31, L32, L34, L35, L37, L38 e L39, apresenta potencial para serem exploradas como fonte de germoplasma visando à obtenção de híbridos tolerantes a baixas disponibilidades de nitrogênio.

A utilização das três técnicas de agrupamento possibilitou a individualização das linhagens L5, L36, L9, L6 e L41, que mesmo alterando a técnica, esses genótipos apresentaram a maior dissimilaridade.

O dendograma possibilitou a formação de dez grupos e o cruzamento dirigido entre as linhagens L5, L6, L39, L36, L13, L41, L29, L15 e L9 com as demais linhagens propiciaria elevado potencial produtivo e aumento na probabilidade de recuperar genótipos superiores nas gerações segregantes.

## 6. REFERÊNCIAS

- ALMEKINDERS, C. J. M.; ELINGS, A. Collaboration of farmers and breeders: Participatory crop improvement in perspective. **Euphytica, Wageningen**, v. 122, p. 425-438, 2001
- AMORIM, E. P., E SOUZA, J. C. D. Híbridos de milho inter e intrapopulacionais obtidos a partir de populações S0 de híbridos simples comerciais. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 561-567, 2005.
- ANDRADE, A. C.; FONSECA, D. M. da; QUEIROZ, D. S.; SALGADO, L. T.; CECON, P. R. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetumpurpureum* Schum. cv. Napier). **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, Especial ed., p.1643-1651, 2003.
- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.
- ATLIN, G.N.; FREY, K.J. Breeding crop varieties for low-input agriculture. **American Journal of Alternative agriculture**, V.4, n.2, p. 53-58, 1989.
- BALIGAR, V.C.; BENNETT, O.L. NPK-fertilizer efficiency -a situation analysis for the tropics. **Fertilizer Research**, Dordrecht, v.10, p.147-164, 1986
- BÄNZIGER, M. BETRÁN, F. J. LAFITTE, H. R. Efficiency of high-nitrogen selection environments for improving maize for low-nitrogen target environments. **Crop Science**, v. 37, p.1103-1109, 1997.
- BERTIN, P.; GALLAIS, A. Genetic variation for nitrogen use efficiency in a set of recombinant maize inbred line I. **Agrophysiological Results**. *Maydica*, v. 45, n. 01, p. 53-66. 2000.
- BLAIR, G. J. Nutrient efficiency: what do we really mean. In: RANDALL, P. J.; DELHAIZE, E.; RICHARD, R. A.; MUNNS, R. Genetic aspects of plant mineral nutrition. Dordrecht: Kluwer Academic, p. 205-213, 1993.

- BORÉM, A. **Hibridação artificial de plantas**. 2ª ed. Viçosa: UFV, 2009. 625p.
- BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C.M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria. v.30, p.365-372, 2000.
- BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry and molecular biology of plants**.Rockville: American SocietyofPlantPhysiologists, 2000. 1367p
- BÜLL, L.T. Nutrição mineral do milho. In: BULL, L.T.; CANTARELLA, H. (eds) Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade.Piracicaba: POFAFOS, 1993. p. 63-145
- CARVALHO, A. D. F.; SOUZA, J. C.; RAMALHO, M. A. P.; Capacidade de Lmcombinação de progênies parcialmente endogâmicas obtidas de híbridos comerciais de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.3, n.3, p.429-437, 2004.
- CARVALHO, A. D. F.; SOUZA, J. C.; RIBEIRO, P. H. Desempenho de híbridos de linhagens parcialmente endogâmicas de milho em regiões dos Estados de Roraima e Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.8, p.985-990, 2003.
- CATAPATTI, T. R. et al. Tamanho de amostra e número de repetições para avaliação de caracteres agronômicos em milho-pipoca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 855-862, 2008.
- CHIORATO, A. F. **Divergência genética em acessos de feijoeiro (*Phaseolusvulgarisl.*) do banco de Germoplasma do instituto agrônômico-IAC**. 85f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Melhoramento Vegetal) Instituto Agrônômico de Campinas. 2004.
- COELHO, A. M.; FRANÇA, G. C.; BAHIA, A.F.C & GUEDES, G.A. Doses e métodos de aplicação de fertilizantes nitrogenados na cultura do milho sob irrigação. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa. v. 16, p.61-67, 1992.
- COIMBRA, R. R.; MIRANDA, G. V.; CRUZ, C. D.; MELO, A. V de.; ECKER, F. R.; Caracterização e divergência genética de populações de milho resgatadas do Sudeste de Minas Gerais. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 41, n. 1, p. 159-166, 2010.
- COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. **Central de informações agropecuárias: safra/grãos**. Disponível em:<<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 04 Maio. 2014.

COQUE, M.; GALLAIS, A. Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v.112, p.1205-1220, 2006.

CRUZ, C. D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**.1990. 188p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.1990.

