

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

**PROGRESSO GENÉTICO E CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR
EM HÍBRIDOS DE MILHO PROVENIENTES DE DIFERENTES PROGRAMAS
DE MELHORAMENTO GENÉTICO**

NORYAM BERVIAN BISPO
ENGENHEIRA AGRÔNOMA (UPF)

Dissertação apresentada como um dos
requisitos à obtenção do grau de
Mestre em Fitotecnia
Área de Concentração Plantas de Lavoura

Porto Alegre (RS), Brasil
Julho, 2007

DEDICATÓRIA

Ao meu grande inspirador, a pessoa que sempre me fez acreditar que o meu futuro seria no mínimo, do tamanho dos meus sonhos... Ao Eng Agr Mayron R. Furtado Bispo, meu pai, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Deus...

Ao meu pai pela ajuda e esclarecimento durante a condução dos experimentos a campo, e pelo apoio financeiro durante esses anos.

Ao meu exemplo de vida, exemplo de força e dignidade, a pessoa que estava sempre lá nos meus momentos de angústia, me dando força e coragem para continuar... à minha mãe, Maria de Lourdes, serei eternamente grata, não só por ter me dado a vida, mas por ser esta maravilhosa mãe e amiga em todos os momentos.

Às minhas irmãs, Mayara, Noara Tammy e Mayllu Helenne, por entenderem minha ausência durante esses anos de suas vidas, e por terem me dado muitos momentos de alegria no decorrer deste trabalho.

Ao meu orientador, José Fernandes Barbosa Neto, pelos preciosos ensinamentos, e também pela amizade.

À família Saccardo por ter me fornecido a área para a condução dos experimentos em Sertão, em especial ao Cláudio, por ter me dado grande ajuda na condução e avaliação dos experimentos, e por ter acreditado no meu trabalho.

Às empresas Agroeste, Syngenta e Pioneer pelo fornecimento das sementes.

À bolsista Carolina Tessele, pela grande ajuda na parte de campo, e principalmente de laboratório, e ao bolsista Álvaro, pelos mesmos motivos.

Aos laboratoristas e técnicos de campo, pela ajuda nos experimentos.

À Paula, Tati, Josana, Thanise e Luiz, pela ajuda na condução dos experimentos e principalmente pela amizade. Um agradecimento especial à Josana, que mal sabe como, fez com que minha vida mudasse completamente...

Às amigas Luciana, Greice, Graciane, Fabíola, Paulinha, Grasi, e aos colegas Fabi, Fran, Diva, Everton, Nara, Adriano, Lazzaroto, Emerson, Alexandre, Paulo, Tonon, Márcio e todos aqueles que de alguma forma me ajudaram neste período.

Ao Anderson, pela amizade, companheirismo e pela imensa ajuda no final deste trabalho.

A CAPES pela bolsa concedida durante parte do período de mestrado.

À UFRGS pela oportunidade de realização deste maravilhoso trabalho.

EPÍGRAFE

“Eu já perdoei erros imperdoáveis, tentei substituir pessoas insubstituíveis e esquecer pessoas inesquecíveis. Já fiz coisas por impulso, já me decepcionei com pessoas quando nunca pensei me decepcionar, mas também decepcionei alguém. Já abracei para proteger, já dei risada quando não podia, fiz amigos eternos, amei e fui amado, mas também fui rejeitado, fui amado e não amei. Já gritei e pulei de tanta felicidade, já vivi de amor e fiz juras eternas, e "quebrei a cara" muitas vezes! Já chorei ouvindo música e vendo fotos, já liguei só pra escutar uma voz, me apaixonei por um sorriso, já pensei que fosse morrer de tanta saudade e tive medo de perder alguém especial. Mas vivi! E ainda vivo! Não passo pela vida... Bom mesmo é ir a luta com determinação, abraçar a vida e viver com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, por que o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser insignificante...”

Charles Chaplin

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Origem e domesticação do milho	3
2.2 Milho Híbrido	6
2.3 Diversidade Genética	10
2.4 Progresso Genético	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Avaliação Fenotípica	18
3.2 Avaliação Molecular	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 Caracterização Fenotípica	25
4.2 Progresso genético	41
4.3 Análise Molecular	43
5.0 CONCLUSÕES	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

RELAÇÃO DE TABELAS

- Tabela 1. Descrição dos 15 genótipos de milho utilizados no experimento, empresa detentora, tipo de híbrido, ciclo e ano de lançamento dos mesmos no mercado..... 17
- Tabela 2. Programas utilizados para amplificação no termociclador. Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre – RS, 2007. 22
- Tabela 3. Relação dos 34 *primers* de microssatélites utilizados na análise de polimorfismo. Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre – RS, 2007..... 24
- Tabela 4. Resumo da análise de variância para os caracteres estatura de planta (EST), inserção de espiga (INS), número total de espigas (NTE), número de espigas doentes (NED), florescimento masculino (FLM) e florescimento feminino (FLF). 26
- Tabela 5. Resumo das análises de variância para os caracteres comprimento de espiga (COE), diâmetro de sabugo (DIS), número de fileiras (NFI), profundidade do grão (PRG), peso de 1000 grãos (PGR) e rendimento de grãos (RGR). 28
- Tabela 6. Média dos híbridos nos dois locais e nas duas safras avaliadas, para os caracteres estatura de plantas (EST), inserção da espiga no colmo (INS), florescimento masculino (FLM), florescimento feminino (FLF), número total de espigas (NTE), número de espigas doentes (NED), comprimento da espiga (COE), diâmetro do sabugo (DIS), número de fileiras (NFI), profundidade de grão (PRG), peso de 1000 grãos (PGR), rendimento de grãos (RGR). 30
- Tabela 7. Correlação entre rendimento de grãos (RGR), número total de espigas (NTE), número de espigas doentes (NED), comprimento de espiga (COE), diâmetro de sabugo (DIS), número de fileiras (NFI), peso de 1000 grãos e profundidade de grãos (PRG). 34
- Tabela 8. Resumo das análises de variância para os caracteres número total de espigas (NTE), peso de 1000 grãos (PGR) e rendimento de grãos (RGR). 35
- Tabela 9. Média dos híbridos para o carácter número total de espigas (NTE), nos locais Sertão e EEA/UFRGS, e nos anos de 2005/06 e 2006/07. 36
- Tabela 10. Média dos híbridos para o carácter peso de grão (PGR), nos locais Sertão e EEA/UFRGS, e nos anos de 2005/06 e 2006/07. 37
- Tabela 11. Média dos híbridos para o carácter rendimento de grãos (RGR), nos locais Sertão e EEA/UFRGS, e nos anos de 2005/06 e 2006/07. 38

Tabela 12. Resumo da análise de regressão geral para os caracteres estatura de plantas (EST), número total de espigas (NTE), número de espigas doentes (NED), diâmetro do sabugo (DIS), comprimento da espiga (COE), inserção da espiga no colmo (INS), número de fileiras (NFI), peso de 1000 grãos (PGR), profundidade de grão (PRG), rendimento de grãos (RGR), florescimento masculino (FLM) e florescimento feminino (FLF).	42
Tabela 13. Primers de SSR, locos, número de alelos por loco, tamanho dos alelos e PIC. Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre – RS, 2007.....	45

RELAÇÃO DE FIGURAS

Figura 1. Área, produção e produtividade do milho no Brasil, entre os anos de 1986 a 2006 (CONAB, 2007).....	7
Figura 2. Rendimento médio de grãos de híbridos de milho, avaliado nas safras de 2005/2006 e 2006/2007, e nos locais EEA/UFRGS e Sertão.....	27
Figura 3. Rendimento médio de grãos de cada um dos 15 híbridos utilizados no experimento, avaliado nas safras de 2005/2006 e 2006/2007, e nos locais EEA/UFRGS e Sertão.....	33
Figura 4. Rendimento médio de grãos de híbridos de milho, separado por empresas, avaliado nas safras de 2005/2006 e 2006/2007, e nos locais EEA/UFRGS e Sertão.....	40
Figura 5. Características morfológicas dos híbridos, separados por empresas, avaliado nas safras de 2005/2006 e 2006/2007, e nos locais EEA/UFRGS e Sertão. A: Estatura de planta (cm); B: Inserção de espiga (cm); C: Peso de grão (g); D: Comprimento de espiga (cm); E: Profundidade de grão (cm); F: Número total de espigas.....	41
Figura 6. Similaridade Genética obtida através do Coeficiente de Nei & Li (1979) (SAHN – NTSYS). Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre – RS, 2007...	46

PROGRESSO GENÉTICO E CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR EM HÍBRIDOS DE MILHO PROVENIENTES DE DIFERENTES PROGRAMAS DE MELHORAMENTO GENÉTICO¹

Autora: Noryam Bervian Bispo

Orientador: José Fernandes Barbosa Neto

RESUMO

O milho é uma das culturas que mais evoluiu nos últimos anos. A estimativa do progresso genético que a cultura obteve é importante para a análise de programas de melhoramento. O objetivo deste trabalho foi analisar o progresso genético do milho e a amplitude da variabilidade genética em 15 híbridos lançados em diferentes épocas, provenientes de três diferentes empresas de sementes. Desta forma, foi realizada a caracterização fenotípica e molecular dos híbridos em quatro ambientes e em duas densidades de semeadura. A avaliação fenotípica revelou um ligeiro progresso apenas para o caráter número total de espigas por parcela. Para os demais caracteres avaliados, não foi observado progresso genético evidente. A análise molecular, através de marcadores microsatélites, mostrou que os programas de melhoramento de milho exploram uma grande amplitude de variabilidade genética e que as empresas estão empregando germoplasma distinto, uma vez que o dendograma mostrou um agrupamento conforme as empresas. Os programas de melhoramento observados neste trabalho foram eficientes em produzir híbridos com características agronômicas superiores, como elevado rendimento de grãos, baixa estatura e baixa altura de inserção de espigas.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (53p.) Julho, 2007.

GENETIC PROGRESS AND CHARACTERIZATION PHENOTYPIC AND MOLECULAR IN HYBRIDS OF MAIZE PROCEEDING FROM DIFFERENT BREEDING PROGRAMS²

Author: Noryam Bervian Bispo

Adviser: José Fernandes Barbosa Neto

ABSTRACT

The maize is one of the cultures that more evolved in recent years. The estimate of the genetic progress in the culture is important for the analysis of breeding programs. The objective of this work was to analyze the genetic progress in maize and the amplitude of the genetic variability in 15 hybrids released at different times, proceeding from three different seed companies. Phenotypic and molecular characterization of the hybrids was done in four environments and two plant densities. The phenotypic evaluation showed a progress only for the trait number of ears per plot. For the other evaluated traits, genetic progress was not statistically observed. The molecular analysis, using microsatellites, showed that the maize breeding programs are exploring a large amplitude of genetic variability and that the companies are using distinct germoplasm, since the dendrogram showed an agreement in the grouping of companies. The observed breeding programs in this work had been efficient in producing hybrids with superior agronomic traits, such as high grain yield, low plant height and low ear insertion.

² Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (53p.). July, 2007.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* ssp. *mays*) é uma das espécies mais cultivadas do mundo. É extensivamente utilizado como alimento humano e para ração animal devido às suas qualidades nutricionais. Em geral, possui alto potencial produtivo, e é bastante responsivo às técnicas de manejo. Seu cultivo, geralmente, é mecanizado, sendo beneficiado pelas técnicas modernas de semeadura, tratos culturais e colheita.

O milho é largamente cultivado em diversas regiões do mundo, sendo que são plantados cerca de 150 milhões de hectares de milho no mundo, com uma produção que oscila entre 550 a 580 milhões de toneladas. Os principais produtores de milho no mundo são os Estados Unidos, China, Brasil, México, França, Argentina e Índia. Os Estados Unidos são responsáveis por 25% da área plantada, 40% da produção, 30% do consumo e 70% das exportações. Os países asiáticos - Japão, Coréia e Taiwan, seguidos do México e do Egito são os maiores importadores. O Brasil produz mais de 40 milhões de toneladas de milho por ano, sendo o terceiro país em área plantada (13 milhões de hectares). O estado líder na sua produção no Brasil é o Paraná, seguido de Minas Gerais, Rio Grande do Sul e São Paulo. Hoje, este cereal é cultivado e consumido em todos os continentes e sua produção só perde para a do trigo e do arroz. Os milhos mais semeados são os híbridos, representando cerca de 70 % da área global da cultura (IBGE, 2007).

Ao lado da soja, a cultura de milho está presente na recente expansão da atividade agrícola brasileira. O cultivo de milho é altamente beneficiado pela tecnologia e pelas inovações da pesquisa agrícola. Frequentemente, a área cultivada não é suficiente para atender as demandas do mercado interno brasileiro, gerando problemas de abastecimento para a indústria nacional. A solução para esse problema passa pelo aumento da produtividade das áreas atualmente cultivadas.

A grande diversidade genética adquirida por milhares de anos de domesticação, seleção e melhoramento, permite ao milho uma ampla adaptação de solo e de clima. Devido a este aspecto, o milho hoje é o cereal de maior cobertura geográfica no mundo, sendo cultivado desde o nível do mar até 2.500 metros de altitude e de regiões áridas com índice pluviométrico de 400 mm ano⁻¹ até regiões tropicais com mais de 1.500 mm ano⁻¹.

Atualmente, o mercado brasileiro de sementes dispõe desde variedades de polinização aberta até híbridos simples, que exigem emprego de tecnologia e são de maior custo de produção para as empresas de sementes. O milho obteve grandes avanços no decorrer dos anos de cultivo, principalmente, com a chegada dos híbridos. Assim sendo, torna-se importante estimar o progresso genético existente na cultura e verificar a amplitude da variabilidade genética que está sendo explorada pelo melhoramento genético. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estimar o progresso genético do milho e a amplitude da variabilidade genética em 15 híbridos lançados em diferentes épocas, e provenientes de três diferentes programas de melhoramento genético, através da caracterização fenotípica e molecular dos mesmos em quatro ambientes e em duas densidades de semeadura.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Origem e domesticação do milho

O milho é originado das Américas e foi o principal alimento dos nativos americanos (Poehlman & Sleper, 1995). É uma das principais espécies cultivadas no mundo, tendo sua produção voltada principalmente à alimentação animal. O Brasil é o terceiro produtor mundial de milho, ultrapassado apenas pelos Estados Unidos e pela China (FAO, 2007). Na safra 2006/07 são esperados 35.5 milhões de toneladas de grãos, com uma produtividade média de 3.778 kg ha^{-1} (IBGE, 2007).

