

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO

LILIANA APARECIDA RIBEIRO MARTINS

Caracterização molecular e morfoagronômica de variedades de milho (*Zea mays* L.)
cultivadas em comunidades rurais do Estado do Espírito Santo

ALEGRE, ES

JULHO - 2020

LILIANA APARECIDA RIBEIRO MARTINS

Caracterização molecular e morfoagronômica de variedades de milho (*Zea mays* L.)
cultivadas em comunidades rurais do Estado do Espírito Santo

Tese apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título "*Doctor Scientiae*" em Genética e Melhoramento.

Orientadora: Prof. Dr^a Taís Cristina Bastos Soares

Coorientadora: Dr^a. Carla Cristina Gonçalves Rosado

ALEGRE, ES

JULHO – 2020

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

M379c Martins, Liliana Aparecida Ribeiro, 1991-
Caracterização molecular e morfoagronômica de variedades de milho (*Zea mays* L.) cultivadas em comunidades rurais / Liliana Aparecida Ribeiro Martins. - 2020.
106 f. : il.

Orientadora: Taís Cristina Bastos Soares.
Coorientadora: Carla Cristina Golçalves Rosado.
Tese (Doutorado em Genética e Melhoramentos) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Melhoramento genético. 2. Biologia molecular. 3. milho variedades. I. Soares, Taís Cristina Bastos. II. Rosado, Carla Cristina Golçalves. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 631.523

Caracterização molecular e morfoagronômica de variedades de milho (*Zea mays* L.) cultivadas em comunidades rurais

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para a obtenção de título Doutora em Genética e Melhoramento.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dra. Taís Cristina Bastos Soares
Orientadora

Dra. Carla Cristina Gonçalves Rosado
Coorientadora

Prof. Dra. Milene Miranda Praça Fontes

Dr. José Arcanjo Nunes

Prof. Dr. Pablo Diego da Silva Cabral

Dedico,

Ao meu amado pai, João Mariano Martins (*in memoriam*), que lutou e sonhou comigo todos os dias de nossas vidas.

Ofereço

Ao meu amado esposo, Diego Machado, que não deixou de acreditar em mim em nenhum momento, e me sustentou até aqui.

E continuo, apesar da saudade. Apesar de me sentir pela metade. Continuo porque é o que resta. Aprendi que se a gente não levar a vida, ela nos leva de qualquer jeito...

Caio Fernando Abreu

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter tido a oportunidade de ingressar no que era meu maior sonho, e mais ainda, por me permitir ter forças para levantar e cumprir a minha missão.

Ao meu pai, João Mariano Martins (*in memoriam*), por ter me apoiado, lutado e sonhado comigo. Esse sempre foi nosso sonho, nossa conquista. Obrigada por ter acreditado em mim desde o início, por ser meu suporte em todos os momentos da minha vida. Hoje sigo os seus valores, seus princípios, e sempre sentindo o seu amor e seu cuidado por mim.

As minhas tias Zinma e Ilda que sempre cuidaram de mim com todo o amor, e cederam o espaço para condução dos experimentos, como forma de apoio. A minha irmã Leiliane por me acompanhar em todos os momentos e me apoiar em todas as decisões.

Ao meu esposo, Diego Antônio Machado, por ter passado cada momento comigo, respeitando e me ajudando a seguir em frente mesmo frente as dificuldades da vida. Obrigada por tudo, e por não desistir de mim.

Agradeço imensamente a minha orientadora Taís Cristina Bastos Soares, por além de ser uma excelente profissional, é um ser humano incrível, altruísta, generosa e bondosa. Você não deixou de acreditar em mim, e me deu forças para continuar até aqui. Muito obrigada por todos os ensinamentos, as críticas construtivas, a paciência e o amor dedicados a mim.

Ao amigo e Dr. José Arcanjo Nunes, pelo projeto que veio como um presente para mim, pela amizade dedicada a mim e ao meu pai por tantos anos, pelo abraço amigo numa hora tão difícil e por estar comigo em todos os momentos.

A Dr. Carla Cristina Rosado, pelos ensinamentos acadêmicos e pela amizade a mim dedicada, pela compreensão, apoio e companhia em todo o período do doutorado. Serei eternamente grata.

Ao Professor Fábio Demolinari pelas considerações tanto no projeto, como no exame de qualificação, sempre muito relevantes.

A Professora Milene Miranda Praça Fontes, por ter aceitado compor a banca, pelas considerações na defesa e pela amizade de sempre.

Ao Professor Pablo Diego pelas considerações na defesa e na tese.

A amiga e secretaria do Programa, Sabrina Furtado, por toda dedicação, apoio e disponibilidade, com certeza você faz a diferença na sua função, muito obrigada de coração.

Ao Rodrigo Monte Lorenzoni, meu amigo pessoal e acadêmico, que não mediu esforços para me ajudar em todos os momentos, e que deixou os dias mais leves com o humor de uma sincera amizade.

Aos amigos Cassio Torres e Ramon Machado pela ajuda na condução das análises em laboratório e em campo, e pela amizade de sempre. Aos amigos Lucimara, Adelson, Edilson, Cadu, Davi, Bruno, Conceição e Yumi pela companhia em laboratório e pela ajuda na instalação dos experimentos em campo. Vocês foram muito importantes!

Aos meus amigos pessoais Paulo, Micheli, Paula, Lucimara, Ariane e Vinicio pelo apoio e amizade.

A Universidade Federal do Espírito Santo, ao Centro de Ciências Agrárias e Engenharias e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade.

A FAPES pelo financiamento do projeto e concessão de bolsa durante todo o período.

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	14
1. Introdução geral	15
2. Revisão Bibliográfica	16
2.1 Origem e aspectos botânicos	16
2.2 Milho Híbrido e Milho Variedade	17
2.3 Variedades locais e crioulas.....	18
2.4 Caracterização molecular	19
2.5 Caracterização morfoagronômica	20
2.6 Melhoramento Genético Participativo.....	21
Referências	23
4. Capítulo I – Caracterização molecular de variedades de milho (<i>Zea mays</i> L.) cultivadas em comunidades rurais	28
Resumo.....	28
4.1 Introdução.....	29
4.2 Material e Métodos	30
4.2.1 Material vegetal e Análise molecular	30
4.2.2 Extração de DNA.....	33
4.2.3 Seleção de primers SSR	34
4.2.4 Amplificação de fragmentos microssatélites e gel de eletroforese	34
4.2.5 Análise dos dados	35
4.3 Resultados e Discussão.....	36
4.4 Conclusões	47
Referências	48
5. Capítulo II – Caracterização morfoagronômica de variedades de milho (<i>Zea mays</i> L.) cultivadas em Comunidades Rurais do Espírito Santo	51
Resumo.....	51
5.1 Introdução.....	52
5.2 Material e Métodos	53
5.2.1 Material genético	53
5.2.2 Avaliação dos caracteres agronômicos	59
5.2.3 Análises estatísticas	60
5.4 Resultados e discussão	62

5.4.1 Análise conjunta	62
5.4.2 Herdabilidade	77
5.4.3 Correlação genotípicas e fenotípicas.....	78
5.4.4. Distância generalizada de Mahalanobis e Importância relativa de caracteres	82
5.4.5 Análise de componentes principais	86
5.4.6 Índices de seleção.....	88
5.5 Conclusões	91
6. Conclusões gerais	92
Referências	93

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

AMOVA – Análise de Variância Molecular

ANOVA – Análise de Variância

CCC – Coeficiente de Correlação Cofenética

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

He – Heterozigosidade esperada

Ho – Heterozigosidade observada

IAC – Instituto Agronômico de Campinas

INCAPER – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural

ISSR - *Inter Simple Sequence Repeat*

PCoA – Análise de componentes principais

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PIC – Conteúdo de informação polimórfica

RAPD - *Random Amplified Polymorphic DNA*

RFLP - *Restriction Fragment Length Polymorphism*

SNPs - *Single Nucleotide Polimorphism*

SSR – *Simple Sequence Repeat*

UPGMA – Unweighed Pair Group Method Arithmetic Mean

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sementes de milho em processo de germinação em placa de Petri: A: sementes de uma variedade em processo de germinação; B: sementes de quatro diferentes variedades em processo de germinação.	33
Figura 2 - Sementes dos dezesseis variedades de milho cultivadas em casa de vegetação.	33
Figura 3 - Dendograma resultante da análise de dezesseis variedades de milho obtido pelo método de agrupamento UPGMA, com base na matriz de dissimilaridade.....	42
Figura 4 - Experimento em campo mostrando a plantação de milho referente ao ano agrícola 2017 – 2018.	57
Figura 5 - Dias de chuva nos anos 2018-2019 da microrregião do Caparaó, segundo o INCAPER	57
Figura 6 -Temperatura mínima media nos anos 2018 – 2019, na microrregião do Caparaó, segundo o INCAPER.....	58
Figura 7 -Correlações genotípicas (vermelho – vertical) e fenotípicas (azul – diagonal) das doze características avaliadas nas dezesseis variedades de milho. NPT: número de plantas total; AP: altura de plantas; AE: altura de espigas; NESPD: número de espigas doentes; NPQ: número de plantas quebradas; NESP: número de espigas; PE: peso de espigas; PG: peso de grãos; NPA: número de plantas acamadas; UMD: umidade; FM: florescimento masculino; FF: florescimento feminino.....	80
Figura 8 - Dendograma resultante da análise de dezesseis variedades de milho obtido pelo método de agrupamento UPGMA, com base na distância generalizada de Mahalanobis. ...	83
Figura 9 - Componentes principais das características agrônômicas nas variedades de milho	87
Figura 10 - Dispersão (gráfico biplot) das características analisadas em dezesseis variedades de milho.....	88
Figura 11 – Instalação, desenvolvimento e colheita do primeiro experimento em campo, realizado entre novembro de 2017 a abril de 2018.....	94
Figura 12 – Instalação, desenvolvimento e análises pós colheita do segundo experimento em campo, realizado entre maio de 2018 a setembro de 2018.	94
Figura 13 – Instalação, desenvolvimento e colheita do terceiro experimento em campo, realizado entre outubro de 2018 a abril de 2019.....	94
Figura 14 – Genótipos colhidos em campo: 1:Aliança – 02; 2: Fortaleza M-3; 3:São José; 4:Fortaleza M-2; 5:Eldorado; 6:Fortaleza M-4; 7: Incaper 203; 8: Fortaleza M-5.	94
Figura 15 – Genótipos colhidos em campo 9: Fortaleza NV; 10: Fortaleza MS-1; 11: Fortaleza AC; 12: BR106; 13: Imperador – Es204; 14: Aliança 01; 15: Fortaleza M-1; 16: Sol da Manhã.	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variedades de milho cultivados em comunidades rurais, selecionadas para caracterização molecular.....	31
Tabela 2 - 23 locos SSR amplificados, suas respectivas sequencias, número do Bin e conteúdo de informação polimórfica (PIC)	36
Tabela 3 - Índice de diversidade genética estimados para os vinte e três locos microssatélites com base nos dados das dezesseis variedades de milho em estudo.	38
Tabela 4 - Matriz de dissimilaridade genética entre dezesseis variedades de milho, calculadas com base no complemento do coeficiente de similaridade do Índice Ponderado, utilizando vinte e três marcadores SSR	44
Tabela 5 - Análise de variância molecular entre as dezesseis variedades de milho	46
Tabela 6 – Experimentos realizados em campo para caracterização morfoagronômica das dezesseis variedades de milho.....	56
Tabela 7 - Resumo da Análise de variância (ANOVA) conjunta, teste F e CV (%) para as características avaliadas nas variedades de milho	64
Tabela 8 – Características peso de espigas, peso de grãos e número de plantas total nas dezesseis variedades de milho em estudo, nos três experimentos realizados	68
Tabela 9 – Características número de plantas acamadas, número de plantas quebradas e número de espigas total nas dezesseis variedades de milho em estudo, nos três experimentos realizados	72
Tabela 10 - Características número de espigas doentes, umidade e altura de plantas nas dezesseis variedades de milho em estudo, nos três experimentos realizados	74
Tabela 11 - Características altura de espigas, florescimento masculino e florescimento feminino nas dezesseis variedades de milho em estudo, nos três experimentos realizados	76
Tabela 12 – Coeficiente de herdabilidade para as características estudadas	78
Tabela 14 - Agrupamento de Tocher de dezesseis variedades de milho com base na distância generalizada de Mahalanobis.....	84
Tabela 15 – Contribuição relativa dos caracteres para a diversidade baseada na distância generalizada de Mahalanobis.....	85
Tabela 16 - Estimativas de ganhos com a seleção (GS%) obtidos para doze caracteres pelo índice clássico proposto por Smith(1936) e Hazel(1943) (SH), índice de soma de “ranks” de Mulamba e Mock (1978) (MM) e índice livre de pesos e parâmetros (Elston, 1963).	90