CRUZ, C. D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta ScientiarumAgronomy**, v.35, p.271-276, 2013.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 3.ed. Viçosa:UFV, 2004. v.1. 480p

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético. 2.ed. Viçosa: UFV, 2003. 585 p

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.Viçosa: UFV, 2001. v.2. 390

CRUZ, C. D.; CARVALHO, S. P.; VENCOSKY, R. Estudo sobre divergência genética. In. Eficiência da predição do comportamento de híbridos com base na divergência de progenitores. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 41, n. 234, p. 183-190, 1994.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Editora da UFV, 1997. 390 p.

DIAS, L.A.S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, L.C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: Editora UFV, 1998. p.405-75

DO VALE, J. C.; DELIMA, R.; FRITSCHÉ-NETO, R.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento para eficiência no uso do nitrogênio**. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (Eds.) Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos. Visconde do Rio Branco, Editora Suprema. p.81-99, 2011.



FAGERIA, N. D.; KLUTHCOUSKI, J. **Metodologia para avaliação de cultivares de arroz e feijão para condições adversas de solo**. Brasília: Embrapa-CNPAP, 1980.

FERNANDES, L.A.; FURTINI NETO, A.E.; VASCONCELLOS, C.A. & GUEDES, G.A.A. Preparo do solo e adubação nitrogenada na produtividade do milho em Latossolosob vegetação de Cerrado. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, 22:247-254, 1998.

FERREIRA, E. A.; PARTENIANI, M. E. A. Z.; DUARTE, A. P.; GALLO, P. B.; SAWAZAKI, E.; AZEVEDO FILHO, J. A.; GUIMARAES, P. S.; Desempenho de híbridos *topcrosses* de linhagens S<sub>3</sub> de milho em três locais do Estado de São Paulo. **Revista Bragantia**, Campinas. v. 68, n.2, p. 319-327, 2009.

FERREIRA, D.F. Estatística Multivariada. Lavras. Editora UFLA, 2008.

FIDELIS, R. R.; MIRANDA, G. V.; SANTOS, I. C.; 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, 2007.

FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. (Eds.) **Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos**. Visconde do Rio Branco, Editora Suprema. p.81-99, 2011.

GARCIA, J.C.; Evolução da área e produtividade do milho safrinha por estado. IV seminário sobre a cultura do milho safrinha. 1997. EMBRAPA, Sete Lagoas-MG.

GONÇALVES, L. S. A. Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. **Genetics and Molecular Research**, v. 07, n. 04, p. 1289-1297, 2008.

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

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B.; **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468p.

HEINZ, R., MOTA, L. H. S.; GONÇALVES, M. C.; VIEGAS NETO, A. L.; CARLESSO, A.; Seleção de progênies de meio-irmãos de milho para eficiência no uso de nitrogênio. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 4, p. 731-739, 2012

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. *Applied Multivariate Statistical Analysis*. New Jersey, USA: Englewood Cliffs, 642p. 1992.

LOPES PAIXÃO, S.; CAVALCANTE, M.; FERREIRA, P. V.; MADALENA, J. A. da S.; PEREIRA, R. G. Divergência genética e avaliação de populações de milho em diferentes ambientes no estado de Alagoas, **Caatinga**, Mossoró, v.21, n.4, p.191-195, 2008.

MACHADO, A. T. **Perspectivas do melhoramento genético em milho (*Zeamays*L.) visando eficiência na utilização do nitrogênio**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 1997. 217p. Tese de Doutorado.

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, 2002.

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

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2009, 486p.

MATOS FILHO, C. H. A. Potencial produtivo de progênies de feijão-caupi com arquitetura ereta de planta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 02, p. 348-354, 2009

MEDINA, S. A. V. **Avaliação de híbridos simples de milho (*Zea mays* L.) obtidos de linhagens com diferentes graus de endogamia**. 1990. 210 f. Dissertação (Mestrado) Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

MIRANDA, G. V.; GODOY, C. L.; GALVÃO, J. C. C.; SANTOS, I. C.; ECKERT, F. R.; SOUZA, L. V. Selection of discrepant maize genotypes for nitrogen use efficiency

by a chlorophyll meter. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 05, p. 451-459, 2005.

MIRANDA, G.V.; COIMBRA, R.R.; GODOY, C.L.; SOUZA, L.V.; GUIMARÃES, L.J.; MELO, A.V. Potencial de melhoramento e divergência genética de cultivares de milho-pipoca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 6, p. 681-688, 2003.

MIRANDA, G.V.; COELHO, A.D.F.; SHIMOYA, A.; COIMBRA, R.R.; SANTOS, I.C.; Divergência genética de linhagens de feijão-mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Revista Ceres*. UFV. 1999.

MIRANDA FILHO, J. B.; VIÉGAS, G. P. Milho híbrido. In: PARTENIANI, E.; VIÉGAS, G. P. (Eds.). **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, v. 1, p. 275-340, 1987.