A idade estimada do milho é de 11 milhões de anos e o seu surgimento teria sido resultado de um evento de poliploidização que teria ocorrido após a divergência entre sorgo e milho sendo, portanto, considerado um poliplóide antigo (Gaut et al., 2000). Durante muitos anos, acreditava-se que este cereal era diplóide e que tinha evoluído por meio de seleção e através de recombinações entre genótipos (Mangelsdorf, 1974; Galinat, 1977; Goodman, 1987). Entretanto, hoje existem evidências de que o milho possui uma origem alotetraplóide, com $2n = 4x = 20$ cromossomos (Gaut et al., 2000), tendo o número básico de cromossomos de $x = 5$ (Molina et al., 1992; White & Doebley, 1998, Poggio et al., 2000). Conforme Poggio et al. (2000) três descobertas citológicas apóiam esta hipótese: a existência de

pareamento cromossômico durante a meiose de haplóides, a associação secundária de bivalentes e a distribuição tridimensional em metáfases somáticas (onde os cromossomos formam quatro grupos de cinco cromossomos cada).

O milho foi domesticado há mais ou menos 8.000 anos atrás e não é mais capaz de sobreviver em sua forma selvagem (Poehlman & Sleper, 1995). A verdadeira origem do milho ainda não foi completamente elucidada, porém existem alguns trabalhos indicando que seu genitor seja *Zea mays* ssp. *Mexicana* ou *Zea mays* ssp. *Parviglumis*, ambos conhecidos como teosintos (Galinat, 1977; Galinat, 1992; White & Doebley, 1998; Paterniani & Campos, 1999; Wang et al., 1999; Piperno & Flannery, 2001). No entanto, esta gramínea é tão diferente morfológicamente do milho, que por muito tempo foi classificada em um gênero separado (Bered, 2003). Entretanto, com os avanços dos estudos de genética e biologia molecular, hoje há um consenso de que essas duas espécies são bastante próximas.

Estas espécies são suspeitas de terem originado o milho pela presença de alguns caracteres em comum, como o mesmo número de cromossomos ($2n = 20$) e ainda por serem capazes de se cruzarem resultando em descendentes férteis na F_1 (Goodman, 1995). Entretanto, Terra (2004) observou a existência de barreiras em nível genético entre milho e teosinto, o que impediu o desenvolvimento da geração F_2 . Contudo, quando a geração F_1 é retrocruzada com milho, são obtidos descendentes férteis (Almeida, 2003).

Como o teosinto é uma planta selvagem e o milho é conhecido somente como uma espécie cultivada, a interpretação mais relevante é que o milho foi domesticado do teosinto. Provavelmente, as diferenças mais notáveis em suas morfologias foram resultado da seleção humana durante o processo de

domesticação (Doebley et al., 1994; Doebley, 2004). A redução no tamanho de população durante a domesticação deveria ter causado uma diminuição na diversidade genética do milho em relação ao teosinto, sendo que dados de isoenzimas indicam uma perda de cerca de 25% da diversidade genética (Doebley et al., 1990).

Porém, existem várias hipóteses para explicar a origem do milho cultivado (Fundação Cargil, 1978). As especulações são muitas e com vários enfoques diferentes, mas ainda não se pode afirmar que o milho evoluiu a partir desta ou daquela espécie (Withölter, 2005).

O genoma do milho ainda hoje é fonte de grande diversidade fenotípica e molecular. Tanto que, genótipos exóticos e elites de milho contêm mais diversidade que humanos, *Drosophila* e muitas plantas selvagens considerando seqüências de DNA. A seleção seguiu da seguinte forma: alelos favoráveis em locos controlando morfologia de planta e qualidade nutricional do grão foram fixados nos últimos 4.400 anos, e a seleção pelos nativos americanos tornou o milho adaptado a numerosos ambientes (Buckler et al. 2006).

Dessa forma, é importante ressaltar que a domesticação do milho contribuiu efetivamente com o seu desenvolvimento evolutivo, como se a ação humana tivesse, aos poucos, moldado ou até mesmo construído uma espécie através da seleção de características importantes durante milhares de anos, o que resultou em uma espécie de grande importância econômica mundial, porém extremamente dependente do homem (Poehlman & Sleper, 1995).

2.2 Milho Híbrido

George Harrison Shull em 1909 foi quem primeiro sugeriu o método de linhas puras para melhoramento de milho baseado em linhagens obtidas por autofecundações continuadas e o uso de híbridos F_1 entre essas linhagens para a produção de milho comercial. Shull reconheceu que linhagens tinham vantagens sobre variedades de polinização aberta, pois eram homozigotas e poderiam ser usadas não somente pela autofecundação feita com precisão, mas também para reproduzirem híbridos contendo o mesmo genótipo, ano após ano (Allard, 1960).

A introdução do milho híbrido na década de 1920 deu um grande impulso à agricultura moderna (Miranda Filho & Viégas, 1987). Nos Estados Unidos, até a década de 1920, a produtividade de milho girava em torno de 2 ton ha^{-1} , verificada nas variedades de polinização aberta amplamente cultivadas na época (Duvick, 1992). A partir de 1920, mais precisamente 1930, os agricultores passaram a cultivar os chamados híbridos duplos, que foram os primeiros lançados, devido ao custo de produção e aquisição ser mais acessível aos agricultores quando comparado aos híbridos simples. Os híbridos duplos passaram de uma produtividade de 2 ton ha^{-1} em 1930 a em torno de 6 ton ha^{-1} em 1960. A partir desta década, os pesquisadores observaram as vantagens do híbrido simples em produtividade e uniformidade, e passaram a lançar estes para o cultivo dos agricultores. A produtividade que já era considerada satisfatória de 6 ton ha^{-1} alcançou o teto de mais de 15 ton ha^{-1} nos dias de hoje (Duvick, 2001).

No Brasil, também o milho híbrido proporcionou grandes avanços em produção e produtividade nos últimos anos (Figura 1). Entretanto, nota-se que a área plantada desde a década de 1980 não aumentou conforme a produtividade dos milhos. Pode-se inferir que houve um grande aumento em produção e produtividade,

dentro da mesma área, o que deve-se principalmente à introdução do milho híbrido pelos agricultores, e uma conseqüente melhoria nos tratos culturais por eles adotados.

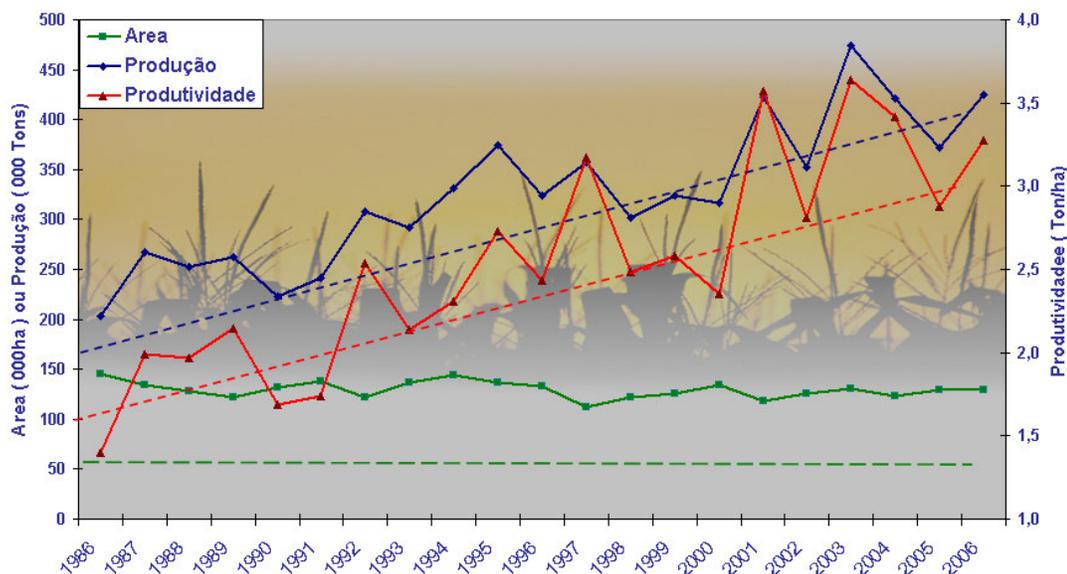


Figura 1. Área, produção e produtividade do milho no Brasil, entre os anos de 1986 a 2006 (CONAB, 2007).

Entretanto, apesar das vantagens que o milho híbrido proporcionou aos agricultores, este também apresentou alguns aspectos negativos. No princípio, as linhagens selecionadas não eram capazes de produzir híbridos tão bons quanto as variedades de polinização aberta, o que desacreditou o cruzamento. Além disso, a semente híbrida era cara. O campo de produção de um híbrido era muito grande e pouco produtivo, pois somente as linhas-mães eram polinizadas e colhidas, sendo que até metade da área era ocupada com o genitor masculino, fornecedor de pólen, reduzindo a produção de semente híbrida por hectare. Ainda, as sementes do híbrido F_1 eram pequenas, muitas vezes defeituosas e em pouca quantidade,

causando problemas na semeadura mecânica, além de apresentarem freqüentemente baixa germinação (Allard, 1960).

O híbrido duplo, sugerido por D.F.Jones em 1918, fez com que o híbrido de milho se tornasse economicamente viável (Allard, 1960). O híbrido duplo é o resultado do cruzamento de dois híbridos simples, o que diminui o custo de produção, já que a semente é produzida em plantas genitoras que são híbridos simples, com maior vigor e produtividade devido a heterose.

Quando o híbrido de milho foi proposto e apresentado aos agricultores norte americanos, foi baseado em duas novas operações, uma biológica e outra sócio-econômica. Primeiro, novas manipulações genéticas (autofecundação forçada e hibridização controlada) produziram produtos biológicos que não haviam existido antes na natureza. Segundo, agricultores abriram mão de guardar suas sementes para a próxima semeadura e passaram a comprá-las anualmente (Duvick, 2001).

Entretanto, os híbridos não foram totalmente responsáveis pelos avanços em rendimento de milho. A partir da década de 1950, o aumento do uso de fertilizantes sintéticos nitrogenados, herbicidas potentes e uma semeadura e colheita mais eficientes com o uso de maquinaria adequada, também contribuíram para rendimentos mais elevados de milho (Duvick, 2001).

Conforme Tollenaar et al. (1994), o aumento no rendimento potencial do milho tem sido atribuído ao lançamento de cultivares com maior vigor híbrido e às modificações nas práticas culturais, tais como melhor controle de pragas, doenças e plantas daninhas, maior utilização de fertilizantes nitrogenados e aumento na densidade de plantas. Da mesma forma, tolerância a altas populações de plantas, aliada com tolerância a outros estresses bióticos e abióticos constituem variáveis determinantes, que contribuem para a melhora da produtividade, afirmaram

Tokatlidis & Koutroubas (2004). Tollenaar & Lee (2002) afirmaram que muito do aumento em rendimento dos híbridos dos Estados Unidos de 1930 a 1990 pode ter sido resultado de um melhoramento genético por uma interação agrônômica de manejo.

Um dos fatores agrônômicos que mais mudou nos últimos anos é a densidade de plantas, que tem aumentado consideravelmente. Trabalhos conduzidos por Tollenaar & Lee (2002), Tokatlidis & Koutroubas (2004), Sangoi et al. (2002) e Sangoi et al. (2006), demonstram que os híbridos contemporâneos de milho são mais tolerantes ao estresse provocado pela alta densidade de plantas do que os híbridos antigos. O aumento da densidade de plantas reflete diretamente na interceptação da radiação fotossinteticamente ativa pelas culturas (Argenta et al., 2001). Isso exerce grande influência na produtividade do milho, quando outros fatores ambientais são favoráveis (Ottman & Welch, 1989).

Outra forma de aumentar a interceptação da radiação é através da redução no espaçamento entre linhas (Argenta et al., 2001). Menores espaçamentos entre linhas permitem melhor distribuição espacial das plantas de milho, aumentando a eficiência na interceptação da luz (Flénet et al., 1996).

Recentes avanços em rendimento de grãos no milho são resultado do aumento da tolerância à estresses de novos híbridos que tem sido obtidos através da seleção para estabilidade de rendimento em ambientes alvo (Tollenaar & Lee, 2002). Gonzalo et al. (2006) afirmaram que a seleção em milho tem ocorrido no contexto do sistema de produção alimentício desde o início do processo de melhoramento da cultura. O advento de híbridos modernos de milho e modernos métodos de melhoramento têm tornado possível ganhos significativos em rendimentos de grãos quando comparados com as variedades de polinização aberta

utilizadas antigamente. Ao mesmo tempo, pesquisas em rendimento potencial e resistência a estresses em milho, combinadas com uma extensiva seleção fenotípica, têm permitido ganhos genéticos no rendimento dos híbridos de milho. Conforme Luque et al. (2006), um aspecto tem sido consistente em muitos estudos de melhoria no rendimento de grãos em milho são os aumentos relacionados principalmente a um maior número de grãos colhidos por unidade de área.

2.3 Diversidade Genética

O acesso e o uso da diversidade genética de uma cultura são a base do melhoramento genético (Laborda et al., 2005). Em milho, um grande e diverso pool gênico permite a manipulação de diferentes genótipos que têm levado a melhorar o comportamento de híbridos em termos de rendimento de grãos, resistência a doenças e outros caracteres agronômicos.

A variação genética presente na espécie é visualizada nas inúmeras raças de milho existentes. Segundo Galinat (1992), pela ampla adaptação geográfica e a ampla distribuição do milho pelos agricultores, este se diferenciou em mais de 300 raças desde a descoberta das Américas por Colombo. A ampla variabilidade genética presente no milho permite que ele seja adaptado aos mais variados ambientes (Paterniani & Campos, 1999). A diversidade genética relacionada a fatores ambientais se deve ao fato de que o milho é cultivado em distintas condições de ambiente, desde o extremo norte ao extremo sul, baixas altitudes até altitudes superiores a 2.500 m (Teixeira et al., 2002).

A diversidade genética presente no milho tem um papel chave para futuros progressos no melhoramento. O desenvolvimento de marcadores moleculares provém uma ferramenta para acessar a diversidade genética no DNA

das espécies de plantas (Reif et al., 2003). Porém, a diversidade genética em milho, bem como em outras culturas, tem sido reduzida durante o período de domesticação, sendo que através de um estudo com microssatélites, foi encontrado que o milho tem 88% da diversidade genética encontrada em teosinto e 76% do número de alelos de seu provável genitor (Vigouroux et al., 2005). Buckler et al. (2006) afirmaram que 30% de fragmentos de genes em milho são não-homólogos entre duas linhas. Assim, embora o seqüenciamento de um indivíduo seja suficiente para identificar a maior parte dos genes de uma espécie particular, linhas adicionais são requeridas para o milho, devido a sua extensiva não-homologia.

Durante o processo de domesticação, a seleção reduziu intensamente a diversidade genética em regiões não-transcritas, onde seqüências regulatórias são tipicamente encontradas, e reduziu muito pouco da diversidade genética em regiões transcritas (Wang et al. 1999).

A cultura do milho tem sido extensivamente estudada, revelando a importância do germoplasma de milho temperado. Linhas derivadas de milhos temperados têm sido amplamente investigadas. Isso não acontece com milhos de origem tropical, o que significa que esta diversidade genética ainda precisa ser bastante estudada (Laborda et al., 2005).