RESUMO

O milho é uma cultura destinada tanto para o consumo humano como animal, e nos últimos anos houve uma mudança no cenário de escolha de variedades para cultivo do milho, onde as tradicionais variedades perderam lugar para os híbridos. Porém, as variedades de milho são materiais mais rústicos, e apresentam uma maior diversidade genética acumulada ao longo do processo de domesticação e pela seleção efetuada pelos agricultores. Por esse motivo, vários agricultores ainda utilizam tais materiais, sendo uma forma importante de conservação da variabilidade genética *on farm*. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo realizar a caracterização molecular e morfoagronômica de variedades de milho disponíveis para cultivo em diferentes comunidades rurais do Espírito Santo, a fim de identificar materiais mais adequados e que possam se adaptar ao local de cultivo. Para a caracterização molecular, a similaridade genética entre todas as variedades foi calculada pelo Índice Ponderado, e com base na matriz de dissimilaridade, foi realizado o agrupamento pelo método UPGMA. A dissimilaridade genética entre as variedades variou de 0,51 a 0,98, e análise de agrupamento foi eficiente no agrupamento das variedades, sugerindo um total de quatro grupos. A maioria das variedades foi agrupada de acordo com a sua origem, exceto pela variedade São José, que apresentou grande divergência genética com relação aos outros, devido à segregação que esse material sofreu frente à seleção realizada pelo agricultor responsável por essa variedade. A análise de variância molecular demonstrou concordância com os dados da dissimilaridade genética, mostrando que a maioria da diversidade genética encontrada está dentro das variedades, e não entre elas. Para a caracterização morfoagronômica, foram realizados três experimentos em campo, sendo dois em safra verão e um em safra inverno, com dezesseis variedades de milho. A partir desses experimentos, foi possível perceber que a variedade Fortaleza se destacou em algumas características analisadas, assim como as variedades Sol da Manhã e Eldorado. Concluiu-se também que, a variedade Fortaleza - NV e a variedade Eldorado apresentaram-se divergentes, e também apresentaram bons resultados nas características morfoagronômicas analisadas, o que indica que podem ser utilizados para futuros cruzamentos, a fim de visar ganhos com relação à produtividade.

ABSTRACT

Corn is a crop intended for both human and animal consumption, and in recent years there has been a change in the scenario of choice of varieties for growing corn, where traditional varieties have lost place to hybrids. However, these varieties have great genetic diversity due to their cultivation and selection over the years. In this sense, the present work aimed to perform the molecular and morpho-agronomic characterization of corn varieties available for cultivation in different rural communities in Espírito Santo, in order to identify more suitable materials that can adapt to the cultivation site and also evaluate the genetic variability between local varieties, improved in a participatory way, and commercial ones, improved in a conventional way. For molecular characterization, the genetic similarity between all varieties was calculated using the Weighted Index, and based on the dissimilarity matrix, grouping was performed using the UPGMA method. The genetic dissimilarity between the varieties ranged from 0.51 to 0.98, and cluster analysis was efficient in grouping the varieties, suggesting a total of four groups. Most varieties were grouped according to their origin, except for the São José variety, which showed great genetic divergence in relation to the others, due to the segregation that this material suffered from the selection made by the farmer responsible for this variety. The analysis of molecular variance demonstrated agreement with the data of genetic dissimilarity, showing that most of the genetic diversity found is within the varieties, and not between them. For the morpho-agronomic characterization, three experiments were carried out in the field, two in summer and one in winter, with sixteen varieties of corn. From these experiments, it was possible to notice that the Fortaleza variety stood out in some characteristics analyzed, as well as the Sol da Manhã and Eldorado varieties. It was also concluded that the variety Fortaleza - NV and the variety Eldorado were divergent, and also showed good results in the morpho-agronomic characteristics analyzed, which indicates that they can be used for future crossings, in order to aim at gains in relation to productivity.

1. Introdução geral

Nas últimas décadas, o milho alcançou o patamar de maior cultura agrícola do mundo, sendo a única a ter ultrapassado a marca de 1 bilhão de toneladas colhidas, deixando para trás outras culturas como o arroz e o trigo. Além disso, a cultura se notabiliza pelos diversos usos, como alimentação humana e animal, e também para produção de biocombustíveis e bebidas (CONTINI et al., 2019).

O milho é cultivado em todas as regiões do Brasil, e sua produção ocorre em diferentes épocas e em diferentes condições climáticas. O cultivo de primeira safra é realizado no período primavera/verão, e predomina na maioria das regiões produtoras, e o cultivo realizado com semeio concentrado no verão/outono é denominado como segunda safra (COSTA et al., 2010).

Atualmente, no Brasil, o germoplasma de milho é constituído por raças locais, populações adaptadas e materiais exóticos introduzidos, sendo caracterizado por uma ampla variabilidade genética (ARAUJO e NASS, 2002; PERFEITO et al., 2017). Fatores como condições climáticas, manejo da adubação e estado fisiológico dos grãos pós-colheita podem refletir em alterações na qualidade do milho colhido, assim como o híbrido/variedade que está sendo cultivado (MOTA et al., 2020).

Outro fato relevante ao cultivo de milho é a interação variedade X ambiente, devido as várias condições edafoclimáticas existentes nos sistemas de produção, assim, essa interação pode ser minimizada com a seleção de variedades específicos para cada região de cultivo (FALUBA et al., 2010). Para agricultores que vivem em regiões com condições climáticas e ambientais diversas, o manejo dos recursos vegetais através do melhoramento participativo vem desempenhando um papel relevante, pois contribuem para a construção de ambientes agrícolas sustentáveis, agregando valores ambientais e sociais e criando base para a soberania alimentar das comunidades que passam a ter autonomia da produção de suas sementes, quando optam pelo cultivo de variedades de polinização aberta, sejam elas melhoradas de forma convencional ou de forma participativa (MACHADO et al., 2014).

Assim, o presente trabalho procurou caracterizar variedades de polinização aberta de milho, disponíveis para cultivo em diferentes regiões do estado do Espírito Santo, e que podem promover um aumento na produção dessa cultura em comunidades rurais, devido ao fato de serem adaptadas as diferentes condições edafoclimáticas existentes. Para isso, foram realizadas caracterizações em nível molecular e agrônômico, lançando mão de diferentes

ferramentas para que o objetivo fosse alcançado, a fim de indicar variedades promissoras para cultivo nestas diferentes comunidades rurais.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Origem e aspectos botânicos

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura pertencente à família Poacea. É uma cultura anual, alógama, monocotiledônea, diploide, com hábitos herbáceos e metabolismo C4 (GLEASON E CRONQUIST, 1991; FILGUEIRAS, 2020), e foi domesticado a partir do seu ancestral teosinto (*Zea mays* ssp) no oeste do México, há cerca de 9000 anos.

Desde então, passou a ser a principal fonte de alimentação das civilizações, sendo considerado uma “commodity” da agricultura no mundo, inclusive no Brasil. (BEADLE, 1939; GALINAT, 1983; FRISKE et al., 2018; SILVA et al., 2019). No Brasil, pode ser encontrado nos mais diversos ambientes e condições de cultivos, ocupando uma área total de plantio de aproximadamente 63 milhões de hectares, alcançando cerca de 251,8 milhões de toneladas no ano de 2020 (CONAB, 2020).

Evidências arqueológicas de seu uso indicam que com o descobrimento das Américas, foi introduzido na Europa, Ásia e África, tendo seu centro de origem principal no México e centro de origem secundário na América do Sul, na região do Peru. A expressão máxima da domesticação do milho e sua posterior difusão foi sua diversificação em inúmeras variedades, chamadas de *Landraces* ou variedades locais/crioulas (MATSUOKA et al., 2002; BEDOYA et al., 2017). Tais variedades são tolerantes a várias condições ambientais e a vários climas e altitudes diferentes, assim como diferentes estações de crescimento. Conseqüentemente, também demonstra que a espécie possui grande diversidade genética, por poder ser cultivado em uma gama de ambientes tão distintos (MIRANDA, 2018).

Outro fato relevante foi que, no seu processo de domesticação, o milho sofreu introgressão com seus parentes selvagens (*Zea mays mexicana* e *Zea mays parviglumis*), o que também contribuiu para aumentar sua diversidade genética (BEDOYA et al., 2017). Toda essa diversidade se explica, em parte, pela importância que esta planta vem tendo desde então, como base alimentar da maioria das populações das Américas, onde é utilizado desde o preparo de comidas, alimentação animal e também uso ornamental, que variavam de acordo com as tradições culturais de cada população (BOHM et al., 2017).

Na sua chegada na América do Sul, o milho passou a ser incorporado na agricultura de subsistência e integrar a cultura das populações, sendo trazido através de migrações

humanas, onde foi iniciado o processo de trocas de sementes, e o desenvolvimento de novas raças e variedades (BOHM et al., 2017).

2.2 Milho Híbrido e Milho Variedade

Em geral, os produtores têm acesso a dois tipos de cultivares: o milho híbrido e o milho variedade. O milho híbrido é obtido através de polinização cruzada entre linhagens de populações diferentes, logo, é um processo caro e complexo, levando a um preço mais alto das sementes desses cultivares. Porém, ainda há uma preferência pelo cultivo dessas sementes, devido à expressão de alto vigor e produtividade desse material (CONTINI et al., 2019).

No milho variedade, as sementes são obtidas a partir da polinização natural de algum genótipo selecionado, com características desejáveis. Nesse método, há grande heterogeneidade entre as plantas, e as sementes expressam as mesmas características hereditárias dos progenitores, permitindo então que o produtor possa manter um banco de sementes entre os plantios (CONAB, 2020).

A criação de híbridos modernos na segunda metade do século 20 contribuiu para a rápida substituição das tradicionais variedades (ANDJELKOVIC et al., 2018). Porém, essas cultivares, apesar de serem mapeadas para vários alelos ligados a características de interesse, possuem pouca diversidade genética, devido ao seu modo de cruzamento.

Entram então, nesse cenário, as variedades, que possuem combinações alélicas importantes, conferindo a estas uma rusticidade e adaptação as condições adversas de solo e clima (ARAÚJO et al., 2013). Essas variedades são populações dinâmicas, com origem histórica, identidade distinta, geneticamente diversificadas e localmente adaptadas, vindo de uma associação de práticas de seleção de sementes e gestão do campo, bem como conhecimento tradicional dos produtores (ARTEAGA et al., 2016).

A substituição das variedades por cultivares modernos vem gerando um processo de erosão genética, e também ameaça o conhecimento tradicional de cultivos (BOEF, 2007). Quando uma variedade melhorada retorna para o agricultor e passa a ser cultivada por vários ciclos sucessivos em suas propriedades, elas adquirem características adaptativas ao agroecossistema no qual estão inseridos, e tornam-se novamente uma variedade local e crioula (MACHADO, 2018).