MOLL, R.H.; KAMPRATH, E.L.; JACKSON, A. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, p. 562- 564, 1982.

PASSOS, A. R.; SILVA, S. A.; CRUZ, P. J.; ROCHA, M. de M.; CRUZ, E. M. O.; ROCHA, M. A. C.; BAHIA, H. F.; SALDANHA, R. B. Divergência genética em feijão-caupi. *Bragantia*, Campinas, v.66, n.4, p.579-586, 2007.

PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; DEL PELOSO, M. J.; FARIA, L. C.; COSTA, J. G. C.; DÍAZ, J. L. C.; RAVA, C. A.; WENDLAND, A. Comparação de métodos de análise de adaptabilidade e estabilidade fenotípica em feijoeiro comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.4, p.374-383, 2009.

RAUN, W.R.; JOHNSON, G.V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. **Agronomy Journal**, v.91, p.357-363, 1999.

RIBEIRO, P. H. E.; RAMALHO, M. Ver P. R.; FERREIRA, D. F.; Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho em diferentes condições ambientais do estado de Minas Gerais. In: **Reunião Latinoamericana Del Maíz**, 18. 1999. Sete Lagoas – MG. Memórias..Sete Lagoas – EMBRAPA -1999.684 p.

RINALDI, D.A.; PIPOLO, V.C.; GRAGE, A.C.; RUAS, C.F.; JUNIOR, N.S.F.; SOUZA, A.; SOUZA, S.G.H.; GARBUGLIO, D.D. Correlação entre heterose e 52divergência genética estimadas por cruzamentos dialélicos e marcadores moleculares RAPD em populações de milho-pipoca. **Bragantia**, Campinas, 66:183-192, 2007.

RIOS, S.A.;BOREM, A.; GUIMARAES, P. E.O.; PAES, M.C.D.; **Diversidade genética e influência da aplicação de herbicidas pós-emergentes na composição de carotenoides em grãos de milho**. Viçosa, 2010. 67 p. Tese Dissertação (Doutorado)- Universidade Federal de Viçosa.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. Resposta da cultura do milho a aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In.: **Congresso Nacional de Milho e Sorgo**,18, 2010. Goiânia. Resumos... Goiânia: Anais do Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010.

ROTILI,E.A.; CANCELLIER, L.P.; DOTTO, M.A.; PELUZIO, J.M.; CARVALHO, E.V.;Divergência genética em genótipos de milho, no estado do Tocantins. **Rev. Ciênc. Agron.** vol.43 no.3 Fortaleza. 2012.

SANGOI, L. Rendimento de grãos e margem bruta de cultivares de milho com variabilidade genética contrastante em diferentes sistemas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria,v.36, n. 03, p. 747-755, 2006.

SILVA, A. M. Interação genótipo x ambiente e estabilidade fenotípica de cana-de-açúcar em ciclo de cana de ano. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.1, p.109-117, 2008.

SILVA, E. F. DA.; MARCHETTI, M. E.; SOUZA, L. C. F.; MERCANTE, F. M.; RODRIGUES, E. T.; VITORINO, A. C. T. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobiumtropicum* associada á exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio. **Revista Bragantia**, v.68, p.443-451, 2009.

SILVA, R. M.; MIRANDA FILHO, J. B. Heterose em cruzamentos entre populações de milho: peso de espigas. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, 2003.

SILVEIRA, F. T.; MORO, J. R: Utilização de linhagens parcialmente endogâmicas S3 para a obtenção de híbridos simples de milho. **Revista Biociências**, Porto Alegre, v. 15, n. 2, 2009.

SOARES, M. O.; MIRANDA, G. V.; GUIMARÃES, L. J. M.; MARRIEL, I. E.; E GUIMARÃES, C. T. (2011). Parâmetros genéticos de uma população de milho em níveis contrastantes de nitrogênio. **Revista Ciência Agronômica**, v.42, n.1, 168-174, 2011.

SOUZA, L. V.; MIRANDA, G. V.; GALVÃO, J. C. C.; ECKERT, F. R.; ANTOVANI, E. E.; LIMA, R. O.; GUIMARÃES, L. J. M. Genetic control of grain yield and nitrogen use efficiency in tropical maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Dourados, v. 43, n. 11, .517-1523, 2008.

SZELÉS, A. The Indication of Nitrogen deficiency In Maize Growing Using Spad-502 Chlorophyll Meter. **Cereal Research Communications**, v. 35, n. 02, p. 1149-1152, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3.ed, Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

IUSDA, Department of Agriculture\_\_\_\_, Agricultural Statistics (Washington: USDA, 2014).

WISSUWA, M.; MAZZOLA, M.; PICARD, C. Novel approaches in plant breeding for rhizosphere-related traits.**Plant Soil**,n.321, v.2, 409–430, 2009.