Para que seja adquirido o conhecimento do potencial genético de uma espécie, ou de uma população de plantas, diversas maneiras podem ser utilizadas, como a avaliação de caracteres fenotípicos e o uso de ferramentas biotecnológicas, que servem para auxiliar o processo de melhoramento de plantas. A caracterização morfológica com o intuito de avaliar caracteres agrônômicos e determinar a distância genética entre genótipos vem sendo empregada há muitos anos no melhoramento genético (Smith & Smith, 1989). Para a caracterização fenotípica de um indivíduo,

dados morfológicos têm sido utilizados historicamente como descritores. Entretanto, dados morfológicos requerem numerosas repetições para prover uma estatística correta de análise (Smith & Smith, 1989).

A caracterização fenotípica tem por objetivo avaliar caracteres agronômicos diferentes dentre os genótipos para estimar a distância genética entre eles, e vem sendo empregada há muitos anos pelo melhoramento genético. Entretanto, com o advento de técnicas moleculares, esta metodologia vem sendo aplicada com menor frequência, devido à influência ambiental e ao menor número de marcadores gerados (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Contudo, marcadores morfológicos podem ser muito úteis em estudos de variabilidade genética. Melo et al. (2001) estimaram a divergência genética entre híbridos comerciais de milho através de 25 caracteres morfológicos e do marcador molecular RAPD. Observaram que ambos marcadores foram capazes de separar os genótipos, entretanto encontraram pouca correlação entre os mesmos, concluindo que estes marcadores são distintos e complementares. Ou seja, a utilização de um deles não substitui a necessidade de se avaliar o outro.

Andrade et al. (2002) caracterizaram e avaliaram a coleção de genótipos de milho armazenados no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG). Estes autores avaliaram diversos caracteres morfológicos e obtiveram agrupamentos de acordo com o tipo de endosperma. Observaram grande variabilidade fenotípica para todos os caracteres estudados. Estes resultados permitiram selecionar os acessos tanto para o melhoramento genético, quanto para a formação de novos compostos. Isto porque o agrupamento de genótipos induz a possíveis cruzamentos dentro do grupo com mais chances de obtenção de bons resultados.

Entretanto, no que se refere à biologia molecular, diversas técnicas estão disponíveis para a detecção de variabilidade genética, objetivando detectar polimorfismo genético. Estas técnicas permitem a obtenção de um número ilimitado de marcadores moleculares cobrindo todo o genoma do organismo e podem ser utilizados para as mais diversas aplicações, tanto no estudo de genética como em melhoramento de plantas (Tanksley et al., 1989; Tanksley, 1993). A utilização de marcadores moleculares possibilita a avaliação da variabilidade genética existente dentro e entre espécies distintas. Além disso, a tecnologia de marcadores moleculares viabiliza a caracterização genética de grande número de genótipos através de procedimentos relativamente simples e rápidos (Bered et al., 1997).

2.4 Progresso Genético

O progresso genético é um aspecto de fundamental importância em programas de melhoramento (Barbosa Neto et al., 2000). Sua estimativa fornece uma oportunidade de correlacionar ganhos alcançados com os métodos de melhoramento empregados, possibilitando a alteração dos objetivos propostos inicialmente (Russel, 1977). Da mesma forma, estes estudos podem auxiliar na identificação de caracteres com maior contribuição para o incremento do rendimento e da qualidade de grãos (Barbosa Neto et al 2000).

A interpretação das estimativas do progresso genético permite o conhecimento dos avanços que estão sendo obtidos. Assim, a avaliação permanente da eficiência de um programa de melhoramento conduzido durante determinado tempo numa região faz-se necessária para a decisão pela manutenção das estratégias que estão sendo adotadas no programa ou pela necessidade do estabelecimento de inovações (Ribeiro et al, 2005).

O rendimento de grãos de milho tem aumentado consideravelmente desde a década de 1930 nos Estados Unidos (Fernandes & Franzon, 1997). Embora se tenha dificuldades para obter estimativas precisas de progresso genético, é evidente que programas de melhoramento locais foram importantes para o aumento do rendimento de grãos de milho.

Para estimar o progresso genético é necessário estimar os efeitos de ambiente, considerando que a melhoria do ambiente é parte do ganho total (Fernandes & Franzon, 1997). A melhoria do ambiente inclui a aplicação de fertilizantes e o manejo do solo para melhorar suas propriedades físicas e químicas. Entretanto, o ambiente não inclui somente o solo, mas também o clima, que é igualmente ou mais importante, devido seu comportamento inesperado. Em países tropicais, o efeito das flutuações do ambiente entre os anos tem uma forte influência sobre o rendimento de grãos.

Um dos avanços mais importantes da cultura do milho foi o aumento substancial no rendimento de grãos. Conforme Duvick (1984), vários fatores geneticamente controlados contribuíram para a estabilidade no rendimento, como tolerância à estresses abióticos (baixas temperaturas e alta umidade no plantio, altas temperaturas e pouca umidade na polinização, muita umidade na colheita) e tolerância ou resistência a doenças ou insetos.

Testes eficientes de distinção entre linhas, variedades ou híbridos demandam caracteres que sejam empregados com sucesso. Para eficiência máxima, a expressão do caráter deveria ser independente de efeitos do ambiente. Para que isso ocorra, os testes devem ser feitos em diferentes ambientes, o que encarece o experimento. Também, para um poder de discriminação máximo, os

caracteres devem ter o potencial de revelar diferenças entre linhas que são altamente aparentadas (Smith & Smith, 1989).

Estimativas de ganhos genéticos em rendimento de grãos em milho atingiram altos níveis depois da introdução dos híbridos simples (Tollenaar & Lee, 2002). Para os Estados Unidos, Duvick (1992) atribuiu o aumento permanente em rendimento de grãos em milho ao melhoramento contínuo e linear em caracteres defensivos, como resistência à senescência prematura (*stay green*), ao acamamento e quebramento de plantas, reduzido intervalo entre antese e floração feminina e aumento da tolerância a doenças.

Um aspecto que tem sido consistente para muitos estudos em melhoramento para rendimento de grãos em milho é que o aumento em rendimento de grãos tem sido relacionado principalmente ao aumento do número de grãos colhidos por unidade de área (Luque et al., 2006). Porém, não está claro porque a seleção para altos rendimentos de grãos somente aumenta o número de grãos por unidade de área. Uma razão para a estagnação do peso de grãos pode ser que os grãos aumentados pelo melhoramento ocorrem em lugares que normalmente desenvolvem peso de grãos abaixo da média (Feil, 1992).

Duvick (2001) afirmou que a melhoria nos híbridos não foi totalmente responsável pelos avanços em rendimento de milho, sendo que a partir da década de 1950, o amplo aumento no uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos, eliminação química de plantas daninhas, e uma maquinaria de semeadura e colheita mais eficiente também contribuíram para o aumento no rendimento deste cereal. Corroborando com esta afirmação, Pressoir & Brethaud (2004), afirmaram que o progresso genético não é baseado no melhoramento de um único caráter, e o rendimento é um caráter complexo, com muitos componentes envolvidos.

Surpreendentemente, o melhoramento em heterose não tem contribuído para os mais altos rendimentos (Duvick, 2001). Experimentos têm evidenciado que a heterose (calculada pela diferença em rendimento entre um híbrido simples e a média de suas duas linhagens genitoras) não mudou no decorrer dos anos. Isto demonstra que ganhos em rendimento vieram primeiramente do melhoramento genético para a tolerância à estresses de todos os tipos (como a tolerância a insetos e doenças, a maior densidade de plantas, à seca e/ou baixa fertilidade dos solos) e posteriormente devido a melhoria nos tratos culturais.

Conforme Betrán et al (2003), ganhos genéticos obtidos em condições de estresse, foram significativamente maiores do que aqueles observados em populações convencionalmente selecionadas sem perda de rendimento potencial. Ocorreram melhorias devido à redução significativa em esterilidade, aumentos em número de grãos por espiga e índice de colheita, e foram acompanhados pela redução no intervalo de florescimento feminino e masculino e atraso na senescência de folhas.

Progressos genéticos podem ser acelerados consideravelmente se características fisiológicas, bioquímicas e morfológicas forem usadas como critério de seleção (Feil, 1992). A comparação de características fisiológicas e morfológicas de cultivares antigas e modernas pode ajudar a identificar indicadores confiáveis do valor do germoplasma.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação do progresso genético e da magnitude da variabilidade genética de 15 híbridos de milho pertencentes a três diferentes empresas de sementes foi realizada através de análises fenotípicas e moleculares nas safras de 2005/2006 e 2006/2007. Os híbridos avaliados e suas características principais estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos 15 genótipos de milho utilizados no experimento, empresa detentora, tipo de híbrido, ciclo e ano de lançamento dos mesmos no mercado.

Genótipo	Híbrido	Empresa	Tipo de híbrido	Ciclo	Ano de Lançamento
1	P 3232	Pioneer Sementes	HT ¹	SmP	1987
2	P 3063	Pioneer Sementes	HSM	P	1993
3	P 32R21	Pioneer Sementes	HS	SpP	1997
4	P 30F53	Pioneer Sementes	HS	P	2002
5	P30P34	Pioneer Sementes	HT	P	2003
6	Máster	Syngenta Seeds	HT	P	Início 90
7	Exceler	Syngenta Seeds	HT	P	Início 90
8	Premium	Syngenta Seeds	HS	P	Final 90
9	Penta	Syngenta Seeds	HS	P	2003
10	Maximus	Syngenta Seeds	HS	P	2005
11	AS 32	Agroeste	HD	P	1995
12	AS 3466	Agroeste	HT	P	1997
13	AS 1548	Agroeste	HS	SpP	1996
14	AS 523	Agroeste	HD	P	1999
15	AS 1565	Agroeste	HS	P	2004

¹ – Abreviaturas: HS = Híbrido Simples; HSM = Híbrido Simples Modificado; HT = Híbrido Triplo; HD = Híbrido Duplo; P = Precoce; SmP = Semi-precoce; SpP = Super-precoce.

3.1 Avaliação Fenotípica

A avaliação fenotípica foi realizada na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS), localizada no município de Eldorado do Sul/RS, e na propriedade de Altair Saccardo, localizada no município de Sertão/RS. Os experimentos foram conduzidos em duas safras (2005/06 e 2006/07), sendo a primeira safra semeada na época tardia (janeiro de 2006) e a segunda safra semeada na época normal (outubro de 2006), totalizando quatro ambientes. Além disso, os híbridos foram submetidos a duas densidades de semeadura (40.000 e 80.000 pl ha⁻¹). Na primeira safra (semeadura tardia), os híbridos foram semeados em janeiro de 2006, nos dois locais. Na segunda safra (semeadura normal), os híbridos foram semeados em outubro de 2006, em ambos os locais.

O delineamento experimental utilizado foi o de parcelas subdivididas, com quatro repetições, sendo o fator densidade a parcela principal e os híbridos as subparcelas. Em cada repetição havia uma parcela de cada densidade, e dentro de cada parcela havia 15 subparcelas de híbridos, sendo que cada subparcela constava de duas linhas de 5m, separadas por 0,7m.

A cultura do milho foi implantada manualmente em sucessão à cultura da aveia branca (*Avena sativa*), nos dois locais de plantio. A cobertura antecessora à semeadura foi controlada com uma aplicação de glyphosate (720 g ia ha⁻¹), realizada aos 10 dias antes da semeadura dos híbridos. A adubação do milho foi realizada na linha, no momento da semeadura, com 15, 60 e 60 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ e K₂O. Em torno de 20 dias após as semeaduras, foram realizados os desbastes para 40.000 e 80.000 pl ha⁻¹. No estágio de 3 a 4 folhas foi realizada a aplicação de Nitrogênio (N), sob a forma de uréia, estimando-se 100 Kg de N ha⁻¹.

Foram feitos controles populacionais de percevejo barriga-verde (*Dichelops* spp) e de lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) no município de Sertão, com o inseticida metamidofós (900 g ia ha⁻¹). O controle das plantas daninhas foi realizado com o herbicida atrazine+simazine (1.500 + 1.500 g ia ha⁻¹) nos dois locais, e no local EEA/UFRGS foi realizada também capina manual no último ano de avaliação. A aplicação dos produtos químicos foi realizada com pulverizador costal manual, com vazão de 200 L ha⁻¹.

Os caracteres fenotípicos avaliados foram:

- Dias de florescimento masculino (pendão) e feminino (espiga), obtidos quando a subparcela atingia mais de 50% das plantas em florescimento;
- Estatura de planta: obtida através de uma medida linear em centímetros da base da planta até a primeira ramificação do pendão, de três plantas escolhidas ao acaso de cada subparcela;
- Altura de inserção da espiga: obtida pela medida linear em centímetros da base da planta ao ponto de inserção da espiga superior, de três plantas de cada subparcela, escolhidas ao acaso;
- Número total de plantas por subparcela;
- Acamamento: avaliação do percentual de plantas da subparcela que apresentam sintoma visual de acamamento, num ângulo de inclinação de aproximadamente 45°;
- Quebramento: avaliação do percentual de plantas da subparcela que apresentam sintoma visual de quebramento;
- Número de espigas por subparcela;
- Percentual de espigas doentes por subparcela;
- Rendimento das espigas: pesagem das espigas da parcela, com correção de 13% da umidade;
- Comprimento da espiga: avaliado aleatoriamente em três espigas por subparcela, onde foi medido o comprimento das mesmas, em centímetros;

- Diâmetro da espiga e do sabugo: avaliado aleatoriamente em três espigas por subparcela, onde foi medido o diâmetro da espiga e sabugo, em centímetros;
- Número de fileiras de grãos: avaliado aleatoriamente em três espigas por subparcela, onde foi realizada a contagem de fileiras de grãos por espiga;
- Peso de 1000 grãos: avaliado em três espigas escolhidas ao acaso, em gramas.
- Graus dia para o florescimento feminino, obtido pela fórmula:

$$GD - \sum (T \text{ média/dia} - 10), \text{ onde:}$$

$$GD = \text{Graus dia}$$

$$\sum = \text{somatório}$$

$$T \text{ média/dia} = \text{Temperatura média do dia, obtida pela fórmula:}$$

$$T \text{ média} = \frac{T \text{ máxima} - T \text{ mínima}}{2}$$

10 - temperatura mínima para o milho se desenvolver.
- Graus dia para o florescimento masculino: obtido da mesma maneira citada para o florescimento feminino. Entretanto, o somatório dos graus dia foi realizado desde a data da semeadura até a liberação do pólen (ou abertura das anteras) em pelo menos metade dos indivíduos da parcela.

O somatório dos graus dia foi realizado desde a data de semeadura até o aparecimento dos estigmas em pelo menos metade dos indivíduos da parcela. As temperaturas máximas e mínimas entre a semeadura e as avaliações, que permitiram a quantificação dos graus dia foram cedidas pelo Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da UFRGS, na pessoa de Denise Cybis Fontana para a EEA/UFRGS. Para a localidade de Sertão, as temperaturas foram fornecidas pela Embrapa Trigo de Passo Fundo/RS.