Estudos recentes forneceram caracterização em pequena escala de variedades locais do México e da Europa, mas a maioria das variedades locais permanecem sem caracterização

molecular. Visando a prevenção da perda de diversidade genética do milho, são necessários trabalhos voltados para a conservação, como a caracterização adequada, para evitar que elas desapareçam por completo, assim como para estimular a volta dessas variedades para a agricultura (ANDJELKOVIC et al., 2018).

2.3 Variedades locais e crioulas

A agricultura brasileira tem passado por dificuldades econômicas, onde, por vezes, o valor do produto comercializado não custeia o investimento realizado, o que acontece por vários fatores, e um deles é a dependência dos agricultores com as multinacionais, elevando os custos de produção (ESPERANCINI et al., 2004; ASSMANN et al., 2003; SILVA et al., 2018).

Questões relacionadas ao ambiente e aos valores sociais também entraram em voga, diante da degradação da natureza causada pelos avanços da agricultura, da indústria e do consumo crescente de recursos naturais não renováveis (SANDRI e TOFANELLI, 2008; BIANCHINI e MEDAETS, 2013). Os efeitos colaterais causados por este modelo de agricultura começaram a ser revistos, e as questões sociais e ambientais passaram a ser mais valorizadas, reduzindo um pouco a importância dada à questão econômica (ALMEIDA, 1997; SILVA et al., 2018).

A agricultura de base ecológica, focada no uso mínimo de agroquímicos e com práticas agrícolas alternativas, começou a ganhar cada vez mais destaque devido a essas questões. São práticas desenvolvidas por agricultores experimentadores, como exemplos já bem-sucedidos, que deram base para reconfiguração do modelo. Há uma preferência na utilização de recursos locais disponíveis, buscando não aumentar os custos de produção (ALTIERI et al., 2011; KHATOUNIAN, 2001). As variedades locais entram como alternativa a esse modelo de cultivo, por serem de baixo custo, rústicas, e que toleram baixo nível de investimento em insumos. Nessas condições, possuem grande capacidade de competir com variedades comerciais (MACHADO et al., 1998; ZAGO, 2010).

Silva et al. (2019) comentam que os sistemas de produção sustentáveis favorecem a permanência do homem no campo, além de promover a melhoria da qualidade de vida das famílias agricultoras, pois é um sistema que valoriza os sistemas tradicionais de cultivo, os conhecimentos acumulados ao longo das gerações e a interdependência dos recursos naturais. Estratégias como adubação verde, uso de caldas e biofertilizantes e adubação

orgânica tem sido incorporadas ao processo produtivo, fazendo com que os sistemas de base agroecológica sejam complementados (HANISCH et al., 2012; MIRANDA, 2018).

Dentro desses sistemas, é importante o uso de variedades adaptadas ao agroecossistema existente (SILVA, 2008), podendo assegurar produtividade e ganhos econômicos, preservando a diversidade genética e contribuindo no aspecto social das comunidades envolvidas. As variedades locais de milho, geralmente conservadas pelas comunidades rurais e tradicionais, são fontes potenciais de genes na busca por resistência, tolerância e ou eficiência em relação aos atuais e futuros estresses bióticos e abióticos (ARAÚJO et al., 2013).

Variedade crioula pode ser entendida como aquela que é produzida, desenvolvida e conservada pelos agricultores em comunidades tradicionais. Este termo também pode ser adotado para aquelas variedades introduzidas em comunidades por menos de um período de 20 anos (MACHADO, 2018). São símbolos de identidade com a terra, representam a agrobiodiversidade, a resistência da cultura camponesa às determinações do mercado biogenético e asseguram autonomia de cultivo, assim como a segurança alimentar das comunidades (LIMA et al., 2018).

2.4 Caracterização molecular

As variedades de milho, ou cultivares de polinização aberta, como também são chamadas, são obtidas pela livre polinização de um grupo de indivíduos. São amplamente cultivadas em todo o Brasil e ao redor do mundo, e são de acentuada importância socioeconômica para os sistemas de agricultura familiar (CARVALHO et al., 2004). São materiais altamente heterozigóticos e heterogêneos, exibindo variação na produtividade, ampla variabilidade genética. Porém, a variabilidade genética desses materiais ainda não foi explorada eficientemente, e estudos relacionados à diversidade genética das variedades podem colaborar para a conservação e melhor utilização do seu pool genético (DAR et al., 2018).

O estudo da diversidade genética é o processo pelo qual a variação entre indivíduos, grupos de indivíduos ou populações é analisada, podendo ser de forma quantitativa ou preditiva. A análise de natureza quantitativa envolve avaliação de cruzamento de genitores em estudos dialélicos, enquanto a análise preditiva é baseada em diferenças morfológicas, fisiológicas ou moleculares (CRUZ et al., 2012; SILVA et al., 2015). Os dados provenientes desses estudos geralmente envolvem medições numéricas e combinações de diferentes tipos de variáveis (MOHAMMADI e PRASSANA, 2003).

Atualmente, a diversidade genética está sendo avaliada mais eficientemente após a introdução de métodos que revelam o polimorfismo diretamente ao nível de DNA que são considerados independentes de influências ambientais e fazem uma maior cobertura do genoma (VIVODIK et al., 2017).

Nos últimos anos, vários marcadores moleculares têm sido empregados para avaliação da diversidade genética em variedades locais de milho. Os marcadores RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) foram os primeiros utilizados no melhoramento da cultura (LEE et al., 1989; BERNARDO, 2008). Logo após, houve a introdução de marcadores baseados na técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), como RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (CARVALHO, 2004); ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) (SANTOS et al., 2017); SSR (*Simple Sequence Repeat*) (ANDJELKOVIC et al., 2018) e SNPs (*Single Nucleotide Polimorphism*) (ARTEAGA et al., 2016), e são utilizados para compreender os padrões de diversidade desses cultivares, ajudando no rastreamento de suas rotas de migração dos centros de origem e na compreensão da base dessa variabilidade genética (WARBURTON et al., 2011).

2.5 Caracterização morfoagronômica

O milho é uma cultura que apresenta grande diversidade genética, que exhibe grande variabilidade tanto para caracteres relacionados à adaptação ambiental, como para aqueles relacionados às características de interesse agrônômico (TEIXEIRA et al., 2002; SILVA et al., 2019).

Muitas variedades de milho são cultivadas há décadas, conhecidas como variedades locais; outras são melhoradas geneticamente por polinização aberta, sendo estas do domínio dos pequenos agricultores. Essas variedades possuem uma complexa estrutura genética, sendo então importantes fontes de variabilidade na busca por genes responsáveis pela tolerância ou resistência aos fatores bióticos e abióticos (ARAÚJO e NASS, 2002; ANDRADE e FILHO, 2008).

Com o avanço do melhoramento genético voltado para a produção de híbridos, a diversidade de tais variedades pode estar ameaçada, em detrimento da utilização de cultivares modernos (BITOCCHI et al., 2009), e a falta de estudos relacionados ao comportamento agrônômico de tais materiais pode levar a escolha de variedades inadequados para o cultivo (SILVEIRA, 2015).

A caracterização agronômica das variedades de milho disponíveis é importante para nortear a escolha de materiais que possam se adaptar a determinado local de cultivo, assim como alta produção e resistência a pragas e doenças. Segundo Paixão (2008), além da genética, a produção é influenciada pela qualidade das sementes, época de semeadura, espaçamento entre plantas, preparo, correção e adubação do solo, e controle de doenças e pragas e irrigação. Logo, a caracterização do germoplasma pode estimular a utilização do mesmo, e contribuir para identificação de populações divergentes, para posterior utilização em cruzamentos que otimizem a heterose (MIRANDA et al., 2003).

Além disso, estudos relacionados a tolerâncias dos cultivares aos mais diversos ambientes são importantes para a manutenção da produção do milho, devido as previsões ambientais que sinalizam mudanças climáticas, o que poderá levar a variações de temperatura e aumento nos períodos de estiagem, gerando instabilidade no cultivo (NEPOMUCENO et al., 2001; PATERNIANI et al., 2019).

Outro fator que limita a utilização das variedades locais é que as grandes empresas desenvolvem e indicam a utilização de diferentes cultivares para amplas regiões, não havendo materiais desenvolvidos especificamente para as regiões marginais ou de interesse secundário para o agronegócio. Isto gera uma defasagem de variedades que possam ser cultivados por agricultores familiares em sistemas produtivos, com baixa quantidade de insumos. Estas variedades de interesse para os pequenos agricultores consistem no objeto de estudo no presente trabalho (SILVEIRA, 2015).

2.6 Melhoramento Genético Participativo

O melhoramento de plantas visa a obtenção de variedades/variedades/cultivares que atendam ao interesse agronômico e a adaptação em diferentes condições edafoclimáticas. Por isso, buscam-se plantas que apresentem alta produtividade, resistência a pragas e doenças, entre outras características (ALMEKINDERS e ELINGS, 2001; CREVELARI et al., 2019).

O melhoramento genético acontece desde os primórdios da humanidade, com a domesticação de várias culturas, inclusive o milho. Estes trabalhos permitiam a seleção de plantas com características desejáveis com base na diversidade genética das culturas (SILVA, 2019).

Hoje conhecido como melhoramento genético convencional, as cultivares modernas com alta adaptabilidade e uniformes são priorizadas. Porém, essa modalidade de melhoramento

acontece em centros de pesquisas, longe da realidade dos pequenos produtores. Como complemento a essa modalidade, foi adotado o melhoramento genético participativo. Nessa categoria, a interação entre os pesquisadores e agricultores é facilitada, através do contato direto entre eles (BECKER e CARVALHAL, 2010).

O melhoramento genético participativo começou a ser trabalhado no final dos anos 70, devido aos desafios encontrados pelos melhoristas na seleção de cultivares para cada região em que se cultivava o milho no Brasil. Para abrandar esse problema, uma alternativa colocada em prática foi o envolvimento dos agricultores nas etapas de avaliação nos programas de melhoramento de diferentes instituições (PETERSEN, 1994, MACHADO, 2014).

Nessa modalidade, os objetivos básicos são a inclusão sistemática dos conhecimentos, habilidades, experiências e saberes dos agricultores, para determinar e desenvolver tecnologias para soluções dos problemas enfrentados pelos mesmos, assim como complementar a pesquisa agrícola clássica (PETERSEN, 1994; MACHADO et al., 2014). A maior participação dos agricultores no processo, contribui para diminuir a rejeição de cultivares recomendados, pois aspectos importantes considerados pelos produtores foram incorporados aos programas de melhoramento, aspectos esses que por vezes não eram analisados pelos melhoristas (JOSHI e WITCOMBE, 2002; MULATU e ZELLEKE, 2002; VIRK et al., 2003).

No presente trabalho objetivou-se então caracterizar a diversidade genética de tais materiais e de outras variedades cultivadas em comunidades rurais do Espírito Santo, a fim de acrescentar informações sobre as mesmas, e selecionar variedades mais indicadas para a região.

Referências

- ALMEIDA, J.; NAVARRO, Z. Reconstruindo a Agricultura: ideias e ideais na perspectiva do desenvolvimento rural sustentável. Porto Alegre: UFRGS, 1997.
- ALMEKINDERS, C.J.M.; ELINGS, A. Collaboration of farmers and breeders: participatory crop improvement in perspective. *Euphytica*, v. 122, p. 425–438, 2001.
- ALTIERI, M. A., LANA, M. A., BITTENCOURT, H. V., KIELING, A. S., COMIN, J. J., LOVATO, P. E. Enhancing Crop Productivity via Weed Suppression in Organic No-Till Cropping Systems in Santa Catarina, Brazil. *Journal of Sustainable Agriculture* n. 35, p. 855–869, 2011.
- ANDJELKOVIC, V.; NIKOLIC, A.; KOVACEVIC, D.; MLADENOVIC-DRINIC, S.; KRAVIC, N.; BABIC, V.; SREBRIC, M.; JANKULOVSKA, M.; IVANOVSKA, S.; BOSEV, D. Conserving maize in gene banks: Changes in genetic diversity revealed by morphological and SSR markers. *Chilean Journal of Agricultural research*, v.78, n.1. 2018.
- ANDRADE, J. A. da C.; FILHO, J. B. de M. Quantitative variation in the tropical maize population, ESALQ-PB1. *Scientia agrícola*, v. 65, n. 02, p. 174-182, 2008.
- ARAUJO, A. V.; JUNIOR, D. S. B.; FERREIRA, I. C. P.; COSTA, C. A.; PORTO, B. B. A. Desempenho agrônômico de variedades crioulas e híbridos de milho cultivados em diferentes sistemas de manejo. *Rev. Ciência agrônômica*. V.44, n.4, p.885-892, out-dez, 2013.
- ARAUJO, P. M.; NASS, L. L. Caracterização e avaliação de populações de milho crioulo. *Scientia Agrícola*, v.69, n.3, p.589-593, jul/set. 2002.
- ARTEAGA, M.C.; MORENO-LETELIER, A.; MASTRETTA-YANES, A.; VAZQUEZ-LOBO, A.; OCHOA, A.B.; MORENO-ESTRADA, A.; EGIARTE, L.E.; PINERO, D. Genomic variation in recently collected maize landraces from Mexico. *Genomics Data*. v.7, p.38–45. 2016.
- ASSMANN, T.S. Rendimento de milho em área de integração lavoura-pecuária sob o sistema plantio direto, em presença e ausência de trevo branco, pastejo e nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 27, n.4, p. 675-683, 2003.
- BEADLE, G. W. Teosinte and the origin of maize. *Journal of Heredity*. V.30, p.133-138, 1939.
- BECKER, J. R.; CARVALHAL, M. D. Modificações ocorridas na vida das mulheres, quando estas se inseriram o mercado de trabalho em marechal Cândido Rondon por meio da instalação da unidade industrial de aves da COPAGRIL. In: XI JORNADA DO TRABALHO, “Trabalho e as Escalas da Práxis Emancipatórias: autonomia de classe frente à territorialização do capital”. João Pessoa, 2010. *Anais da XI JORNADA DO TRABALHO*, ISSN - 978-85-60711-19-2, 2010.
- BEDOYA, C.A.; DREISIGACKER, S.; HEARNE, S.; FRANCO, C.; PRASANNA, B.M.; TABA, S.; CHARCOSSET, A.; WARBURTON, M.L. Genetic diversity and population structure of native maize populations in Latin America and the Caribbean. *Plos One*. April 12, 2017.
- BERNARDO, R. Molecular markers and selection for complex traits in plants: learning from the last 20 years. *Crop Sci*. v.48, p.1649-1664. 2008.

- BIANCHINI, V.; MEDAETS, J.P. Da Revolução Verde à Agroecologia: Plano Brasil Agroecológico. Brasília: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2013.
- BITOCCHI, E. *et al.* Introgression from modern hybrid varieties into landrace populations of maize (*Zea mays ssp. mays* L.) in central Italy. *Molecular Ecology*, v. 18, p. 603-621, 2009.
- BOEF, W. S. Biodiversidade e agrobiodiversidade. In: BOEF, W. S. et al. (Org.) Biodiversidade e agricultores: fortalecendo o manejo comunitário. cap. 2, p. 36-40. Porto Alegre: L&PM, 2007.
- BOHM, J.; SCHIPPRACK, W.; UTZ, F. F. Tapping the genetic diversity of landraces in allogamous crops with doubled haploid lines: a case study from European flint maize. *Theor Appl Genet.* 2017.
- CARVALHO, V.P.; RUAS, C. F.; FERREIRA, J.M.; MOREIRA, R.M.P.; RUAS, P.M. Genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) landraces assessed by RAPD Markers. *Genetics and Molecular Biology*, v.27, n.2, p.228-236, 2004.
- CONAB. Companhia nacional de abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. v.5, n.5. 2020.
- CONTINI, E.; MOTA, M. M.; MARRA, R.; BORGHI, E.; MIRANDA, R. A.; SILVA, A. F.; SILVA, D. D.; MACHADO, J. R. A.; COTA, L. V.; COSTA, R. V.; MENDES, S. M. Milho – caracterização e desafios tecnológicos. Serie desafios do agronegócio brasileira. Embrapa. 2019.
- COSTA, R. V. da; CASELA, C. R.; COTA, L. V. Doenças. In: CRUZ, J. C. (Ed.). Cultivo do milho. 6. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de Produção, 1). 2010.
- CREVELARI, J. A.; PEREIRA, M. G.; AZEVEDO, F. H. V.; VIEIRA, R. A. M. Melhoramento de milho para silagem: predição de ganhos via índices de seleção e via BLUP. *Rev. Ciênc. Agron.* [Online], v.50, n.2, pp.197-204,2019.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 4 ed. Viçosa, MG: UFV, 514 p 2012.
- DAR, T. H.; RUBIADA, S.; SHUSHEEL, V. Comparative Germplasm Characterization of Maize (*Zea mays* L.) in Rajouri Region of Pir Panjal Himalaya J & K (India), based on Morphological and ISSR Markers. *J. Crop Sci. Biotech.* v.21, n.1, p.43-55, 2018.
- ESPERANCINI, M. S. T.; PAES, A. R.; BICUDO, S. J. Análise de rentabilidade e risco na produção de milho verão, em três sistemas produtivos, na região de Botucatu, estado de São Paulo. *Informações Econômicas*, São Paulo, v. 34, n.1, p. 25-33, 2004
- FALUBA, J.S.; MIRANDA, G. V.; DELIMA, R. O.; SOUZA, L. V.; DEBEM, E. A.; OLIVEIRA, A. M. C. Potencial genético da população de milho UFV7 para o melhoramento em Minas Gerais. *Ciência Rural*, v.40, n.6, Santa Maria, 2010.
- FILGUEIRAS, T.S. Zea in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB87093>>.

FRISKE, É.; SCHUELTER, A. R.; SCHUSTER, I.; MARCOLIN, J.; SILVA, M. F. Genetic diversity of maize lines for traits related to maturity and yield components. *Australian Journal Of Crop Science* (online), v. 12, p. 1820-1828, 2018.

GALINAT, W. C. The origin of maize as shown by key morphological traits of its ancestor. *Maydica*, v.28, p.121-138, 1983.

GLEASON H.A.; CRONQUIST, A. *Manual of vascular plants of the northeastern United States and adjacent Canada*. New York: Botanical Garden, 910p. 1991.

HANISCH, A.L.; FONSECA, J. A; VOGT, G.A. Adubação do milho em um sistema de produção de base agroecológica: desempenho da cultura e fertilidade do solo. *Rev. Bras. de Agroecologia*. v.7, n.1, p.176-186, 2012.

HERATY, J.M.; ELLSTRAND, N.C. Maize Germplasm Conservation in Southern California's Urban Gardens: Introduced Diversity Beyond ex situ and in situ Management. *Economic Botany*, v.70, n.1, p. 37-48.2016.

JOSHI, K. D.; WITCOMBE, J. R. Participatory varietal selection in rice in Nepal in favorable agricultural environments – A comparison of two methods assessed by varietals adoption. *Euphytica*, Wageningen, v. 127, n. 3, p. 445-458, 2002.

KHATOUNIAN, C. A. *A reconstrução ecológica da agricultura*. Botucatu, Agroecológica, 2001.

LEE, M.; GOLDBALK, F.B.; LAMKEY, K.R.; WODMAR, W.W. Association of restriction fragment length polymorphism among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. *Crop Science*, v.29, p.1067-1071.1989.

LIMA, L. G.; SANTOS, F. No semiárido de Alagoas, a resistência germina na terra: a luta territorial em defesa das sementes crioulas. *Rev. Nera*, a.21, n.41, p.192-217, jan/abr, 2018.

MACHADO, A. T. Construção histórica do melhoramento de plantas: do convencional ao participativo. *Rev. Bras. de Agroecologia*. n.9, p.35-50. 2014.

MACHADO, A. T. Uso e mercado do milho crioulo. *Rev. A granja*, p.42-44. 2018.

MACHADO, A.T.; MACHADO, C.T. de T.; FURLANI, P.R. Avaliação e caracterização de variedades locais de milho para condições adversas de ambiente. *In: Soares, A.C.; Machado, A.T.; Silva, B.M.; Weid, von der J.M. eds. Milho Crioulo: conservação e uso da biodiversidade*. Rio de Janeiro: AS-PTA, p. 151-178. 1998.

MACHADO, A. T.; MACHADO, C. T.; NASS, L. L. Manejo da diversidade genética e melhoramento participativo de milho em sistemas agroecológicos. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v.6, n.1, p.127-136, 2011.

MATSUOKA, Y.; VIGOUROUX, Y.; GOODMAN, M.M.; SANCHEZ, G.J.; BUCKLER, E.; DOEBLEY, J. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proc Natl Acad Sci*. v.99, p.6080-6084. 2002.

- MIRANDA, G. V. *et al.* Potencial de melhoramento e divergência genética de cultivares de milho-pipoca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v. 38, n. 06, p. 681-688, 2003.
- MIRANDA, R. A. O. Agricultura familiar no context agrobiodiversidade em comunidade tradicional da Chapada dos Guimarães, Mato Grosso – Brasil. *Biodiversidade* – v.17, n.2, 2018.
- MOHAMMADI, S.A.; PRASANNA, B.M. Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants—Salient Statistical Tools and ConsiderationS. *Crop Sci.* v.43, p.1235–1248. 2003
- MOTA, R. S.; SANTOS NETO, J. P.; OLIVEIRA, I. V.; LIMA, C. C.; SILVA, V. F. A.; SILVA, J. N.; SILVA, J. P.; SILVA, C. R.; CARVALHO, F. I. M.; SILVA, P. A. Suco composto de milho: formulação e caracterização físico-química. *Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais*, v.11, n.3, p.32-43, 2020.
- MULATU, E.; ZELLEKE, H. Farmer's highland maize (*Zea mays* L.) selection criteria: Implication for maize breeding for the Hararghe highlands of eastern Ethiopia. *Euphytica*, Wageningen, v. 127, n. 1, p. 11-30, 2002.
- NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. Tolerância à seca em plantas. *Biotechnologia Ciência e Desenvolvimento*, Brasília, n. 23, p. 12-18, 2001.
- NOGUEIRA, L. Categorias e níveis de resistência de variedades de milho crioulo a *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). Dissertação (Mestrado em Agronomia: Entomologia Agrícola) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, JABOTICABAL- São Paulo, p. 101. 2015.
- PAIXÃO, S. L. *et al.* Divergência genética e avaliação de populações de milho em diferentes ambientes no Estado de Alagoas. *Caatinga*. v. 21, n. 04, p. 191 195, 2008.
- PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; BERNINI, C. S.; GUIMARAES, P. S.; RODRIGUES, C. S. Estratégias de melhoramento para tolerância a seca em germoplasma de milho tropical. *Rev. Singular*, n.1, 2019.
- PERFEITO, D. G. A.; LOPES, M. C. M.; SALOMÃO, L. C.; DE SOUZA, M. L.; BENETT, C. G. S.; LIMA, B. P. Caracterização pós-colheita de milho doce submetido ao parcelamento de fertirrigação nitrogenada. *Braz. J. Food Techno.*, Campinas, v.20, p. e2016140, 2017.
- PETERSEN, R. G. *Agriculture field experiments: designs and analysis*. New York, p. 318-352, 1994.
- SANDRI, C. A.; TOFANELLI, M. B. D. Milho crioulo: uma alternativa para rentabilidade no campo. *Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)*, v. 38, n. 1, p. 59-61, 2008.
- SANTOS, L.F.C; ANDUEZA-NOH, R.H.; RUIZ, E.S.; MORENO, L.L.; GARRUNA, R.; CORTES, J.O.M.; CASTILLO, J.M. Characterization of the genetic structure and diversity of maize (*Zea mays* L) landrace populations from Mexico. *Maydica*. v.62. 2017.
- SILVA, G. C.; SOARES, C. R.; CARVALHO, M. H. J. L.; RAMOS, N. A. Melhoramento participativo e relações de gênero: uma proposta de difusão e adoção de cultivares de feijão-

caupi como estratégia de segurança alimentar e qualidade de vida. Rev. Extensão da UNIVASF. Petrolina, v.7, n.1, p.025-042, 2019.