O rendimento de grãos foi calculado pelo peso de grãos obtido na área útil das parcelas extrapolado para hectare, com padronização da umidade dos grãos para 13%.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e, em caso de significância dos efeitos principais ou interações, compararam-se as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey (SAS Institute, 2000).

3.2 Avaliação Molecular

A avaliação molecular foi realizada no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, localizado no Departamento de Plantas de Lavoura da Faculdade de Agronomia da UFRGS. Foram avaliados os 15 genótipos citados na Tabela 1.

O material para a análise molecular foi extraído de plântulas de milho colocadas para germinar em papéis-filtro no Laboratório de Fisiologia Vegetal do mesmo departamento. Foram coletadas folhas de 10 plantas por genótipo. O protocolo utilizado para a extração de DNA foi o de Murray & Thompson (1980). O DNA extraído foi quantificado em gel de agarose 0,9% e as soluções de trabalho de DNA foram elaboradas na concentração de 20 ng μl^{-1} . A técnica de marcadores moleculares utilizada foi SSR, ou microssatélites (Maizegdb, 2007).

As reações de SSR foram preparadas para um volume de 20 μl . Cada reação continha: 10,2 μl de água esterilizada, 2 μl de Tampão 10X (Invitrogen), 0,6 μl de MgCl_2 (Invitrogen), 0,4 μl de dNTP mix (Invitrogen), 0,3 μl do primer F (forward), 0,3 μl do primer R (reverse), ambos com concentrações de 20 ng μl^{-1} , 0,2 μl da enzima Taq-DNA Polimerase (Invitrogen, 5u/ μl) e 6 μl de DNA (solução de trabalho).

As reações de PCR (Polymerase Chain Reaction) foram realizadas em termociclador (modelo: PTC – 100, MJ Research, Inc.). Para a amplificação do DNA

genômico foram utilizados dois programas, um do tipo Touchdown e um com amplificação seletiva (Tabela 2). O marcador DNA Ladder – 100 pb (Invitrogen) foi utilizado como padrão de peso molecular.

Tabela 2. Programas utilizados para amplificação no termociclador. Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre – RS, 2007.

Programa	Etapas
Touchdown	18 ciclos de 94°C por um minuto, seguido de um decréscimo de 1°C a cada dois ciclos (64°C a 55°C) e 72°C por um minuto. Soma-se ainda 30 ciclos a 94°C por um minuto, 55°C por um minuto e 72°C por um minuto.
Amplificação Seletiva	94°C por três minutos 94°C por um minuto 65°C por um minuto* 72°C por um minuto e 30 segundos. * inicia com 65°C e diminui sucessivamente até 56°C, seguindo nessa temperatura por 23 ciclos.

Os fragmentos de DNA amplificados foram primeiramente separados em géis de agarose 1,5 a 2%. Quando se teve certeza de que a reação ocorreu, os fragmentos foram separados em géis de poliacrilamida, com migração de 3 horas em cuba vertical. Os fragmentos visualizados através de géis de agarose foram marcados com brometo de etídeo e visualizados em luz ultravioleta, e aqueles em que foram utilizados géis de poliacrilamida foram visualizados através de nitrato de prata. Ambos os géis foram fotografados pelo programa Kodak Digital Science 1D v.3.0.1. Foram testados 120 primers dos quais 34 apresentaram padrão molecular de fácil leitura e interpretação. Os primers avaliados estão dispostos na Tabela 3.

As avaliações realizadas foram: número de alelos por loco e estimativa do conteúdo de polimorfismo (PIC), obtido através da fórmula:

$$\text{PIC} = 1 - \sum p_u^2, \text{ onde}$$

p_u = frequência do alelo u .

Para estimar a similaridade genética foi utilizado o coeficiente de Nei & Li (1979), e o dendograma foi obtido com o método da média aritmética não ponderada para agrupamento aos pares (UPGMA – Unweighed pair group arithmetic average), de acordo com Sneath & Sokal (1973), utilizando-se o software NTSYS 2.2 - Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (Rohlf, 2000).

Tabela 3. Relação dos 34 *primers* de microssatélites utilizados na análise de polimorfismo. Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre – RS, 2007.

Número	Primer	Cromossomo	Seqüência repetida
1	Umc 1355	5.03	(TTTC)4
2	Umc 2164	5.05	(CGGC)4
3	Mmc 0063	2.00-2.04	(CA)16(TA)6(CA)2
4	Bmac 353	-	-
5	Umc 1545	7.00	(AAGA)4
6	Umc 1546	7.00	(GAG)5
7	Umc 1547	1.01	(TCT)5
8	Umc 1683	3.04	(CT)6
9	Umc 2018	10.01	(CCT)7
10	Umc 1702	4.05	(CAGCCT)4
11	Umc 1063	6.07	(CCAACA)4
12	Umc 1363	1.01	(ACG)4
13	Umc 2316	6.03	(ATAT)4
14	Umc 1426	7.00	(AGAGG)4
15	Umc 1397	1.03	(ATGCA)4
16	Umc 2182	8.04-8.05	(TCC)4
17	Phi 016	9.04	GGT
18	Umc 1727	1.01	(CGT)4
19	Phi 073	3.05	AGC
20	Hc 004	-	-
21	Phi 079	4.05	AGATG
22	Umc 1173	4.09	(AC)7
23	Nc 012	6.05	CT
24	Umc 1564	5.02	(CAG)5
25	Umc 1018	3.00	(CT)7
26	Umc 1056	5.03	(AGCA)4
27	Umc 1172	8.04	(CAA)4
28	Umc 1594	3.10	(TA)10
29	Umc 1336	10.03	(ACCAG)4
30	Umc 1341	6.05 - 6.06	(CTGT)4
31	Umc 1627	8.03	(GTAC)4
32	Phi 065	9.03	CACTT
33	Phi 032	9.04	AAAG
34	Umc 1097	5.00	(CA)8

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização Fenotípica

Os resultados observados revelaram que os 15 híbridos avaliados apresentaram variabilidade para os diferentes caracteres analisados, exceto para florescimento feminino (Tabela 4).

A expressão do fenótipo de um indivíduo nada mais é do que o genótipo mais a influência do ambiente (Allard,1960). Sendo assim, para o presente trabalho o ambiente foi importante na manifestação de todas as variáveis analisadas.

A densidade de plantas representa o fator agronômico que mais mudou durante as últimas seis décadas (Tollenaar & Lee, 2002). Entretanto, a densidade afetou apenas o número total de espigas e o número de espigas doentes, tendo em vista que ambos os caracteres são consequência direta do número total de plantas em uma parcela experimental. Os híbridos estudados apresentavam, em sua maioria, o ciclo de desenvolvimento precoce. Isto pode explicar o fato de não haver diferenças em relação à densidade de plantas por área, pois no desenvolvimento de híbridos precoces já é visada uma alta densidade de semeadura. Além disso, o intervalo de densidade utilizado poderia ter sido analisado com valores intermediários aqueles avaliados, o que poderia detectar diferenças mais relevantes entre os híbridos.

Tabela 4. Resumo da análise de variância para os caracteres estatura de planta (EST), inserção de espiga (INS), número total de espigas (NTE), número de espigas doentes (NED), florescimento masculino (FLM) e florescimento feminino (FLF).

Causas de Variação	GL	QM					
		EST	INS	NTE	NED	FLM	FLF ¹
Repetição	3	0,19 *	0,08 *	135	278 **	228.1	39.9
Ambiente	3	7,68 **	4,18 **	17778 **	241 **	203146.6 **	25929.1 **
Densidade	1	0,08	0,00	8141 **	1241 **	619.2	2209.2
Híbrido	14	0,11 *	0,08 **	148 **	73 *	3457.4 **	878.6
AmbxDens	3	0,10	0,07 *	2557 **	371 **	1643.5	237.8
AmbxHib	42	0,05	0,03	86 *	35	1461.4	1411.2
DensxHib	14	0,02	0,01	44	34	885.7	729.3
DensxAmbxHib	42	0,02	0,01	57	24	1321.5	523.8
CV%		12,05	14,42	26,91	70,95	4,25	3,91

** Significativo a 1%

* Significativo a 5%

¹ Dados coletados apenas em Sertão nos dois anos de avaliação.

Com exceção do florescimento feminino, que foi medido somente no município de Sertão, nos dois anos de avaliação, os híbridos manifestaram variabilidade em relação aos demais caracteres. As interações, em geral, não foram significativas. Apenas o caráter número total de espigas apresentou significância na interação entre ambiente e híbrido.

A análise da interação genótipo x ambiente (G X A) tem sido sugerida como um meio de auxiliar os melhoristas na avaliação da estabilidade de genótipos elite em programas de melhoramento (Finlay & Wilkinson, 1963, Eberhart & Russel, 1966). Esta interação assume importância fundamental em regiões de alta variação de ambiente, onde os genótipos podem apresentar comportamentos distintos em face de diferentes condições (Federizzi et al., 1993). Barbosa Neto et al. (2000) também não encontraram significância na maioria das interações analisadas na cultura da aveia, indicando que os genótipos testados respondiam de maneira similar às práticas de manejo empregadas.

Os caracteres relacionados à espiga e ao rendimento de grãos, também apresentaram variabilidade (Tabela 5).

Assim como nos dados anteriores, o ambiente teve participação importante, sendo que a safra de 2006/07 e o local Sertão foi o mais favorável para a produtividade do milho, apresentando um rendimento médio de grãos de 10.986 kg ha⁻¹ (Figura 2).

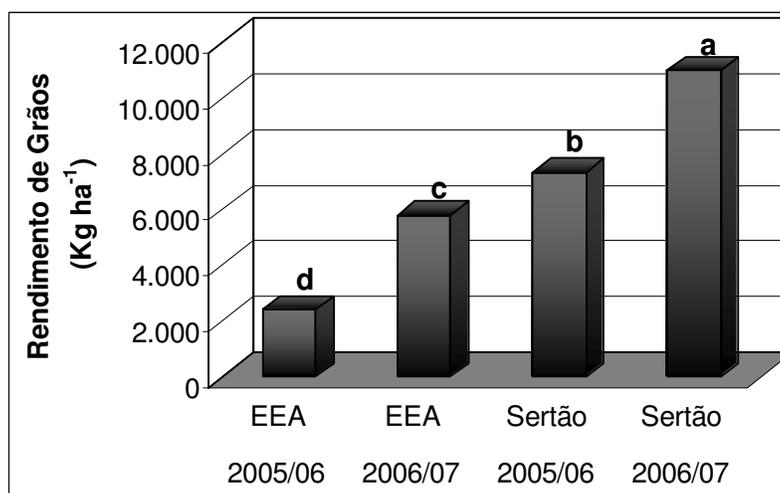


Figura 2. Rendimento médio de grãos de híbridos de milho, avaliado nas safras de 2005/2006 e 2006/2007, e nos locais EEA/UFRGS e Sertão.

Os demais ambientes foram inferiores em termos de produtividade, especialmente a safra de 2005/06, no local EEA/UFRGS, o qual apresentou um rendimento médio de grãos de 2.411 kg ha⁻¹. Este baixo rendimento de grãos pode ser explicado pela época tardia de semeadura e pelo controle ineficiente de plantas daninhas.

Forsthofer et al (2006) e Silva & Argenta, (2000) também encontraram diferenças em relação à semeadura tardia e precoce, afirmando que a semeadura tardia propiciou a formação de grãos mais leves nos sistemas com alto investimento em manejo e nos potenciais, em relação às demais épocas de

semeadura. Isto é atribuído ao fato de, na semeadura tardia, em relação às de agosto ou outubro, a maior parte do enchimento de grãos ocorrer em meses onde há redução expressiva na temperatura do ar e na radiação solar incidente, o que limita a atividade fotossintética e a translocação de carboidratos das frações vegetativas da planta aos grãos (Sangoi, 1993).

Tabela 5. Resumo das análises de variância para os caracteres comprimento de espiga (COE), diâmetro de sabugo (DIS), número de fileiras (NFI), profundidade do grão (PRG), peso de 1000 grãos (PGR) e rendimento de grãos (RGR).

Causas de Variação ¹	GL	QM					
		COE	DIS	NFI	PRG	PGR	RGR
Repetição	3	4,7	0,1	12,2 **	0,3 **	0,001	13382110 **
Ambiente	3	31,4 **	4,3 **	30,1 **	5,5 **	0,030 **	1474397034 **
Densidade	1	45,1 **	0,0	3,7	1,2 **	0,010 **	12549699 *
Híbrido	14	6,7 **	0,2 **	36,6 **	0,2 **	0,010 **	10462507 **
AmbxDens	3	8,1 **	0,1	1,4	0,1	0,000	37082650 **
AmbxHib	42	2,9	0,0	2,8	0,1	0,003 **	7466053 **
DensxHib	14	1,8	0,0	2,3	0,0	0,001	4096910
DensxAmbxHib	42	1,5	0,0	1,5	0,0	0,001	2543823
CV%		9,0	10,33	8,96	14,28	11,06	25,74

** Significativo a 1%

* Significativo a 5%

Diversos trabalhos têm relatado o efeito de plantas daninhas no rendimento do milho (Tollenaar & Aguilera, 1992; Roman, 1999; Balbinot Jr & Fleck, 2004). A presença de plantas daninhas desde a fase inicial de desenvolvimento da cultura pode acarretar perdas de até 100% (Rajcan & Swanton, 2001).

A densidade de plantas foi importante para os caracteres de comprimento de espiga, profundidade de grãos, peso de grãos e rendimento de grãos. Isso mostra que os híbridos são capazes de suportar altas densidades de plantas, sem que isso afete o rendimento de grãos final, pelo contrário, o aumento da densidade tem mostrado um aumento no rendimento de grãos. Assim sendo, a

tolerância a altas populações de plantas aliada à tolerância a outros estresses bióticos e abióticos e o melhor uso da eficiência, constituem características determinantes que contribuem para o aumento da produtividade (Tokatlidis & Koutroubas 2004). Segundo Sangoi (2001), a densidade de plantas é uma das práticas culturais que mais interfere no rendimento de grãos de milho, em virtude da pequena capacidade de emissão de afixos férteis da cultura, da sua organização floral monóica e do curto período de florescimento.

Houve interação significativa entre ambiente e híbrido para os caracteres peso e rendimento de grãos. Isto demonstra a capacidade dos híbridos de comportarem-se de maneira distinta em cada um dos locais e anos analisados. Carvalho et al., (1982), trabalhando com aveia em diferentes locais e anos, apontaram que a variação devido ao fator ano era de maior importância para a determinação da estabilidade de rendimento de grãos neste cereal, sendo o fator local de pequena contribuição. Já para Federizzi et al. (1993) os resultados indicaram a influência de ambas as fontes de variação (local e ano), causando modificações no comportamento dos genótipos.