SILVA, K. C. L.; SANTOS, W. F.; AFFÉRRI, F. S.; PELUZIO, J. M.; SODRÉ, L. F. Diversidade genética em variedades de milho de plantio tardio sob diferentes níveis de nitrogênio no Tocantins. Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia-MS, v. 6, n. 3, p. 92-100, jul. /Set, 2019.

SILVA, M. R.; PELISSARI, A.; MORAES, A. D.; SANDINI, I. E.; CASSOL, L. C.; ASSMANN, T. S.; OLIVEIRA, E. B. Acumulação de nutrientes e produção forrageira de aveia e azevém em função da aplicação de calcário e gesso em superfície. Revista de Ciências Agrárias, Fortaleza, v. 38, n. 3, p. 346-356, 2015.

SILVA, S. D. dos A. Ensaio Regional de Avaliação de Milho Crioulo, RS, 2007/08. In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DE MILHO, 53., REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DE SORGO, 36., 2008. Pelotas. Atas e resumos. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008.

SILVA, S. N.; GURJÃO, K. C. O.; ALMEIDA, F. A. C.; SILVA, R. M.; SILVA, P. B.; SILVA, L. P. R. Características físicas de sementes de milho crioulo da Paraíba. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento sustentável, v.13, n.5, p.590-594, 2018.

SILVEIRA, D. C.; BONETTI, L. P.; TRAGNAGO, J. L.; NETO, N.; MONTEIRO, V. Caracterização agromorfológica de variedades de milho crioulo (*Zea mays* L.) na região noroeste do Rio Grande do Sul. Rev. Ciência e Tecnologia. Rio Grande do Sul, v.1, n.1, p.01-11. 2015.

TEIXEIRA, F. F. *et al.* Diversidade no germoplasma de milho coletado na região Nordeste do Brasil. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v. 01, n. 03, p. 59-67, 2002.

VIRK, D. S.; SINGH, D. N.; PRASAD, S. C.; GANGWAR, J. S.; WITCOMBE, J. R.; Collaborative and consultative participatory plant breeding of rice for the rainfed uplands of eastern India. Euphytica, Wageningen, v. 132, n. 1, p. 96-108, 2003.

VIVODIK, M.; BALAZOVA, Z.; GALOVA, Z.; PETRICOVA, L. Genetic Diversity analysis of maize (*Zea mays* L.) using scot markers. Microbiol Biotech Food Sci. v.6, n.5, p.1170-1173. 2017.

WARBURTON, M.L.; WILKES, G.; TABA, S.; CHARCOSSET, A.; MIR, C.; DUMAS, F.; MADUR, D.; DREISIGACKER, S.; BEDOYA, C.; PRASANNA, B.M.; XIE, C.X. Gene flow among different teosinte taxa and into the domesticated maize gene pool. Genet. Res. Crop. Evol. v.58, p.1243-1261. 2011.

ZAGO, V. Produtividade e custo de produção de cultivares de milho sob diferentes formas de adubação. In: XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia. Anais eletrônicos...Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010.

4. Capítulo I – Caracterização molecular de variedades de milho (*Zea mays* L.) cultivadas em comunidades rurais

Resumo

O milho é uma cultura destinada tanto para o consumo humano como animal, e pode ainda ser utilizado para a produção de biocombustível e de bebidas. Nos últimos anos houve uma mudança no cenário de escolha de variedades para cultivo do milho, porém as variedades apresentam grande diversidade genética devido ao seu modo de cultivo e seleção, uma vez que as sementes são repassadas entre os pequenos produtores ao longo de anos. Estas variedades são importantes para a manutenção de variabilidade genética da espécie. Objetivou-se com o presente estudo avaliar a variabilidade genética de variedades locais de milho, melhorados de forma participativa, e os comerciais, melhorados de forma convencional, e estimar o nível de informação dos locos SSR nas presentes variedades em estudo, assim como identificar duplicatas, através de caracteres moleculares. A similaridade genética entre todas as variedades foi calculada pelo Índice Ponderado, e com base na matriz de dissimilaridade, foi realizado o agrupamento pelo método UPGMA. Com a utilização de 23 locos SSR, foram obtidos 112 alelos, com uma média de 5,13 alelos por loco. O conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi de 0,65. A heterozigosidade observada foi, em geral, menor que a heterozigosidade esperada, exceto para os locos *umc1771*, *phi084* e *bnlg125*. A dissimilaridade genética entre as variedades variou de 0,51 a 0,98, e a análise de agrupamento foi eficiente no agrupamento das variedades, sugerindo um total de quatro grupos. A maioria das variedades foi agrupada de acordo com a sua origem, exceto a variedade São José, que apresentou grande divergência genética com relação aos outros. A análise de variância molecular demonstrou concordância com os dados da dissimilaridade genética, mostrando que a maioria da diversidade genética encontrada está dentro das variedades, e não entre eles. A partir dessas análises foi possível concluir que existe alta variabilidade genética entre as variedades estudadas.

4.1 Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura que pertence à família Poaceae. É destinada ao consumo *in natura* tanto para alimentação animal como humano, mas possui ainda um gama de utilização na indústria (SILVEIRA et al., 2015).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, ficando atrás somente dos Estados Unidos e da China. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), na safra 2019/2020 o Brasil plantou 18,5 milhões de hectares, com produção total de 102,3 milhões de toneladas, e o Espírito Santo (ES) teve uma participação de 202,2 mil toneladas na produção do cereal.

O milho é uma das culturas com maior investimento em tecnologia, e os genótipos são selecionados para responder a adubação, resistência a pragas e doenças e alta produtividade de grãos (EICHOLZ et al., 2016). Nos últimos anos, as tradicionais variedades, ou landraces, foram substituídas por cultivares híbridas, com maior potencial produtivo, porém exigentes em tecnologia para expressão de tal potencial (BIANCHETTO et al., 2017).

No entanto, as variedades tradicionais possuem potencial para resistência a diferentes pragas e doenças, pois se adaptam ao seu local de desenvolvimento. As sementes desses materiais passam de geração em geração pela mão dos agricultores e, por esse motivo, possuem menor custo para desenvolver-se. Tais variedades se destacam nesse aspecto, pois também podem ser trocadas entre os agricultores, e estes realizam seus experimentos em campo, melhorando as características dos materiais ao longo dos tempos (BEDOYA et al., 2017).

As variedades de milho são, então, materiais mais rústicos, e apresentam uma maior diversidade genética acumulada ao longo do processo de domesticação e pela seleção efetuada pelos agricultores. Por esse motivo, vários agricultores ainda utilizam tais materiais, sendo uma forma importante de conservação da variabilidade genética. Vale ressaltar que estes materiais estão em permanente processo evolutivo de adaptação as condições ambientais e sistemas de cultivo (CUNHA, 2013; QUEIROZ et al., 2019).

A disponibilidade de informações acerca da diversidade genética das variedades de milho possibilita o conhecimento sobre materiais promissores que vêm sendo cultivados pelos agricultores, assim como a manutenção de um banco de germoplasma que funcione como fonte de novas características de interesse agrônômico em programas de melhoramento (ANDJELKOVIC et al., 2018). Deste modo, é de suma importância a caracterização de

variedades existentes, visando descrever variedades com potencial para cruzamentos e seleção nos programas de melhoramento.

A caracterização da diversidade genética pode ser realizada através de estudos de variáveis morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares. Através desses estudos é possível a escolha de materiais para introgressão de novos materiais para ampliar a base genética da cultura em estudo (PINTO et al., 2016).

O uso de marcadores moleculares em estudos de diversidade genética ganhou importância devido a rapidez e qualidade das informações geradas. Diversas técnicas estão disponíveis para a detecção da variabilidade em nível de DNA, e os marcadores microssatélites (*Simple Sequence Repeat* - SSR) estão entre os principais marcadores utilizados, pois apresentam elevados níveis de polimorfismo, são multialélicos, com cobertura adequada do genoma e altamente reproduzíveis (LITT e LUTY 1989; PADILHA et al., 2002; RIBEIRO et al., 2017).

No Brasil, o uso de marcadores moleculares está crescendo em importância e utilização, como apoio para programas de melhoramento genético do milho, principalmente para quantificar a diversidade genética das variedades cultivadas e análise da estrutura de variedades promissoras (PINTO et al., 2016; RIBEIRO et al., 2017). O presente trabalho teve como objetivo realizar a caracterização molecular de dezesseis variedades de milho cultivadas em comunidades rurais.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Material vegetal e Análise molecular

Foram utilizados dezesseis variedades de milho para realização da caracterização molecular (Tabela 1).

Tabela 1 - Variedades de milho cultivados em comunidades rurais, selecionadas para caracterização molecular

N	Variedade	Sigla	Método Melhoramento	Produtor	Local de cultivo	Caracterização
1	Fortaleza NV	F-NV	Participativo	José Luiz Pilon	Travessia - Nova Venécia - ES	
2	Fortaleza AC	F-AC	Participativo	Clésio Brandão	Afonso Cláudio – ES	
3	Fortaleza MS-1	F-MS-1	Participativo	João Machado	Palmeira - Mimoso do Sul - ES	Variedade com 10 ciclos de seleção massal proveniente da variedade BR 106, através de melhoramento participativo na Comunidade Fortaleza, Muqui-ES; apresenta endosperma dentado e cor amarela (NUNES, 2006).
4	Fortaleza M-1	F-M-1	Participativo	Franknelly Bettero	Fortaleza - Muqui-ES	
5	Fortaleza M-2	F-M-2	Participativo	Renato Bettero	Fortaleza - Muqui-ES	
6	Fortaleza M-3	F- M-3	Participativo	Márcio Tuão	Fortaleza - Muqui-ES	
7	Fortaleza M-4	F- M-4	Participativo	Antônio M. Verly	Fortaleza - Muqui-ES	
8	Fortaleza M-5	F-M-5	Participativo	Ângelo Bettero	Fortaleza - Muqui-ES	
9	São José	S-José	Participativo	Renildo Moreira	São José do Sassuí -Irupi-ES	Variedade de grãos dentados, amarelos, de porte normal, ciclo semiprecoce selecionados para a região do Caparaó Capixaba pela Comunidade São José do Sassuí, Irupi-ES (NUNES, J.A. comunicação pessoal)
10	Aliança 01	AL-01	Participativo	Valter Viana	Aliança - Muqui – ES	População de grãos duros, semiduros e semidentados, alaranjados e amarelos; variedade com 10 ciclos de seleção massal simples da variedade EMCAPA 201 (NUNES, 2006).
11	Aliança 02	AL-02	Participativo	Henrique Rosino		
12	BR106	BR106	Convencional	EMBRAPA Milho e Sorgo	Sete Lagoas – MG	Lançada em 1985, originada do cruzamento de três variedades brasileiras (Maya, Centralmex e Dentado Composto) e uma introdução exótica (Tuxpeño). Apresenta endosperma dentado e de cor amarelo (NUNES, 2006).