A estatura de plantas e a inserção da espiga não demonstraram uma grande amplitude para os híbridos estudados, variando de 2,15 m para 1,96 m de estatura e 115 cm para 97 cm de inserção de espiga (Tabela 6).

A variação no ciclo foi de 850 para 891 graus dia para florescimento masculino, e 834 para 858 graus dia para florescimento feminino. A maioria dos híbridos estudados pertence ao ciclo de desenvolvimento precoce, com exceção dos híbridos P32R21 e AS1548 que são super-precoces e o híbrido P3232 que é semi-precoce.

Tabela 6. Média dos híbridos nos dois locais e nas duas safras avaliadas, para os caracteres estatura de plantas (EST), inserção da espiga no colmo (INS), florescimento masculino (FLM), florescimento feminino (FLF), número total de espigas (NTE), número de espigas doentes (NED), comprimento da espiga (COE), diâmetro do sabugo (DIS), número de fileiras (NFI), profundidade de grão (PRG), peso de 1000 grãos (PGR), rendimento de grãos (RGR).

Híbridos	EST (m)	INS (cm)	FLM (GD)	FLF* (GD)	NTE	NED	COE (cm)	DIS (cm)	NFI	PRG (cm)	PGR (Kg)	RGR (Kg/ha)
P3232	2,13 ab	109 abc	891 c	851 abc	25 e	7,1 cd	16,2 bc	2,7 ab	13,4 g	2 bc	0,42 a	5779 ef
P3063	2,07 abcd	104 cd	858 ab	834 ab	30 ab	10,4 ab	16,5 ab	2,7 ab	15,1 e	2 bc	0,39 b	6797 bcd
P32R21	2,15 a	105 cd	850 a	840 abc	26 de	8,1 bcd	17,1 a	2,7 ab	16,8 b	1,9 c	0,36 cd	5677 f
P30F53	2,03 abcd	103 cd	876 abc	854 bc	29 abcd	12,3 a	16,6 ab	2,8 a	16,1 cd	2,1 ab	0,42 a	7143 ab
P30P34	2,09 abc	114 a	866 abc	841 abc	27 bcde	10 abc	15,9 bcd	2,8 a	15,5 de	1,9 c	0,39 b	6632 bcde
Master	2,15 a	115 a	867 abc	841 abc	32 a	7,9 bcd	15,9 bcd	2,6 b	14,9 ef	2 bc	0,39 b	6816 bc
Exceler	2,06 abcd	110 abc	873 abc	840 abc	26 cde	6,2 d	15,8 cd	2,7 ab	15,3 e	2 bc	0,38 bc	5959 def
Premium	2,09 abc	110 abc	876 abc	858 c	29 abc	7,9 bcd	15,4 d	2,6 b	15,1 e	2,2 a	0,39 b	7085 ab
Penta	1,96 d	105 cd	863 abc	844 abc	31 a	8,7 bcd	16,2 bc	2,7 ab	15,3 e	2,1 ab	0,4 ab	7832 a
Maximus	2,11 ab	114 a	872 abc	845 abc	28 abcde	9 bcd	15,9 bcd	2,9 a	17,6 a	2 bc	0,39 b	6729 bcd
AS 32	2,12 ab	113 ab	868 abc	830 a	31 ab	8,9 bcd	15,7 cd	2,6 b	14,8 ef	1,9 c	0,35 de	6786 bcd
AS 3466	2,02 bcd	106 bc	883 bc	848 abc	28 abcde	9 bcd	16,3 bc	2,7 ab	14,4 f	1,9 c	0,37 c	6160 cdef
AS 1548	1,97 cd	97 d	858 ab	843 abc	28 abcde	7,2 cd	15,8 cd	2,9 a	16,9 b	2 bc	0,35 de	6553 bcde
AS 523	2,01 bcd	104 cd	871 abc	845 abc	26 de	6,7 d	15,4 d	2,6 b	16,4 bc	2 bc	0,34 e	6409 bcdef
AS 1565	2,05 abcd	104 cd	860 abc	837 abc	29 abcd	8 bcd	16,4 abc	2,7 ab	16,3 bc	1,9 c	0,35 de	7137 ab

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey, a 5% de significância. * Dados obtidos somente no ambiente Sertão, nos dois anos de avaliação.

A característica da precocidade vem sendo buscada juntamente com a menor estatura e menor inserção de espigas, visto que sendo mais baixos, conseguem suportar melhor as altas populações de plantas sem que ocorram prejuízos de acamamento e quebramento de plantas (Peixoto, 1996).

O acamamento é considerado um fator determinante na redução do rendimento de grãos (Silva et al., 2006). Os híbridos analisados no presente trabalho, não demonstraram diferenças significativas em relação ao acamamento e quebramento de plantas, nos dois locais e anos analisados. No primeiro ano de avaliação, no local Sertão, ocorreram fortes ventos e precipitações, o que dificultou a avaliação dos híbridos. No ano seguinte e nos dois anos de avaliação do local EEA/UFRGS, os híbridos foram avaliados quanto ao acamamento e quebramento de plantas, mas todos apresentaram índices muito baixos de incidência (0,1 e 0,3 plantas acamadas e quebradas em média por parcela, respectivamente, na safra de 2006/07). Este baixo índice sugere que os híbridos analisados já haviam sido selecionados para baixa estatura, sendo mais resistentes ao acamamento e quebramento de plantas.

A menor exigência em unidades de calor para florescimento dos híbridos contemporâneos do sul do Brasil favorece a produção de plantas com menor altura de inserção de espigas (Sangoi, 2002). Com isso, o centro de gravidade da planta fica mais bem equilibrado, aumentando sua sustentabilidade. Assim, a característica de precocidade dos híbridos é almejada há tempos. Reif et al. (2005) afirmaram que, durante a fase inicial do programa de melhoramento de milho na Europa, linhagens dentadas vindas dos Estados Unidos foram primeiramente selecionadas para a precocidade, para depois serem incorporadas nos programas de melhoramento locais.

Houve uma diferença relevante em relação ao número total de espigas entre os híbridos, variando de 32 (Master) a 25 (P3232) espigas por parcela. Esta diferença acarretaria em um aumento de 2.000 kg ha⁻¹, considerando o peso da espiga como sendo em 200 g.

O número de espigas doentes foi elevado, variando em média de 12,3 (P30F53) a 6,2 (Exceler). Nos últimos anos, as doenças de espiga estão preocupando os produtores, pela exigência das indústrias em adquirir matéria-prima de melhor qualidade (Mario et al., 2003). O alto índice de espigas doentes pode ter ocorrido devido à alta quantidade de chuvas no primeiro ano de avaliação, em ambos os locais, o que facilitou a entrada de patógenos devido à alta umidade, favorável aos mesmos. O milho é hospedeiro de um grande número de patógenos, que invadem todos os órgãos, desde a germinação até a colheita, e a infecção de espigas e grãos freqüentemente permanece durante a armazenagem. Perdas em rendimento de grãos de 7 a 9,3%, devido à infestação por *Fusarium* na espiga de milho, uma das moléstias mais encontradas no presente trabalho, podem ocorrer durante o período de execução dos experimentos (Nagy et al., 2006).

O caráter comprimento de espiga não mudou muito entre os híbridos avaliados, variando apenas 1,7 cm (de 15,4 cm para 17,1 cm) entre os mesmos. Também o diâmetro de sabugo não sofreu grandes modificações, sendo que este caráter está diretamente relacionado à profundidade de grãos, também avaliada neste experimento. O número médio de fileiras dos híbridos variou de 13,4 para 17,6, o que pode ser considerado um aumento relevante, pois se o híbrido é capaz de encher mais grãos numa espiga, isso reflete diretamente no rendimento de grãos.

O rendimento de grãos foi um caráter bastante diferenciado entre os híbridos, mostrando uma variação de 5677 kg ha⁻¹ para 7832 kg ha⁻¹ (Figura 3).

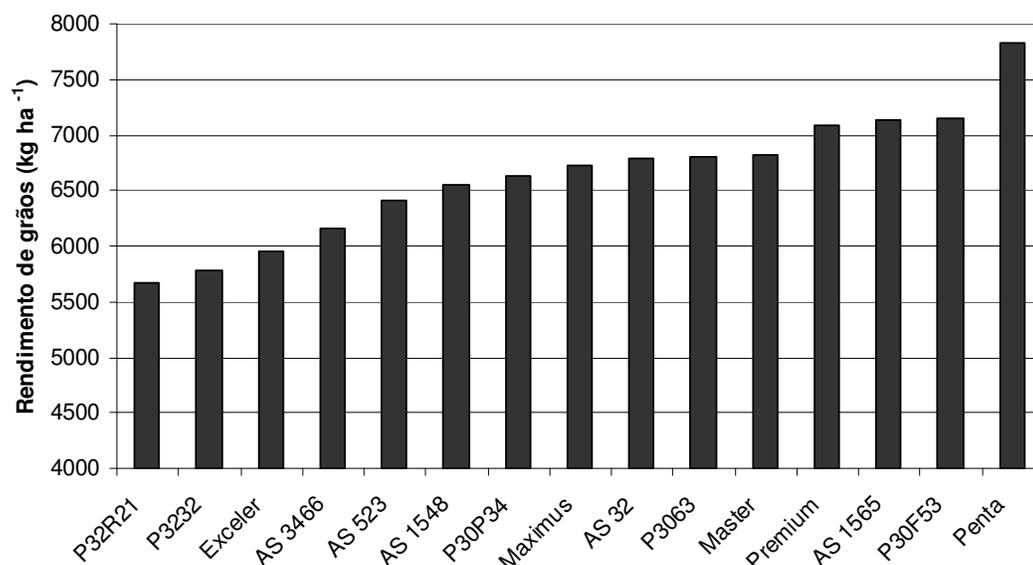


Figura 3. Rendimento médio de grãos de cada um dos 15 híbridos utilizados no experimento, avaliado nas safras de 2005/2006 e 2006/2007, e nos locais EEA/UFRGS e Sertão.

Segundo Duvick & Cassman (1999), o mais importante critério de seleção usado por melhoristas comerciais de milho é, de longe, o rendimento de grãos e a estabilidade de rendimento. O rendimento médio de grãos alcançado neste experimento é considerado alto, quando comparado com os baixíssimos índices apresentados pelo Brasil, como o de 3.637 kg ha⁻¹ em média na safra de 2006/07 e pelo estado do Rio Grande do Sul, que nesta última safra (2006/07) apresentou um rendimento médio de grãos de 1.385 kg ha⁻¹ (CONAB, 2007). Já para Paterniani et al., (2006), o rendimento médio de grãos de híbridos de milho variou de 6.744 a 8.654 kg ha⁻¹ no estado de Minas Gerais, no ano agrícola de 2001/2002. Entretanto, quando se compara o rendimento de grãos obtido neste trabalho, com o rendimento médio de grãos obtido pelos híbridos dos Estados Unidos, este se torna baixo, visto

que os híbridos naquele lugar chegam a alcançar em média 14 ton ha⁻¹ de rendimento de grãos (Duvick, 1997).

O rendimento de grãos é um caráter complexo, resultante dos efeitos multiplicativos de seus efeitos primários (Coimbra et al., 1999). Para o presente trabalho, a análise de correlação mostrou-se significativa para a maioria dos caracteres avaliados; porém o rendimento de grãos mostrou baixa correlação com a quase totalidade dos componentes de rendimento avaliados (Tabela 7).

Tabela 7. Correlação entre rendimento de grãos (RGR), número total de espigas (NTE), número de espigas doentes (NED), comprimento de espiga (COE), diâmetro de sabugo (DIS), número de fileiras (NFI), peso de 1000 grãos e profundidade de grãos (PRG).

	RGR	NTE	NED	COE	DIS	NFI	PGR	PRG
RGR	1	0,85**	0,25**	0,28**	0,39**	0,2**	0,15**	-0,34**
NTE		1	0,51**	0,1*	0,29**	0,15**	0,01	-0,4**
NED			1	-0,05	0,09*	0,03	-0,003	-0,19**
COE				1	0,32**	0,09*	0,39**	0,03
DIS					1	0,32**	0,17**	-0,59**
NFI						1	-0,2**	-0,01
PGR							1	0,18**
PRG								1

** Significativo a 1%.

* Significativo a 5%.

Pode-se notar que apenas o caráter número total de espigas mostrou uma alta correlação com o rendimento final de grãos (85%). Não houve compensação para o número total de espigas, mas em relação aos demais caracteres, estes acabam se compensando, por isso não são significativos. O milho é uma planta em que os efeitos compensatórios acontecem com frequência, principalmente pelo fato de não emitir afilhos. Nas semeaduras em épocas não preferenciais, há redução na estatura e na área foliar das plantas de milho, determinando menor eficiência na utilização da radiação solar. Assim, o aumento na densidade das plantas pode ser uma estratégia a ser adotada para compensar tais

reduções, pelo aumento da capacidade fotossintética da comunidade de plantas (Silva et al., 1999).

Foram observadas neste trabalho interações genótipo x ambiente para os caracteres número total de espigas, peso de grãos e rendimento de grãos (Tabela 8).

A interação genótipo x ambiente é de grande interesse em melhoramento de plantas por duas razões principais: primeiro, reduz o progresso proveniente da seleção e, segundo, torna a recomendação da cultivar difícil, pois é estatisticamente difícil de interpretar os efeitos principais (Kang & Gorman, 1989). Epinat-Le Signor et al. (2001) encontraram em seu trabalho que a magnitude do efeito de ambiente contava em torno de 80% da variância total no rendimento de grãos de milho no norte da França.

Tabela 8. Resumo das análises de variância para os caracteres número total de espigas (NTE), peso de 1000 grãos (PGR) e rendimento de grãos (RGR).

Causas de Variação ¹	GL	QM		
		NTE	PGR	RGR
Repetição	3	136,33	0,001	13420507 **
Ano	1	26256,47 **	0,016 **	1454369583 **
Local	1	27713,96 **	0,043 **	3037177579 **
Densidade	1	8147,98 **	0,018 **	12083433 *
Híbrido	14	148,75 **	0,019 **	10499609 **
AnoxDens	1	5031,31 **	0,000	15467716 *
AnoxHib	14	109,28 *	0,004 **	9136494 **
AnoxLocal	1	548,34 **	0,032 **	1938737
DensxHib	14	43,55	0,000	3977477
LocalxDens	1	1173,38 **	0,000	25107142 **
LocalxHib	14	101,96 *	0,003 *	8273261 **
DensxAnoxHib	14	79,23	0,001	2586984
LocalxAnoxDens	1	1417,55 **	0,001	68985025 **
LocalxAnoxHib	14	50,54	0,002	4893237
LocalxHibxDens	14	40,22	0,001	1896351
CV%		26,88	10,96	25,77

** Significativo a 1%;

* Significativo a 5%.