Continuação Tabela 1 – Variedades de milho cultivados em comunidades rurais, selecionada para caracterização molecular

N	Variedade	Sigla	Método de melhoramento	Produtor	Local de cultivo	Caracterização
13	Sol da Manhã	SM	Participativo	Comunidade Sol da Manhã, Seropédica- RJ.	Comunidade Sol da Manhã, Seropédica- RJ.	Apresenta grãos duros e semiduros, de cor alaranjados e predomínio dos germoplasmas Cateto, Eto e Duros do Caribe (MACHADO et al., 1992; NUNES, 2006).
14	Eldorado	ELD	Participativo	Comunidade Sol da Manhã, Seropédica-RJ, e Sítio Alegria-DF	Comunidade Sol da Manhã, Seropédica-RJ, e Sítio Alegria-DF	Selecionada para sistema orgânico, com seis ciclos de seleção massal. População de grãos dentados e semidentados, amarelos com segregação para branco (NUNES, 2006).
15	Imperador-ES204	EM-201	Convencional	INCAPER	Domingos Martins – ES	Melhoramento genético iniciando em 1984, após três ciclos de seleção foi lançada como ‘Emcapa-201’, como a primeira variedade melhorada de milho para o Espírito Santo. Logo após, foi introduzida no sistema de cultivo orgânico, na URA/INCAPER, e submetida a 28 anos de seleção. Obteve-se então a variedade ‘ES-204 Imperador (INCAPER, 2018).
16	Capixaba INCAPER 203	IN-203	Convencional	INCAPER	Fazenda Experimental de Sooretama/INCAPER	Começou a ser desenvolvida em 1985 e passou por quatro ciclos de seleção massal. Apresenta grãos duros e de colocação avermelhada (INCAPER, 2007).

Sementes de cada variedade foram semeadas em placas de Petri para germinação (Figura 1), e posteriormente cultivadas em vasos em casa de vegetação (CCA/UFES) (Figura 2) para coleta de material vegetal e extração de DNA.

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (LBQMOL/CCA/UFES) em Alegre, ES.

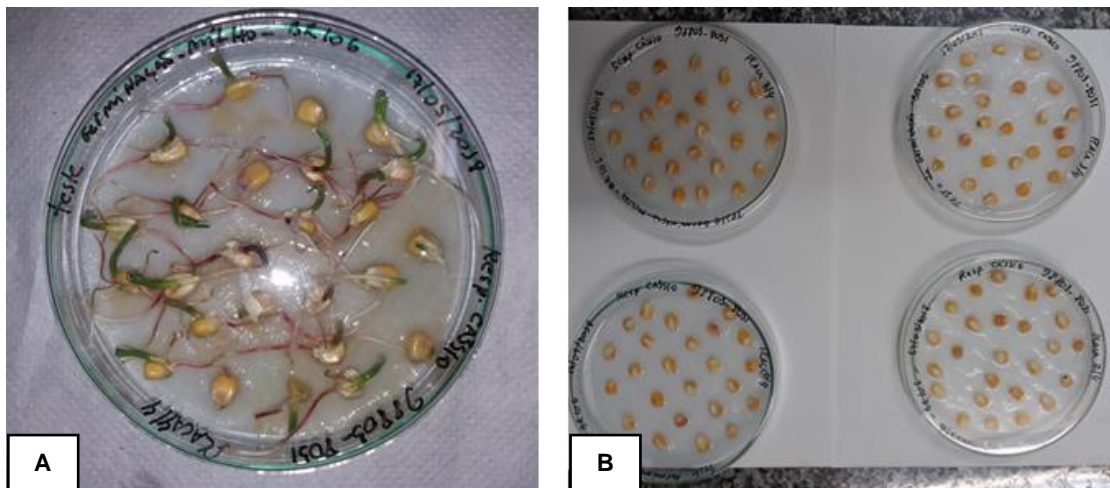


Figura 1 - Sementes de milho em processo de germinação em placa de Petri: A: sementes de uma variedade em processo de germinação; B: sementes de quatro diferentes variedades em processo de germinação.



Figura 2 - Sementes dos dezesseis variedades de milho cultivadas em casa de vegetação.

4.2.2 Extração de DNA

Amostras de tecidos foliares jovens (2-3 semanas após a germinação) de dez indivíduos foram coletadas de cada variedade, maceradas em MagNA Lyser® e mergulhadas em Nitrogênio líquido, para que não houvesse degradação do DNA. O DNA

genômico foi isolado usando-se hexa-decyltrimethyl-ammonium bromide (CTAB) como descrito por Doyle & Doyle (1990) modificado por Lanes (2009).

Concluído o processo de extração, a quantificação e o nível de pureza do DNA foram determinados pelo valor da absorbância de (260 nm) e a razão de (260/280 nm), respectivamente, medidas em espectrofotômetro digital NanoDrop® 2000c.

4.2.3 Seleção de primers SSR

Os primers SSR utilizados neste estudo foram obtidos e escolhidos para fornecer uma cobertura uniforme de todo o genoma do milho, como demonstrado no número do Bin (localização do marcador no cromossomo) (Tabela 2). As sequências (Forward e Reverse) dos 23 marcadores microssatélites foram obtidas por meio do Banco de Dados de Genética e Genômica do Milho - Maize Genetics and Genomics Data Base (MaizeGDB - <http://www.maizegdb.org/ssr.php>).

Os microssatélites foram sintetizados em escala inicial de 25 nmol pela empresa norte-americana especializada em oligonucleotídeos Integrated DNA Technologies, distribuídos pela Síntese Biotecnologia S.A. Todos os primers SSR foram diluídos primeiramente para uma concentração final de 100 µM (concentração estoque) e a partir destes diluídos para uma concentração final de 2 µM (concentração de trabalho).

4.2.4 Amplificação de fragmentos microssatélites e gel de eletroforese

Para as amplificações em PCR (*Polymerase Chain Reaction*) utilizou-se microtubos de 1,5 mL para o preparo do “mix” da reação, constituído por 50 ng de DNA; tampão 2x (0,25 mM Tris/KCl pH 8,3); 4 µmol/L de MgCl₂; 1 µmol/L de dNTP; 0,32 mg/mL de BSA; 2,5 µmol/L de cada primer (Forward e Reverse) e 1,25 unidades de Taq-polimerase.

Os ciclos do programa de PCR foram ajustados conforme indicado pelo site MaizeGDB (<http://www.maizegdb.org/ssr.php>), com modificações na temperatura de anelamento, visando aumentar a extrínscia das reações (para eliminação de bandas inespecíficas), e consequentemente, qualidade dos resultados.

As amplificações de PCR para análises de microssatélites foram realizadas em termociclador *Applied Biosystems Veriti®* TM, seguindo o método “touchdown” de otimização, composto por uma desnaturação a 94° C por 5 minutos, seguido de 9 ciclos de: 94°C por 40 segundos (desnaturação), 68° C por 40 segundos (anelamento) com redução de 1°C por ciclo e 72 ° C por 40 segundos (extensão), seguido de 25 ciclos de: 94°C por 40

segundos (desnaturação), 60° C por 40 segundos (anelamento) e 72 ° C por 90 segundos (extensão) e ao final dos 34 ciclos, uma extensão final a 72° C por 7 minutos, e resfriamento a 4 ° C.

Os produtos da amplificação foram separados por meio de eletroforese em gel de acrilamida a uma concentração de 6%, a 100 Volts por 4 horas. Após a separação dos fragmentos, o gel foi corado com brometo de etídio na concentração de 0,25 µg/mL e em seguida exposto à luz ultravioleta e fotografado em fotodocumentador Biorad® Gel Doc XR System.

4.2.5 Análise dos dados

Dos 50 primers utilizados, 23 foram selecionados para o estudo (Tabela 2). Os dados obtidos a partir da amplificação dos SSR foram convertidos em código numérico (1, 2, 3, ..., n) de acordo com o número de alelos para cada loco. Assim, os homozigotos foram representados por 11, 22, 33, ... nn, e os heterozigotos por 12, 13, 23, ... n, sendo o valor -9 destinado a falta de informação (dado perdido) sobre o indivíduo.

O aplicativo Genes (Cruz, 2016) foi utilizado para obtenção da matriz de dissimilaridade genética através do Índice Ponderado para serem empregadas na análise de agrupamento pela ligação média entre grupos (UPGMA), bem como para analisar a variabilidade genética entre e dentro dos grupos através da Análise de Variância Molecular (AMOVA).

A heterozigosidade observada em um determinado loco seguiu os procedimentos de Brown e Weir (1983):

$$H_o = 1 - \sum P_{ii}$$

Sendo P_{ii} = frequência observada de genótipos homozigotos do alelo i , e a heterozigosidade média observada foi obtida pela soma dos valores de cada loco dividindo-se pelo número total de locos estudados.

A heterozigosidade esperada teve como base Nei (1978):

$$H_e = 1 - \sum P_i^2$$

Sendo P_i a frequência estimada do i ésimo alelo, onde o valor médio esperado foi obtido pela média aritmética de todos os locos estudados.

O Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC) foi calculado de acordo com Bolstein et al., (1980):

$$PIC = (\sum x_i^2) - \sum 2x_i x_j^2$$

4.3 Resultados e Discussão

Os 23 locos SSR que foram selecionados para estudo foram mapeados em regiões que estavam dispersas por todo o genoma do milho, o que garante uma ampla cobertura do genoma (Tabela 2). A partir destes SSR, foi possível obter a amplificação de 112 alelos nas dezesseis variedades de milho. O número de alelos amplificados variou de 3 (umc1777, bnlg1006 e bnlg 1208) a 9 (bnlg161), tendo como média 5,13 alelos por loco.

Tabela 2 - 23 locos SSR amplificados, suas respectivas sequências, número do Bin e conteúdo de informação polimórfica (PIC)

Locos SSR	Sequência Forward	Reverse	Nº do Bin*	PIC
dupssr14	AGCAGGTACCACAATGGAG	GTGTACATCAAGGTCCAGATTT	8.09	0,62
umc1771	CATCAGGAAGGAAGACGACTAGGA	GTGAAATGTTGTTTCCAATGCAAG	9.04	0,30
phi084	AGAAGGAATCCGATCCATCCAAGC	CACCCGTA CTTGAGGAAAACCC	10.04	0,32
bnlg2241	GTGCACACTCTCTTG CATCG	TAGTCAGCATCTGCCGTGTC	3.06	0,55
bnlg1724	CTGACCCAGAGCATTGTGAA	GATGAAGAGCTTGCAGTCCC	9.01	0,61
bnlg1055	GACCGCCCGGGACTGTAAGT	AGGAAAGAAGGTGACGCGCTTTTC	1.11	0,66
bnlg125	GGGACAAAAGAAGAAGCAGAG	GAAATGGGACAGAGACAGACAAT	2.02	0,71
bnlg161	GGGACAAAAGAAGAAGCAGAG	GAAATGGGACAGAGACAGACAAT	6.00	0,77
bnlg182	AGACCATATTCCAGGCTTTACAG	ACA ACTAGCAGCAGCACAAGG	1.03	0,77
bnlg589	GGGTCGTTTAGGGAGGCACCTTTGGT	GCGACAGACAGACAGACAAGCGCATTGT	4.10	0,68
bnlg1006	GACCAGCGTGTTGATCCC	GGAGACCCCGACTCTCTCTC	5.00	0,58
bnlg1208	GCTGTGATGGTGAGACGAGA	GCAGGCACTACTAAAACCGC	5.04	0,55
bnlg1338	GTGCAGAAATGCAGGCAATAG	GCAAATGTTTTACACACACG	2.01	0,74
bnlg1811	ACACAAGCCGACCAAAAAAC	G TAGTAGGAACGGGCGATGA	1.04	0,72
dupssr24	ACTGCACTGCACCTCTCTC	ACACAACGGCTTCTAACCTT	2.08	0,72
phi028	TCTCGCTGTCCTTCGATTAGTACGG	AATGCAGGCGATGGTTCTCCG GCCT	9.01	0,61
phi053	CTGCCTCTCAGATTCAGAGATTGAC	AACCCAACGTA CTCCG GCAG	3.05	0,67
umc1016	GATGATGGGTGATCATCGGTTT	CCAGCCATGTCTTCTCGTTCTT	7.06	0,68
umc1033	CTTCTTCGTAAAGGCATTTTGTGC	GTGCGGGATTCTTAGTTTGC	9.02	0,86
umc1035	CTGGCATGATCAGCTATGTATG	TAACATCAGCAGGTTTGCTCATT	1.06	0,73
umc1084	GATAAAAAGGCAAGTGCAACAAGG	ATATCAACCAGAGGCTGGA ACTTG	10.07	0,77
umc1653	GAGACATGGCAGACTCACTGACA	GCCGCCACGTACATCTATC	6.07	0,74
bnlg1863	GGCGTTTCGTTTTGCACTAAT	CGACACAGTTGACATCAGGG	8.03	0,67

*Bin – Posição do marcador ao longo dos cromossomos

Este resultado foi semelhante ao encontrado em outros estudos com variedades de milho. Yao et al., (2007), ao estudarem 54 variedades locais de milho encontraram uma média de 6,1 alelos, enquanto Cömertpay et al.; (2012) encontraram uma média de 6,21 alelos em 90 variedades de milho. Laborda et al., (2003) ainda encontrou uma média de 5,2 alelos trabalhando com linhagens de milho tropical pertencentes ao banco de germoplasma do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Tais valores podem ser vistos como um alto nível de diversidade genética nas variedades de milho estudados aqui, visto que um dos parâmetros para estudar diversidade genética através dos marcadores SSR são o número médio de alelos por loco (RAPOSO et al., 2007).

Os valores médios de PIC (Conteúdo de Informação polimórfica), que fornece uma estimativa do poder discriminatório do marcador foi 0,65, variando de 0,3 para os locos umc1771 e phi084 a 0,86 para o loco umc1033 (Tabela 2). O PIC é o grau de polimorfismo detectado a partir de um primer, considerando não só o número de alelos, mas também as suas frequências, e está diretamente relacionado com a variabilidade das variedades avaliados (CRUZ et al., 2011). Matsuoka et al (2002), avaliando a diversidade genética de milho doce encontraram um valor semelhante (0,62), e descrevem ainda que valores de PIC maiores que 0,25 demonstram que os marcadores são altamente informativos. Portanto, os valores de PIC, encontrados neste estudo, mostram que estes marcadores são altamente informativos.

Considerando que o valor de PIC depende do número de alelos encontrados e de suas frequências, é possível identificar valores de PIC em outros estudos semelhantes para um mesmo loco microssatélite. Alguns dos locos avaliadas neste estudo reportaram valores similares de PIC em trabalhos realizados com variedades de milho comum. Como exemplo, temos o loco bnlg589, que apresentou um valor de PIC 0,68, mostrando que este possui um elevado poder discriminativo. Padilha et al. (2002), avaliando 35 linhagens elites de milho, encontraram exatamente o mesmo valor para o loco citado.

Na tabela 3 estão apresentados os índices de diversidade para cada loco estudado. A heterozigosidade de um marcador representa a probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto no loco marcador e faz uma relação entre o número de alelos e sua frequência.

Tabela 3 - Índice de diversidade genética estimados para os vinte e três locos microssatélites com base nos dados das dezesseis variedades de milho em estudo.

Locos SSR	\hat{H}_o	\hat{H}_e	f
dupssr14	0,29	0,67	0,569
umc1771	0,33	0,32	-0,07
phi084	0,40	0,34	-0,154
bnlg2241	0,48	0,60	0,206
bnlg1724	0,41	0,68	0,393
bnlg1055	0,30	0,71	0,578
bnlg125	0,80	0,75	-0,07
bnlg161	0,69	0,80	0,141
bnlg182	0,30	0,80	0,621
bnlg589	0,30	0,73	0,581
bnlg1006	0,36	0,65	0,449
bnlg1208	0,52	0,62	0,163
bnlg1338	0,36	0,77	0,524
bnlg1811	0,66	0,76	0,131
dupssr24	0,60	0,76	0,205
phi028	0,29	0,68	0,561
phi053	0,46	0,72	0,365
umc1016	0,42	0,73	0,427
umc1033	0,72	0,86	0,158
umc1035	0,75	0,76	0,017
umc1084	0,69	0,80	0,131
umc1653	0,57	0,77	0,254
bnlg1863	0,20	0,72	0,720
Média	0,47	0,70	0,317

Médias estimadas com base nos vinte e três locos microssatélites de milho. Heterozigosidade média observada (\hat{H}_o), Heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e), Índice de fixação ou Coeficiente de endogamia (f).

A heterozigosidade média observada da maioria dos locos apresentaram um valor inferior ($\hat{H}_o = 0,47$) em relação a heterozigosidade média esperada ($\hat{H}_e = 0,70$), sugerindo um excesso de homozigose. De acordo com Sánchez (2008), pode-se entender que, com a variação de loco para loco, em certos locos os alelos estão sujeitos a pressão de seleção, resultando em variações alélicas ou genotípicas. Frequentemente, H_e difere de H_o porque ela é uma previsão baseada na frequência alélica conhecida, e o desvio entre as duas pode ser um importante indicador da dinâmica entre as variedades. Uma menor frequência de heterozigotos pode demonstrar cruzamentos entre indivíduos aparentados e um maior efeito da endogamia, que atua provocando um aumento da quantidade de homozigotos e aumento da homozigose (BARCACCIA et al., 2003).

Entretanto, três locos registraram valores de heterozigosidade observada superiores aos valores de heterozigosidade esperada (umc1771, phi084 e bnlg125) indicando maior número de heterozigotos da previsão esperada. Estes resultados sugerem que tais locos apresentam uma maior frequência de indivíduos heterozigotos, resultantes de cruzamentos ao acaso, indicando uma maior variabilidade genética entre as variedades.

Tais resultados sobre a heterozigosidade esperada e observada podem ser explicados também pelo fato de que os agricultores estão acostumados a renovar as lavouras de milho de um ano para o outro com sementes retiradas de espigas selecionadas. Conseqüentemente, essa seleção massal poderia levar ao déficit de indivíduos heterozigotos.

Vários autores têm sugerido que a retenção de heterose em gerações tem sido proporcional a retenção da heterozigose para a maioria das características de importância econômica. Portanto, conhecendo a heterozigosidade, tem-se uma estimativa da heterose (CRUZ, 2011).

Com base nos estudos de diversidade genética, é possível entender que haverá heterose quando houver diferença na frequência gênica entre os indivíduos envolvidos nos cruzamentos. Se alguma dessas variedades, durante a sua formação, permaneceram geneticamente isoladas e são submetidas a pressões de seleção, tanto artificial quanto natural, esse processo conseqüentemente irá resultar em alguma endogamia, que, juntamente com a flutuação na frequência gênica, contribui para a fixação de alguns homozigotos. Porém, tais homozigotos tanto podem ser de genes com efeitos indesejáveis, quanto de genes cujas combinações heterozigóticas produzem resultados favoráveis (CRUZ, 2011).

Os vinte e três locos revelaram uma fixação média de 0,31, sendo que os menores índices foram estimados para os locos umc1771/bnlg125 ($f = -0,07$) e phi084 ($f = -0,154$) como reflexo dos seus maiores valores de heterozigosidade observada. Aqui tratamos de dezesseis variedades de milho melhorados, e essas diferentes variedades provavelmente têm diferentes alelos fixados, devido as suas origens distantes e sua separação espacial. Logo, ao se cruzarem variedades diferentes, as progênies terão os efeitos deletérios dos genes recessivos encobertos pelos genes dominantes, e conseqüentemente, maior taxa de heterozigose, o que era esperado ao se realizar cruzamentos entre as variedades estudados aqui.

Resultados similares foram encontrados por Pereira et al., (2019), ao avaliarem progênies de milho desenvolvidos pela Universidade Estadual do Norte Fluminense, observaram que, apesar da grande pressão de seleção exercida no processo de melhoramento, as variedades continuam se comportando como se os cruzamentos estivessem ocorrendo ao acaso. Este tipo de comportamento também ocorreu com as variedades de milho aqui estudados, o que pode ser comprovado com os resultados obtidos de índices de fixação.

Em estudos de melhoramento genético, quantificar o grau de dissimilaridade entre linhagens, genótipos ou variedades tem sido importante para detecção de parentesco ou de acessos promissores, descartar duplicatas, assim como para avaliação do fluxo gênico. As medidas de dissimilaridade têm sido propostas para verificar o grau de similaridade e a variação genética entre populações ou variedades, comparando pares de indivíduos e gerando uma matriz capaz de proporcionar uma classificação das populações estudadas (CRUZ, 2011).

Para avaliar as informações múltiplas do conjunto de informações sobre cada indivíduo em estudo, foram calculadas medidas de similaridade, as quais indicam os pares de indivíduos com menor ou maior divergência genética (KAMADA, 2006). Pela análise estatística realizada nos valores de distâncias genéticas geradas pelo complemento aritmético do Índice de Similaridade, verificou-se um coeficiente de variação de 8,63%, indicando assim, boa precisão das estimativas. As medidas de dissimilaridade obtidas entre as 16 variedades de milho variaram entre 0,13 a 0,97, indicando uma ampla variação no coeficiente e alta diversidade entre as variedades de milho avaliados.

A dispersão das variedades de milho foi avaliada com base no dendograma gerado pelo método hierárquico *Unweighed Pair Group Method Arithmetic Mean* (UPGMA) usando as distâncias genéticas geradas pelo Complemento aritmético do Índice de Similaridade entre os pares de indivíduos (Figura 3). O ponto de corte foi definido por meio do coeficiente de Mojema (1977).

A partir dessa análise foi possível verificar que as variedades Fortaleza cultivados em Nova Venécia (F-NV) e Afonso Claudio (F-AC) e um cultivado em Muqui (F-M-1) formaram um primeiro agrupamento. Tais fatos devem-se pelo fato de serem todos da mesma variedade, porém cultivados em locais diferentes. Apesar da distância geográfica, essas variedades não passaram por um processo de diferenciação a ponto de se distanciarem geneticamente.

O segundo agrupamento foi formado pelas variedades AI-01 e EM-201. A variedade Aliança (AI-01 e AI-02) foi melhorada em um assentamento 17 de abril na Comunidade Aliança, em Muqui-Es, e o seu melhoramento foi realizado através de cruzamentos entre as variedades Sol da Manhã (SM) e Emcapa 201 (EM-201). Devido a esses fatos, podemos perceber que a variedade AI-01 ainda possui proximidade com uma das variedades que deu origem a ele, a EM-201.

O terceiro agrupamento foi formado pelas variedades SM, IN-203, F-M2, F-MS-1, BR106, F-M4, F-M3, Eld e AI-02. Neste agrupamento podemos perceber que algumas variedades Fortaleza ainda apresentam proximidade genética com a variedade a qual teve origem, a BR106.

O quarto e último agrupamento foi formado pela variedade SJ (São José). A variedade São José também foi melhorada a partir da variedade BR106, através de ciclo de seleção pela Comunidade São José de Sassui, em Irupi. Através de análises visuais, foi percebido pelos agricultores que essa variedade, depois de um tempo, segregou os grãos para coloração branca, o que deve ser uma manifestação de uma das variedades que foi utilizada nos cruzamentos para obtenção da variedade BR106. Logo, podemos entender que além de mudanças fenotípicas percebidas pelos agricultores, também percebemos mudanças genéticas, pelo distanciamento genético dessa variedade das outras variedades estudadas, como demonstrado pelo dendograma.