As interações genótipo x ambiente são tanto uma função de variáveis ambientais, quanto uma função de caracteres genotípicos, morfológicos, fenológicos

e fisiológicos das variedades (Nachit et al., 1992). O entendimento das causas da interação genótipo x ambiente pode ser usado para estabelecer objetivos de melhoramento, identificar condições ideais de testes, e formular recomendações para áreas de ótima adaptação de cultivar (Yan & Hunt, 2001).

Efeitos da interação genótipo x ambiente no rendimento de grãos são sempre significantes na comparação entre híbridos mais velhos e mais novos, avaliados em duas ou mais condições de ambientes (Tollenaar & Wu, 1999). No presente trabalho o caráter número total de espigas foi bastante afetado, principalmente pelo ano de cultivo (Tabela 9).

Tabela 9. Média dos híbridos para o carácter número total de espigas (NTE), nos locais Sertão e EEA/UFRGS, e nos anos de 2005/06 e 2006/07.

Híbridos	EEA/UFRGS		Sertão	
	2005/06	2006/07	2005/06	2006/07
P3232	5,4 c	28,1 bcd	26,8 b	38,5 c
Master	17,2 a	27,6 bcd	37 a	44,5 ab
AS 32	17,2 a	29,1 bcd	31,3 ab	45,1 a
P3063	13,1 abc	33,6 ab	29,1 ab	42 abc
Exceler	8,1 bc	18,2 e	34,6 ab	41,7 abc
AS 3466	8,2 bc	32 abc	28,5 ab	44,3 ab
P32R21	5,1 c	28,6 bcd	26,1 b	42,6 abc
Premium	9,3 abc	32 abc	33,2 ab	43,1 abc
AS 1548	12 abc	33,1 ab	27,1 b	41,1 abc
P30F53	16,2 ab	28 bcd	29,5 ab	42,8 abc
Penta	15 ab	36,7 a	29,8 ab	43,3 abc
AS 523	12,5 abc	23,6 de	26,1 b	39,7 bc
P30P34	11,8 abc	29,2 bcd	27,2 b	41,3 abc
Maximus	15,8 ab	24,7 cde	30 ab	42 abc
AS 1565	14,2 ab	32,7 ab	27 b	42,6 Abc
CV%	69,60	25,28	31,7	12,02
Médias	12,04	29,17	29,58	42,34

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

O ano de 2005/06 e o local EEA/UFRGS foi o que produziu menos espigas por parcela, provavelmente devido ao problema já relatado de controle

ineficiente de plantas daninhas e ao baixo índice de germinação encontrado neste local. Já o local Sertão, e o ano 2006/07 foi o mais favorável à produção de espigas por parcela. Os híbridos AS32, Penta e Maximus foram os que apresentaram, em média, os maiores valores de número total de espigas, nos dois locais e dois anos avaliados, já os híbridos P3232, AS523, P32R21 e Exceler foram os que apresentaram um menor número de espigas na média de local e ano.

O caráter peso de grão também mostrou variação dentre os ambientes avaliados (Tabela 10), sendo que o local EEA/UFRGS e o ano 2005/06 foi em média o pior ambiente, apresentando os menores índices de peso de grãos, e Sertão como local, no ano 2006/07 foi o que apresentou os melhores índices para este caráter.

Tabela 10. Média dos híbridos para o caráter peso de grão (PGR), nos locais Sertão e EEA/UFRGS, e nos anos de 2005/06 e 2006/07.

Híbridos	EEA/UFRGS		Sertão	
	2005/06	2006/07	2005/06	2006/07
P3232	0,38 bcde	0,41 a	0,46 a	0,42 a
Master	0,4 bcd	0,36 cde	0,4 b	0,41 ab
AS 32	0,33 fg	0,31 g	0,34 c	0,41 ab
P3063	0,41 bc	0,38 abc	0,4 b	0,38 bc
Exceler	0,42 abc	0,35 def	0,41 b	0,38 bc
AS 3466	0,38 bcde	0,34 efg	0,37 bc	0,39 abc
P32R21	0,36 defg	0,33 fg	0,39 b	0,38 bc
Premium	0,4 bcd	0,35 def	0,41 b	0,41 ab
AS 1548	0,35 defg	0,35 def	0,34 c	0,37 c
P30F53	0,46 a	0,4 a	0,42 ab	0,4 abc
Penta	0,43 ab	0,37 bcd	0,41 b	0,39 abc
AS 523	0,34 efg	0,32 g	0,34 c	0,36 c
P30P34	0,37 cdef	0,39 ab	0,4 b	0,41 ab
Maximus	0,41 bc	0,36 cde	0,39 bc	0,41 ab
AS 1565	0,32 g	0,35 def	0,35 c	0,38 bc
CV%	12,53	7,52	13,88	8,75
Médias	0,38	0,36	0,39	0,39

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Os híbridos Premium, P3232 e AS1565 foram os que apresentaram um maior peso de grãos na média dos locais e anos de avaliação. Já os híbridos P3063, P32R21 e Master foram os que apresentaram, na média dos locais e anos, os menores valores de peso de grãos.

É possível notar uma grande variação no rendimento de grãos dos híbridos analisados (Tabela 11). Essa grande variação pode ser explicada pelo fato de o caráter rendimento de grãos ser quantitativo e altamente dependente do ambiente (Allard, 1960). Na atual fase dos programas de melhoramento são grandes as dificuldades encontradas para a obtenção de progresso genético sobre o caráter rendimento de grãos, principalmente por este ser um caráter de difícil seleção nas primeiras gerações segregantes, pois o número de locos heteróticos é significativo (Coimbra et al., 1999).

Tabela 11. Média dos híbridos para o caráter rendimento de grãos (RGR), nos locais Sertão e EEA/UFRGS, e nos anos de 2005/06 e 2006/07.

Híbridos	EEA/UFRGS		Sertão	
	2005/06	2006/07	2005/06	2006/07
P3232	1019 cd	5859 de	6250 cd	10071 bcd
Master	3588 a	4050 gh	8982 a	10642 abcd
AS 32	2717 ab	5355 ef	7535 abcd	11535 abc
P3063	2465 abc	7432 abc	6857 abcd	10392 bcd
Exceler	1656 bcd	3591 h	8910 ab	9678 d
AS 3466	1752 bcd	5137 efg	7267 abcd	10482 abcd
P32R21	821 d	5475 ef	6107 d	10303 bcd
Premium	1938 bcd	5653 ef	8571 abc	12178 a
AS 1548	2405 abc	6875 bcd	7000 abcd	9892 cd
P30F53	3601 a	6244 cde	6892 abcd	11750 ab
Penta	3504 a	7700 ab	8500 abc	11625 abc
AS 523	2759 ab	4644 fgh	6553 bcd	11678 ab
P30P34	2134 abcd	5963 de	6678 abcd	11732 ab
Maximus	2864 ab	4641 fgh	7589 abcd	11821 ab
AS 1565	2824 ab	8172 a	6535 cd	11017 abcd
CV%	56,70	20,96	32,28	16,19
Médias	2387	5786	7348	10986

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

O ano de 2006/07 e o local Sertão foi o mais favorável para a produtividade do milho, apresentando um rendimento médio de 10.986 kg ha⁻¹. Neste ano de avaliação, os híbridos foram semeados na época normal de semeadura para os locais, o que indica a boa adaptação dos mesmos. Já no local EEA/UFRGS, no ano de 2005/06 os híbridos foram semeados na época tardia, o que mostra que esta época não é satisfatória para a produtividade final de milho, pois os híbridos apresentaram um rendimento médio de grãos de apenas 2.403 Kg ha⁻¹. Resultados indicam que uma grande proporção da melhora no rendimento de grãos em milho pode ser atribuída à capacidade dos híbridos mais novos tolerarem melhor às condições de estresse (Tollenaar & Wu, 1999).

Alguns híbridos apresentaram rendimentos semelhantes em todos os ambientes analisados (Sertão 2005/06, Sertão 2006/07, EEA/UFRGS 2005/06 e EEA/UFRGS 2006/07). Separando os híbridos em cinco com melhores rendimentos e cinco com piores rendimentos, é possível notar que: os híbridos AS1565, AS523 e P30F53 aparecem dentre os cinco híbridos com melhores rendimentos, em três dos quatro ambientes analisados. Já os híbridos P3232, P32R21 e Exceler aparecem dentre os cinco híbridos com os piores rendimentos, em três dos quatro ambientes analisados. O híbrido Penta, apesar de numericamente não aparecer entre os melhores híbridos, estatisticamente apresenta-se como uma das maiores classificações, em todos os ambientes avaliados (apresentando sempre a letra “a” na classificação atribuída pelo teste de Tukey). Um híbrido pode ser considerado como bom quando apresenta rendimentos satisfatórios em vários ambientes, ou em tantos ambientes quanto possíveis, mostrando assim seu alto padrão genético e capacidade de adaptação.

Em relação aos caracteres avaliados, a empresa Syngenta foi a que apresentou em média, os maiores rendimentos de grãos (Figura 4), seguida da Agroeste e da Pioneer.

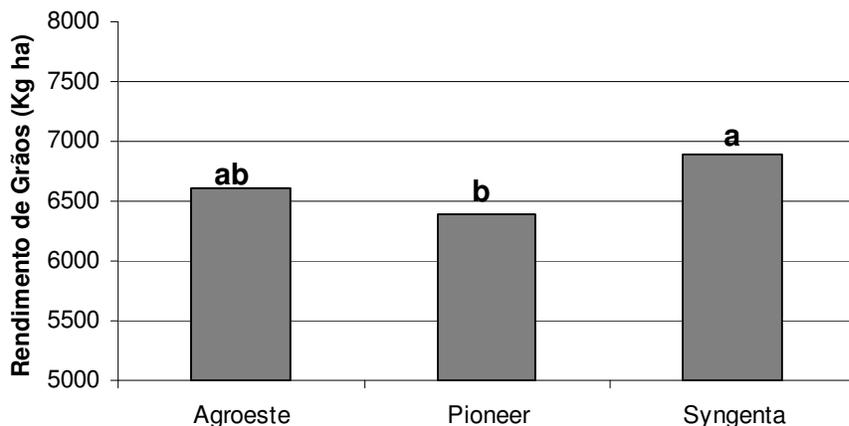


Figura 4. Rendimento médio de grãos de híbridos de milho, separado por empresas, avaliado nas safras de 2005/2006 e 2006/2007, e nos locais EEA/UFRGS e Sertão.

Porém, analisando este caráter e os outros caracteres avaliados não há, em geral, diferenças muito grandes entre as empresas estudadas, o que sugere objetivos comuns no sentido de produzir híbridos com altos rendimentos, menor estatura e inserção de espiga, alto peso de grãos, um grande número de espigas por parcela, espigas mais compridas e com grãos mais profundos, que contribuam para o rendimento final de grãos. Entretanto, é possível destacar que algumas empresas foram mais eficientes em melhorar alguns caracteres, como por exemplo, a Agroeste, que apresentou a menor estatura e menor altura de inserção de espiga de seus híbridos, a Syngenta apresentou o maior número total de espigas e maior profundidade de grãos e a Pioneer, que apresentou o maior peso de grãos e maior comprimento de espiga (Figura 5).

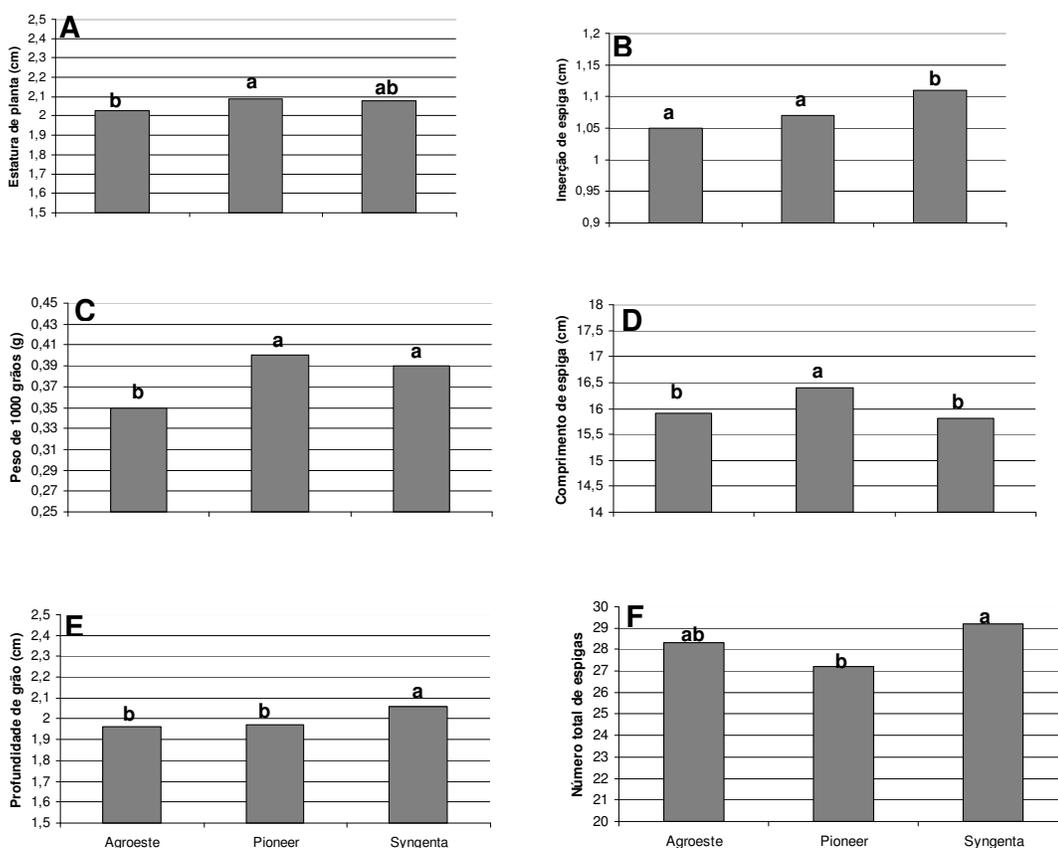


Figura 5. Características morfológicas dos híbridos, separados por empresas, avaliado nas safras de 2005/2006 e 2006/2007, e nos locais EEA/UFRGS e Sertão. A: Estatura de planta (cm); B: Inserção de espiga (cm); C: Peso de grão (g); D: Comprimento de espiga (cm); E: Profundidade de grão (cm); F: Número total de espigas.

4.2 Progresso genético

Foi feita uma análise de regressão usando o ano de lançamento como variável independente e tendo como objetivo avaliar o ganho genético no decorrer dos anos de melhoramento (Tabela 12).

Tabela 12. Resumo da análise de regressão geral para os caracteres estatura de plantas (EST), número total de espigas (NTE), número de espigas doentes (NED), diâmetro do sabugo (DIS), comprimento da espiga (COE), inserção da espiga no colmo (INS), número de fileiras (NFI), peso de 1000 grãos (PGR), profundidade de grão (PRG), rendimento de grãos (RGR), florescimento masculino (FLM) e florescimento feminino (FLF).

Variável	Empresa	b	Variável	Empresa	b
RGR		64,82	DIS		0,004
	Agroeste	54,59		Agroeste	-0,009
	Pioneer	54,27		Pioneer	0,004
	Syngenta	81,50		Syngenta	0,02**
EST		-0,037	NFI		0,14**
	Agroeste	-0,001		Agroeste	0,12**
	Pioneer	-0,002		Pioneer	0,13**
	Syngenta	-0,006		Syngenta	0,20**
NTE		0,115	PGR		-0,0006
	Agroeste	-0,11		Agroeste	-0,0009
	Pioneer	0,15		Pioneer	-0,0008
	Syngenta	0,07		Syngenta	0,0006
NED		0,098	PRG		0,003
	Agroeste	0,21		Agroeste	0,001
	Pioneer	0,19*		Pioneer	0,001
	Syngenta	0,21		Syngenta	0,0004
INS		-0,0001	FLM		-0,73
	Agroeste	-0,003		Agroeste	-0,78
	Pioneer	0,0005		Pioneer	-1,19
	Syngenta	-0,02		Syngenta	-0,21
COE		-0,03	FLF		-0,73
	Agroeste	0,055		Agroeste	-0,71
	Pioneer	-0,006		Pioneer	-0,85
	Syngenta	0,031		Syngenta	-0,87

** Significativo a 1%;

* Significativo a 5%.

No período estudado, houve acréscimo estatisticamente significativo apenas para o caráter número de fileiras por espiga (NFI). As outras variáveis analisadas não sofreram acréscimo significativo. Isso pode ter ocorrido provavelmente devido a uma razão: na época de lançamento dos híbridos mais antigos avaliados neste experimento, as empresas já haviam alcançado seus objetivos em relação ao melhoramento, deixando, portanto, de fazer pressão de

seleção para os caracteres aqui avaliados. Levando em consideração esta hipótese, é possível especular que todas as empresas utilizaram germoplasma precoce de origem subtropical para o desenvolvimento de seus híbridos, visto que todos os híbridos analisados apresentam ciclo de desenvolvimento precoce ou super-precoce. Talvez com um maior número de híbridos e uma maior amplitude de datas de lançamento os resultados pudessem ser diferentes.

O milho é uma das culturas que mais progrediu em termos de rendimento de grãos nos últimos anos. Na região central e sul do Brasil, Vencovsky et al. (1988) afirmaram que entre 1964 e 1984 o progresso genético para rendimento de grãos em milho foi próximo de 2% ao ano. Para estimar o progresso genético, tem que ser levado em conta os efeitos ambientais considerando que a melhora no ambiente é parte do ganho total. Em países tropicais, o efeito das flutuações do ambiente entre os anos tem forte influência no rendimento de grãos de milho (Fernandes & Franzon, 1997).

A estimativa do progresso genético de uma cultura deveria ser determinada usando dados de muitos ensaios (incluindo materiais antigos e novos), e em muitos ambientes (Fernandes & Franzon, 1997). Porém, o custo total deste projeto implicaria em um grande investimento. Por sua vez, o uso de ensaios avaliados em muitos anos ou até mesmo décadas seriam altamente justificáveis, principalmente pelos benefícios em previsão e/ou avaliação nos programas de melhoramento.

4.3 Análise Molecular

Dos 120 primers testados, 34 amplificaram e apresentaram padrão molecular passível de leitura e avaliação. Foram detectados 145 alelos nos 34 locos

analisados, com uma média de 4,26 alelos por loco. Um loco foi monomórfico e os restantes polimórficos, variando de dois a oito alelos por loco (Tabela 13). Os tamanhos alélicos variaram de 70 a 250 pares de bases (pb).

Wiethölter (2005) detectou em seu trabalho 60 alelos nos 23 locos analisados, com uma média de 2,3 alelos por loco. Já Almeida (2003) avaliou em milho dez locos de microsatélites e encontrou uma média de 3,3 alelos por loco. Valores similares foram encontrados por Terra (2004), que ao avaliar 13 locos de microsatélites em populações de milho comum, milho doce e teosinto, encontrou uma média de 4,4 alelos por loco.

Os valores de PIC (Tabela 13), que fornecem uma estimativa do poder discriminatório do marcador, apresentaram um valor médio de 0,7057, variando de 0,2855 a 0,9465, nos *primers* umc1702 e umc1018, respectivamente. O PIC é o grau de polimorfismo detectado a partir de um determinado par de primers, que está diretamente relacionado com a variabilidade da região nos genótipos avaliados (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Laborda et al. (2004) analisaram 50 locos de SSR em populações tropicais de milho e encontraram valores de PIC similares, variando de 0,2 a 0,9.

O dendograma construído (Figura 6) formou três grandes grupos e mais um genótipo isolado (Premium). De maneira geral, os grupos formados coincidem com as empresas que os produziram, com exceção dos genótipos AS3466 e Premium, este último formando um grupo a parte.

Tabela 13. Primers de SSR, locos, número de alelos por loco, tamanho dos alelos e PIC. Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre – RS, 2007.

Número	Primer	N° de alelos	Tamanho (pb)	PIC
1	umc 1355	3	120-150	0,655
2	umc 2164	3	130	0,589
3	mmc 006	8	160-190	0,7899
4	bmac 353	monomórfico	119	-*
5	umc 1545	6	80	0,7533
6	umc 1546	4	113	0,8291
7	umc 1547	4	84	0,6669
8	umc 1683	2	81	0,6515
9	umc 2018	4	160	0,6558
10	umc 1702	2	70	0,2855
11	umc 1063	3	123	0,7841
12	umc 1363	4	111	0,6542
13	umc 2316	2	160	0,6791
14	umc 1426	5	140	0,7781
15	umc 1397	4	158	0,8709
16	umc 2182	2	144	0,5001
17	phi 016	3	130	0,5095
18	umc 1727	7	155	0,8351
19	phi 073	4	187	0,7148
20	hc 004	6	130	0,6132
21	phi 079	5	195	0,7522
22	umc 1173	5	163	0,9070
23	nc 012	8	120	0,8487
24	umc 1564	4	145	0,6815
25	umc 1018	7	100-120	0,9465
26	umc 1056	4	150	0,8019
27	umc 1172	3	75	0,7814
28	umc 1594	6	128	0,8142
29	umc 1336	7	150-190	0,7678
30	umc 1341	4	120	0,4538
31	umc 1627	4	153	0,6884
32	phi 065	4	175	0,7144
33	phi 032	2	250	0,4735
34	umc 1097	5	120	0,8421
Média do PIC				0,7057

* Primer monomórfico

A similaridade média de Nei e Li (1979) entre todos os híbridos foi de apenas 0,54, o que indica que os programas de melhoramento de milho exploram uma grande amplitude de variabilidade genética.

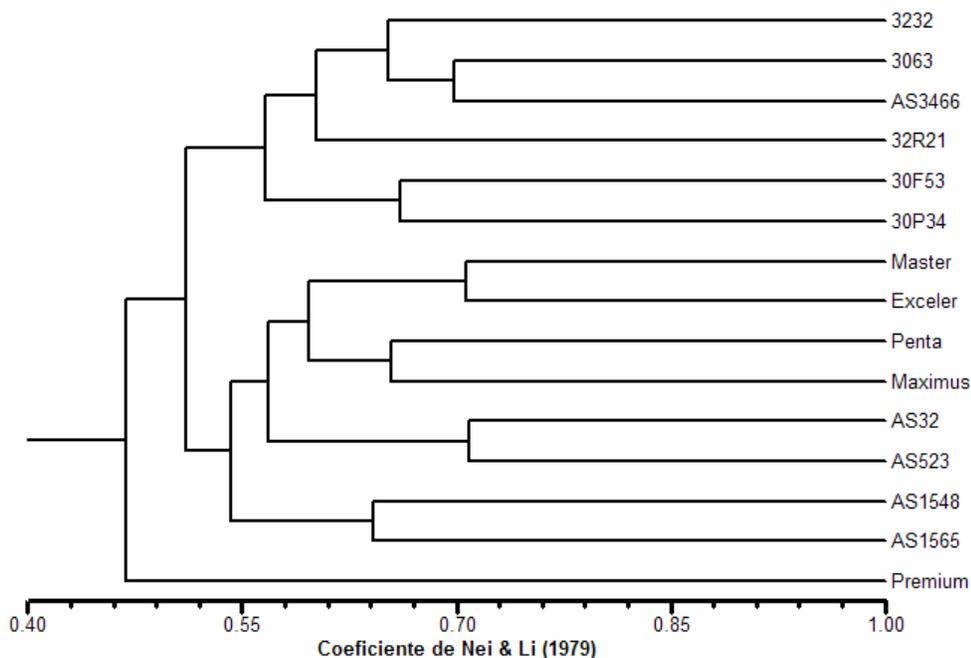


Figura 6. Similaridade Genética obtida através do Coeficiente de Nei & Li (1979) (SAHN – NTSYS). Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre – RS, 2007.

Trabalhos realizados com a cultura do milho têm demonstrado a existência de variabilidade genética na cultura. Terra (2004), analisando a diversidade genética existente entre populações de milho comum, milho doce e teosinto, observou que a distância genética entre as populações de milho e de teosinto apresentaram diferentes magnitudes, obtendo uma similaridade média de 0,68. Também foi observado que a população de teosinto apresentou um valor de distância superior (1,09), quando comparada às outras populações de milho comum e de milho doce.

Laborda et al. (2005), analisando a diversidade genética em germoplasma tropical, observaram que linhagens consideradas idênticas por um marcador, eram diferenciadas por outro. Assim, análises utilizando o marcador AFLP mostraram que algumas linhagens tinham um alto grau de similaridade genética (0,87). Entretanto, quando o marcador utilizado foi o SSR, a similaridade genética diminuiu (0,66).

Senior et al. (1998), observaram uma variação de similaridade genética de 0,21 a 0,90 entre linhagens de milho, mostrando o quão diversa é esta cultura.

É interessante notar que as empresas estão empregando germoplasma distinto, uma vez que houve um agrupamento no dendograma de acordo com as mesmas. A exceção do híbrido AS3466, que agrupou junto com os híbridos da Pioneer, pode ser explicada pelo fato de utilizarem germoplasma subtropical comum. A amostragem de microssatélites empregada também pode ter determinado este fato, pois foi utilizada somente uma pequena parte dos *primers* existentes para a cultura de milho, e sabe-se que existem grandes quantidades de marcadores microssatélites que podem ser usados para análise, e que estão disponíveis para a aquisição.

5.0 CONCLUSÕES

Os programas de melhoramento genético de milho avaliados têm sido eficientes em produzir híbridos com caracteres agronômicos superiores.

Foi possível observar um progresso genético, na amplitude de épocas de lançamento estudada neste trabalho, apenas para o caráter número de fileiras por espiga.

As empresas avaliadas estão explorando, no geral, germoplasma geneticamente distinto nos cruzamentos para a obtenção de seus híbridos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, R.W. **Principles of plant breeding**. New York: John Wiley, 1960. 485p.
- ALMEIDA, C.C.S. **Análise citogenética e molecular em milho (*Zea mays* subsp. *mays*), teosinto, *Zea mays* subsp. *mexicana* e em seus híbridos**. 2003. 47f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.
- ANDRADE, R.V.; SANTOS, M.X.; FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, A.C. Avaliação de acessos de milho crioulo coletados na região central do Brasil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.1, n.2, p.67-74, 2002.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.; BORTOLINI, C.G.; FORSTHOFER, E.L.; MANJABOSCO, E.A.; BEHEREGARAY NETO, V. Resposta de híbridos simples de milho à redução do espaçamento entre linhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.1, p.71-78, 2001.
- BALBINOT Jr, A.A.; FLECK, N.G. Manejo de plantas daninhas na cultura de milho em função do arranjo espacial de plantas e características dos genótipos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.245-252, 2004.
- BARBOSA NETO, J.F.; MATIELLO, R.R.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, J.M.S.; PEGORARO, D.G.; SCHNEIDER, F.; SORDI, M.E.B.; VACARO, E. Progresso genético no melhoramento da aveia-branca no Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.8, p.1605-1612, 2000.
- BERED, F. Domesticação em plantas. In.: FREITAS, L.B.; BERED, F. **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre : UFRGS, 2003. 463p.
- BERED, F.; BARBOSA NETO, J.F.; CARVALHO, F.I.F. Marcadores moleculares e sua utilização no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n.3, p.513-520, 1997.
- BETRÁN, F.J.; BECKB, A.D.; BÄNZIGERC, M.; EDMEADESD, G.O. Genetic analysis of inbred and hybrid grain yield under stress and nonstress environments in tropical maize. **Crop Science**, Madison, v.43, n.5, p.807-817, 2003.
- BUCKLER, E.S.; GAUT, B.S.; McMullen, M.D. Molecular and functional diversity of maize. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.9, n.2, p.172–176, 2006.
- CARVALHO, F.I.F.; FEDERIZZI, L.C.; NODARI, R.O.; FLOSS, E.L.; GANDIM, L.C. Analysis of stability parameters and of genotype x environment interaction in oats grain yield in Rio Grande do Sul (Brasil). **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto , v.5, n.1, p.517-532, 1982.

COIMBRA, J.L.M.; GUIDOLIN, A.F.; CARVALHO, F.I.F.; COIMBRA, S.M.M.; MARCHIORO, V.S. Análise de trilha I: análise do rendimento de grãos e seus componentes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.213-218, 1999.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Central de informações agropecuárias**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/MilhoTotalSerieHist.xls>. Acessado em: 02 jul. UFRGS, 2007.

DOEBLEY, J. F. et al. Genetic and morphological analysis of maize-teosinte F₂ population: implications for the origin of maize. **Proceedings National Academy of Science of United States of America**, Washington, v.87, n.1, p.9888-9892, 1990.

DOEBLEY, J.; BACIGALUPO, A.; STEC, A. Inheritance of kernel weight in two maize – teosinte hybrid populations: implications for crop evolution. **Journal of Heredity**, Oxford, v.85, p.191-195, 1994.

DOEBLEY, J.F. The genetics of maize evolution. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v.38, n.1, p.37-59, 2004.

DUVICK, D.N. Biotechnology in the 1930s: the development of hybrid maize. **Nature Genetics**, New York, v.2, n.1, p.69-74, 2001.

DUVICK, D.N. Genetic contributions to advances in yield in U.S. maize. **Maydica**, Bergamo, v.37, n.1, p.69–79, 1992.

DUVICK, D.N. Genetic diversity in major crops on the farm and in reserve. **Economic Botanic**, Sydney, v.38, n.2, p.161-178, 1984.

DUVICK, D.N. What is yield? In: EDMEADES, G.O.; BAENZINGER, M.; MICKELSON, H.R.; PENA-VALDIVIA, C.B. (eds.). **Developing drought- and low N-tolerant maize**. Proceedings of a Symposium. Cidade do México: CIMMYT, 1997. p.332–335.

DUVICK, D.N.; CASSMAN, K.G. Post–Green Revolution Trends in Yield Potential of Temperate Maize in the North-Central United States. **Crop Science**, Madison, v.39, n.3, p.1622–1630, 1999.

EBERHART, S.A.; RUSSEL, W.A. Stability parameters for comparing varieties. **Crop Science**, Madison, v.6, n.1, p.36-40, 1966.

EPINAT-LE SIGNOR, C.; DOUSSE, S.; LORGEOU, J.; DENIS, J.B.; BONHOMME, R.; CAROLO, P.; CHARCOSSET, A. Interpretation of genotype x environment interactions for early maize hybrids over 12 years. **Crop Science**, Madison, v.41, n.3, p.663-669, 2001.

FAO - **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <http://www.fao.org/2007>. Acesso: jan. 2007.

FEDERIZZI, L.C.; BARBOSA NETO, J.F.; CARVALHO, F.I.F.; VIAU, L.V.M.; SEVERO, J.L.; FLOSS, E.L.; ALVES, A.; ALMEIDA, J.; SILVA, A.C. Estabilidade do rendimento de grãos em aveia: efeito do uso de fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.28, n.2, p.465-472, 1993.

FEIL, B. Breeding progress in small grain cereals — a comparison of old and modern cultivars. **Plant Breeding**, Berlin, v.108, n.1, p.1–11, 1992.

- FERNANDES, J.S.C.; FRANZON, J.F. Thirty years of genetic progress in maize (*Zea mays* L.) in a tropical environment. **Maydica**, Bergamo, v.42, n.1, p.21-27, 1997.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3 ed. Brasília : Embrapa-Cenargen, 1998. 220p.
- FINLAY, K.W.; WILKINSON, G.N. The analysis of adaptation in a plant breeding programme. **Australian Journal of Agricultural Research**, Australia, v.14, p.742-754, 1963.
- FLÉNET, F.; KINIRY, J. R.; BOARD, J. E.; WESTGATE, M. E.; REICOSKY, D. C. Row spacing effects on light extinction coefficients of corn, sorghum, soybean, and sunflower. **Agronomy Journal**, Madison, v.88, n.2, p.185-190, 1996.
- FORSTHOFER, E.L.; SILVA, P.R.F.; STRIEDER, M.L.; MINETTO, T.; RAMBO, L.; ARGENTA, G.; SANGOI, L.; SUHRE, E.; SILVA, A.A. Desempenho agrônômico e econômico do milho em diferentes níveis de manejo e épocas de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.3, 2006.
- GALINAT, W.C. Evolution of corn. In: SPARKS, D.L. **Advances in agronomy**. London: Academic Press, 1992. 403p.
- GALINAT, W.C. The origin of corn. In: SPRAGUE, G. F. (ed). **Corn and Corn Improvement**. Madison: American Sociedade Agronomic, 1977. 47p.
- GAUT, B.S.; MAUD, L.T.; PEEK, A.; SAWKINS, M.C. Maize as a model for the evolution of plant nuclear genomes. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 97, n. 13, p. 7008-7015, 2000.
- GONZALO, M.; VYN, T.J.; HOLLAND, J.B.; MCINTYRE, L.M. Mapping density response in maize: a direct approach for testing genotype and treatment interactions. **Genetics**, Bethesda, v.173, n.3, p.331-348, 2006.
- GOODMAN, M.M. História e Origem do Milho. In.: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G.P. **Melhoramento e produção de milho**. Fundação Cargill: Campinas, 1987. 3-23p.
- GOODMAN, M.M. Maize. In: SIMONS, N.W.; SMARTT, J. **Evolution of crop plants**. 2.ed. New York: Longman Scientific Technical, 1995. 531p.
- IBGE. **Sistema IBGE de recuperação automática**. Brasília, 2005. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acessado em 12 MAR 2007.
- KANG, M.S.; GORMAN, D.P. Genotype x environment interaction in Maize. **Agronomy Journal**, Madison, v.81, n.4, p.662-664, 1989.
- LABORDA, P.R.; OLIVEIRA, K.M.; GARCIA, A.A.F.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; SOUZA, A.P. Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.111, n.7, p.1288-1299, 2005.
- LABORDA, P.R.; OLIVEIRA, K.M.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, A.P. Diversidade genética entre linhagens de milho tropical: comparação entre marcadores AFLP e Microssatélites. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 25., 2004, Cuiabá. **Resumos...** Sete Lagoas: ABMS: Embrapa Milho e Sorgo: Empaer, 2004. Disponível em CDROM.

LUQUE, S.F.; CIRILO, A.G.; OTEGUI, M.E. Genetic gains in grain yield and related physiological attributes in Argentine maize hybrids. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.95, n.2-3, p. 383-397, 2006.

MAIZEGDB – **Maize Genetics and Genomics Database**. Disponível em: <http://www.maizegdb.org/>. Acesso em: jan. 2007.

MANGELSDORF, P. C. **Corn, its origin, evolution and improvement**. Cambridge, Massachusetts : Harvard University Press, 1974. 262 p.

MARIO, J.L.; REIS, E.M.; BONATO, E.R. Reação de híbridos de milho inoculados, em espigas, com *Diplodia maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.28, n.2, p.155-158, 2003.

MELO, W.M.C.; PINHO, R.G.V.; SANTOS, J.B.; FERREIRA, D.F. Utilização de caracteres morfoagronômicos e marcadores moleculares para a avaliação da divergência genética entre híbridos de milho. **Revista Ceres**, Viçosa, v.48, n.276, p.195-207, 2001.

MIRANDA FILHO, J.B.; VIÉGAS, G.P. Milho Híbrido. In.: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G.P. **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 409p.

MOLINA, M.C.; POGGIO, L.; NARANJO, C. Cytogenetic analysis in *Zea mays* ssp. *mays* x *Zea mays* ssp. *parviglumis* and *Zea mays* ssp. *mays* x *Zea mays* ssp. *mexicana*. **Maize Genetics Cooperation News Letter**, Missouri, v.107, n.66, 1992.

MURRAY, M.; THOMPSON, W.F. Rapid isolation of high-molecular-weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.8, n.1, p.4321-4325, 1980.

NACHIT, M.N.; SORRELLS, M.E.; ZOBEL, R.W.; GAUCH, H.G.; FISCHER, R.A.; COFFMAN, W.R. Association of environmental variables with sites' mean grain yield and components of genotype-environment interaction in durum wheat. **Journal of Genetic and Breeding**, Roma, v.46, n.1, p.369–372, 1992.

NAGY, E.; VOICHIȚA, H.; KADAR, R. The influence of fusarium ear infection on the maize yield and quality (Transylvania-Romania). **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences**, Ghent, v.71, n.3, p.1147-1150, 2006.

NEI, M.; LI, W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v.76, n.1, p.5269-5273, 1979.

OTTMAN, M.J.; WELCH, L.F. Planting patterns and radiation interception, plant nutrient concentration, and yield in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v.81, n.2, p.167-174, 1989.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M.S. Melhoramento de milho. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. 817p.

PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; LUDERS, R.R.; DUARTE, A.P.; GALLO, P.B.; SAWAZAKI, E. Performance of maize triple cross-way hybrids in three environments in São Paulo State, Brazil. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.4, p.597-605, 2006.

PEIXOTO, C.M. **Resposta de genótipos de milho à densidade de plantas, em dois níveis de manejo**. 1996. 118f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-

graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1996.

PIPERNO, D.R.; FLANNERY, K.V. The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: New accelerator mass spectrometry dates and their implications. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v.98, n.4, p.2101-2103, 2001.

POEHLMAN, J.M.; SLEPER, D.A. **Breeding field crops**. Ames: Iowa State University, 1995. 494p.

POGGIO, L.; CONFALONIERI, V.; COMAS, C.; GONZALEZ, G.; NARANJO, C.A. Evolutionary relationships in the genus *Zea*: analysis of repetitive sequences used as cytological FISH and GISH markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.4, p.1021-1027, 2000.

PRESSOIR, G.; BERTHAUD, J. Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. **Heredity**, Basingstoke, v.92, n.1, p.95-101, 2004

RAJCAN, I.; SWANTON, C.J. Understanding maize-weed competition: resource competition, light quality and the whole plant. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.71, n.2, p.139-150, 2001.

REIF, J.C.; HAMRIT, S.; HECKENBERGER, M.; SCHIPPRACK, W.; MAURER, H.P.; BOHN, M.; MELCHINGER, A.E. Trends in genetic diversity among European maize cultivars and their parental components during the past 50 years. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.111, n.5, p.838-845, 2005.

REIF, J.C.; MELCHINGER, A.E.; XIA, X.C.; WARBURTON, M.L.; HOISINGTON, D.A.; VASAL, S.K.; ERINIVASAN, G.; BOHN, M.; FRISCH, M. Genetic distance on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 1275-1282, 2003.

RIBEIRO, N.D.; CARGNELUTTI FILHO, A.; TRENTIN, M.; POERSCH, N.L.; JOST, E.; ROSA, S.S. Progresso genético de caracteres fenológicos e morfológicos da cultura do feijoeiro no estado do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., 2005, Goiânia. **Anais...** Santo Antônio de Goiás : Embrapa Arroz e Feijão, 2005. v.1. p.539-542.

ROHLF, F.J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. New York: Exeter Software, 2000. 38p. (version 2.1).

ROMAN, E.S.; THOMAS, A.G.; MURPHY, S.D.; SWANTON, C.J. Modeling germination and seedling elongation of common lambsquarters (*Chenopodium album*). **Weed Science**, Lawrence, v.47, n.1, p.149-155, 1999.

RUSSELL, W.A. Comparative performance for maize hybrids representing different eras of maize breeding. In: ANNUAL CORN & SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 29.,1977, Chicago. **Proceedings**. Washington: American Seed Trade Association, 1977. p.81-101.

SANGOI, L. Aptidão dos campos de Lages (SC) para produção de milho em diferentes épocas de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.28, n.1, p.51-63, 1993.

- SANGOI, L. Understanding plant density effects on maize growth and development: an important issue to maximize grain yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p.159-168, 2001.
- SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L.; SILVA, P.R.F.; ARGENTA, G. Bases morfofisiológicas para maior tolerância dos híbridos modernos de milho a altas densidades de plantas. **Bragantia**, Campinas, v.61, n.2, p.101-110, 2002.
- SANGOI, L.; GUIDOLIN, A.F.; COIMBRA, J.L.M.; SILVA, P.R.F. Resposta de híbridos de milho cultivados em diferentes épocas à população de plantas e ao despendoamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1367-1373, 2006.
- SAS INSTITUTE. **SAS language and procedures**: usage. Version 8.1. Cary, 2000. CD-ROM.
- SENIOR, M.L.; MURPHY, J.P.; GOODMAN, M.M.; STUBER, C.W. Utility of SSR for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. **Crop Science**, Madison, v.38, n.1, p.1088-1098, 1998.
- SILVA, J.A.G.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; VIEIRA, E.A.; BENIN, G.; VALÉRIO, I.P.; CARVALHO, M.F.; FINATTO, T.; BUSATO, C.C; RIBEIRO, G. Correlação de acamamento com rendimento de grãos e outros caracteres de interesse agrônômico em plantas de trigo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.756-764, 2006.
- SILVA, P.R.F.; ARGENTA, G. Ecofisiologia e fenologia das culturas do milho e do sorgo. In: PARFITT, J.M.B. (Ed.). **Produção de milho e sorgo na várzea**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000. p.7-18.
- SILVA, P.R.F.; ARGENTA, G.; REZERA, F. Resposta de híbridos de milho irrigado à densidade de plantas em três épocas de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.4, 1999.
- SMITH, J.S.C.; SMITH, O.S. The use of morphological, biochemical and genetic characteristics to measure distance and to test for minimum distance between inbred lines of maize (*Zea mays* L.). **Maydica**, Bergamo, v.34, n.1, p.141-150, 1989.
- SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy**. San Francisco: Freeman, 1973. 573p.
- TANKSLEY, S.D. Mapping poligenes. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v.27, n.1, p.205-233, 1993.
- TANKSLEY, S.D.; YOUNG, N.D.; PATERSON, A.H.; BONIERBALE, M.W. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. **Biotechnology**, Martinsville, v.7, n.3, p.257-264, 1989.
- TEIXEIRA, F.F.; ANDRADE, R.V.; OLIVEIRA, A.C.; FERREIRA, A.S.; SANTOS, M.X. Diversidade no germoplasma de milho coletado na região nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.1, n. 3, p.59-67, 2002.
- TERRA, T.F. **Análises citogenéticas e moleculares em populações de milho (*Zea mays* L.), teosinto (*Zea mexicana*) e em híbridos entre as duas espécies**. 2004. 67f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

- TOKATLIDIS, L.S.; KOUTROUBAS, S.D. A review of maize hybrids' dependence on high plant populations and its implications for crop yield stability. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.88, n.1, p.103-114, 2004.
- TOLLENAAR, M; AGUILERA, A. Radiation use efficiency of an old and a new maize hybrid. **Agronomy Journal**, Madison, v.84, n.3, p.536-541, 1992.
- TOLLENAAR, M., MCCULLOUGH, D.E., DWYER, L.M. Physiological basis of the genetic improvement of corn. In: SLAFER, G.A. **Genetic improvement of field crops**. New York: Marcel Dekker, 1994. p.183-236
- TOLLENAAR, M.; LEE, E.A. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.75, n.1, p.161-169, 2002.
- TOLLENAAR, M; WU, J. Yield improvement in temperate maize is attributable to greater stress tolerance. **Crop Science**, Madison, v.39, n.4, p.1597-1604, 1999.
- VENCOVSKY, R.; MORAIS, A.R.; GARCIA, J.C.; TEIXEIRA, N.M. Progresso genético em vinte anos de melhoramento do milho no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 16., 1986, Belo Horizonte. **Anais**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1988, p.300-307.
- VIGOUROUX, Y.; MITCHELL, S.; MATSUOKA, Y.; HAMBLIN, M.; KRESOVICH, S.; SMITH, J.S.C.; JAQUETH, J.; SMITH, O.S.; DOEBLEY, J. An analysis of genetic diversity across the maize genome using microsatellites. **Genetics**, Bethesda, v.169, n.4, p.1617-1630, 2005.
- WANG, R.L.; STEC, A.; HEY, J.; LUKENS, L.; DOEBLEY, J. The limits of selection during maize domestication. **Nature**, London, v. 398, p. 236-239, 1999.
- WHITE, S.E.; DOEBLEY, J.F. Of genes and genomes and the origin of maize. **Trends in Genetics**, Oxford, v. 14, n. 8, 1998.
- WIETHÖLTER, P. **Análise da variabilidade genética em genótipos de milho crioulo (Zea mays ssp. mays)**. 2005. 77f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- YAN, W.; L.A. HUNT. Interpretation of genotype by environment interaction for winter wheat yield in Ontario. **Crop Science**, Madison, v.41, n.1, p.19-25, 2001.