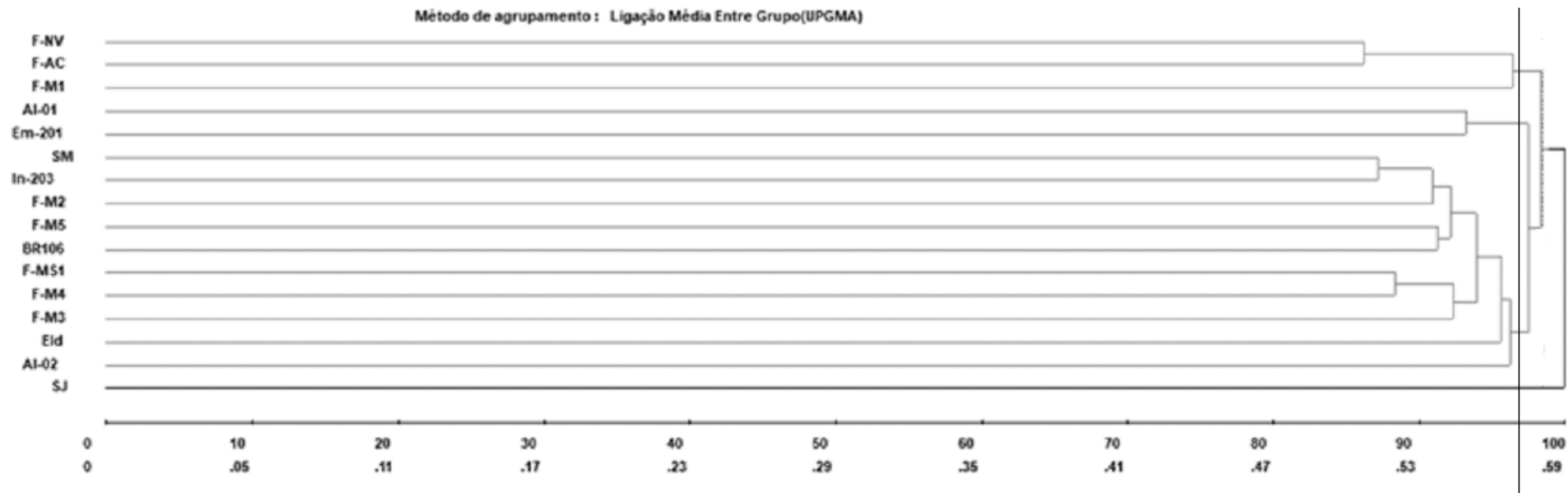


Figura 3 - Dendograma resultante da análise de dezesseis variedades de milho obtido pelo método de agrupamento UPGMA, com base na matriz de dissimilaridade.

De acordo com o Índice Ponderado, que fornece informações sobre a proximidade dos grupos na matriz de dissimilaridade, os indivíduos da variedade Fortaleza AC foram os mais próximos (Similaridade =0.5128), seguidos das variedades Fortaleza AC X Fortaleza M1, e os indivíduos das variedades Fortaleza-NV X São José foram os mais divergentes (Dissimilaridade =0.9866), como visto na tabela 4, corroborando com os dados mostrados no dendograma.

A identificação dos pares mais distantes ou divergentes é um aspecto visado pelos melhoristas, uma vez que pode orientar combinação de genitores para o ganho de heterose (ALLARD, 1971). No presente estudo, as maiores distâncias foram encontradas entre indivíduos de diferentes variedades, e as menores entre indivíduos da mesma variedade. Os indivíduos mais próximos foram encontrados nas variedades Fortaleza vindo de diferentes locais de cultivo. Tais resultados eram esperados, pois as variedades Fortaleza foram melhoradas a partir de uma variedade de polinização aberta, a BR106.

As variedades de polinização aberta são variedades melhoradas e que apresentam, em geral, maior potencial de produção e resistência a praga, doenças e acamamento ou quebramento. Quando o agricultor adquire as sementes, ele pode mantê-las em sua propriedade para plantios subsequentes, e após anos de cultivo e de métodos de melhoramento, como a seleção, o agricultor pode passar a ter uma variedade local adaptada para o cultivo em sua localidade.

O melhoramento da variedade Fortaleza foi iniciado no ano de 1993, através de seleção massal simples, e em 2012 foi realizado o lançamento dessa variedade, que foi registrada no Ministério do Desenvolvimento Agrário, como variedade local (Informação pessoal). A partir de então, ela começou a ser disponibilizada para outros agricultores, que foram continuando o plantio e o processo de melhoramento genético, através da seleção durante os anos. No presente estudo, comparamos variedades Fortaleza cultivados no município de Muqui, Afonso Cláudio, Nova Venécia e Mimoso do Sul, e apesar do distanciamento espacial, por meio dos valores de similaridade podemos entender que os indivíduos das diferentes variedades dessa mesma variedade ainda apresentam grande similaridade.

Tabela 4 - Matriz de dissimilaridade genética entre dezesseis variedades de milho, calculadas com base no complemento do coeficiente de similaridade do Índice Ponderado, utilizando vinte e três marcadores SSR

Variedade	F- NV	F- AC	F- MS-1	F- M-1	F- M-2	F-M-3	F- M-4	F- M-5	SJ	AL- 01	AL- 02	BR106	SM	ELD	EM- 201	IN- 203
F- NV	0															
F- AC	0.5128	0														
F- MS-1	0.5851	0.5851	0													
F- M-1	0.5734	0.5734	0.5851	0												
F- M-2	0.5851	0.5851	0.5584	0.5851	0											
F- M-3	0.5851	0.5851	0.5492	0.5851	0.5584	0										
F- M-4	0.5851	0.5851	0.5251	0.5851	0.5584	0.5492	0									
F M-5	0.5851	0.5851	0.5584	0.5851	0.5479	0.5584	0.5584	0								
SJ	0.5947	0.5947	0.5947	0.5947	0.5947	0.5947	0.5947	0.5947	0							
AL-01	0.5851	0.5851	0.5584	0.5851	0.5479	0.5584	0.5584	0.5428	0.5947	0						
AL-02	0.5851	0.5851	0.5584	0.5851	0.5405	0.5584	0.5584	0.5479	0.5947	0.5479	0					
BR106	0.5851	0.5851	0.5688	0.5851	0.5688	0.5688	0.5688	0.5688	0.5947	0.5688	0.5688	0				
SM	0.5851	0.5851	0.5799	0.5851	0.5799	0.5799	0.5799	0.5799	0.5947	0.5799	0.5799	0.5799	0			
ELD	0.5851	0.5851	0.5724	0.5851	0.5724	0.5724	0.5724	0.5724	0.5947	0.5724	0.5724	0.5724	0.5799	0		
EM- 201	0.5851	0.5851	0.5799	0.5851	0.5799	0.5799	0.5799	0.5799	0.5947	0.5799	0.5799	0.5799	0.5546	0.5799	0	9
IN 203	0.5851	0.5851	0.5584	0.5851	0.5405	0.5584	0.5584	0.5479	0.5947	0.5479	0.5186	0.5688	0.5799	0.5724	0.5799	0

Siglas das variedades de acordo com Tabela 1.

A informação sobre a similaridade dos indivíduos pode ser utilizada como possível critério de escolha para o melhoramento das variedades de milho. Analisando os resultados obtidos, percebemos que indivíduos da variedade Fortaleza cultivados em Nova Venécia e os indivíduos da variedade São José, cultivados na comunidade São José de Sassui, no município de Irupí, ES, são os mais divergentes.

O início do uso de linhagens em programas de melhoramento estava associado à busca do vigor de híbrido, ou heterose, fenômeno que proporciona grande produtividade em plantas F1 provenientes do cruzamento de genitores que exibem alta divergência entre si. Portanto, cruzamentos entre indivíduos dessas duas variedades, Fortaleza-NV e São José, parecem ser interessantes, pois caracterizam variedades divergentes que, quando acasalados podem visar a produção de um híbrido intervarietal.

Calculou-se também o Coeficiente de Correlação Cofenética, que fornece uma correlação entre a matriz de dissimilaridade e o dendograma gerado. Este evidenciou uma associação de 68,81% ($CCC=0,6881$) entre as distâncias obtidas na matriz de dissimilaridade (Índice ponderado) e a matriz cofenética. O valor encontrado foi satisfatório, visto que valores superiores a 0,56 refletem uma boa concordância entre as matrizes (Vaz Patto et al., 2004).

A comparação entre variedades que vinham sendo cultivados em sistema de melhoramento participativo indicou que a maioria das variedades estavam agrupados e apresentavam coeficiente de similaridade maior que 0.45, logo, o comportamento dessas variedades foi refletido na formação de grupos próximos. Resultados semelhantes foram encontrados por Yao et al., (2007), estudando variedades de milho provenientes de uma mesma região geográfica, e, como no presente estudo, formaram grupos entre elas, refletindo a similaridade genética.

A análise de variância molecular (AMOVA) (Tabela 5) é uma metodologia utilizada para estudar a diversidade entre populações/variedades a partir de dados moleculares e também testar hipóteses a respeito da diferenciação que pode estar ocorrendo. A partição da variação genética entre e dentro das variedades foi então verificada através da AMOVA.

A estatística obtida pela AMOVA reflete a correlação da diversidade em diferentes níveis hierárquicos. No presente estudo, foram considerados dois níveis hierárquicos (populações/variedades e indivíduos avaliados). O valor da diferenciação genética entre as variedades (Estatística ϕ_{ST}) foi de 0.1217, indicando baixa diferenciação genética entre as variedades. Logo, 87,83% da variação foi atribuída a diversidade dentro das variedades, e o restante, 12,17%, a diversidade entre as variedades, revelando uma concordância com as demais estatísticas estudadas.

Tabela 5 - Análise de variância molecular entre as dezesseis variedades de milho

FV	Estimativa	%
ENTRE	0.0475	12.1673
DENTRO	0.3432	87.8327
TOTAL	0.3908	100
ESTATÍSTICA ϕ_{ST}	0.1217	12,17

Uma considerável diversidade genética foi revelada dentro das variedades, o que é consistente com o modo de cruzamento da cultura do milho, que apresenta cruzamentos alógamos. Na (AMOVA) grande parte da variabilidade genética está concentrada dentro das variedades (87,25%), com menor porcentagem entre eles (12,75%), demonstrando o efeito da deriva genética em razão da redução da heterozigosidade (Excoffier et al., 1992), corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

4.4 Conclusões

Existe variabilidade genética entre as variedades estudadas, e a formação de grupos através das análises de agrupamento aplicadas sugere que as variedades melhoradas de forma convencional e participativa não formaram agrupamentos separados. Estes resultados sugerem que as variedades melhoradas de forma participativa possuem similaridade com variedades melhoradas de forma convencional, já lançados no mercado e que vêm sendo utilizados há tempos por agricultores, sugerindo que algumas características importantes para o cultivo do milho possam estar presentes nas variedades tradicionais. Indica ainda a possibilidade de planejamentos de cruzamentos visando a heterose.

As análises de SSR foram efetivas na identificação da diversidade genética entre as variedades, e os marcadores se mostraram informativos em relação aos *primers* utilizados.

Permitiu-se diferenciar as variedades entre si, mostrando que não existem duplicatas genéticas.

Referências

- ALLARD, R.W. Princípios de melhoramento genético de plantas. São Paulo. Edgard Blucher. 381p. 1971
- ANDJELKOVIC, V.; NIKOLIC, A.; KOVACEVIC, D.; MLADENOVIC-DRINIC, S.; KRAVIC, N.; BABIC, V.; SREBRIC, M.; JANKULOVSKA, M.; IVANOVSKA, S.; BOSEV, D. Conserving maize in gene banks: Changes in genetic diversity revealed by morphological and SSR markers. *Chilean Journal of Agricultural research*, v.78, n.1. 2018.
- BARCACCIA, G.; LUCCHIN, M; PARRINI, P. Characterization of a Flint maize (*Zea mays* var. *indurata*) Italian landrace, II. Genetic diversity and relatedness assessed by SSR and Inter-SSR molecular markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. n.50, p.253-271. 2003.
- BEDOYA, C.A.; DREISIGACKER, S.; HEARNE, S.; FRANCO, C.; PRASANNA, B.M.; TABA, S.; CHARCOSSET, A.; WARBURTON, M.L. Genetic diversity and population structure of native maize populations in Latin America and the Caribbean. *Plos One*. April 12, 2017.
- BIANCHETTO, R.; FONTANIVE, D. E.; CEZIMBRA, J. C. G.; KRYNSKI, A. M. Desempenho agrônômico de milho crioulo em diferentes níveis de adubação no Sul do Brasil. *Rev. Elet. Cient. UERGS*. v.3, n.3, p.528-545, 2017.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos – v.7, Safra 2019/20. Primeiro levantamento, Brasília, p.1-47, outubro, 2019.
- COMERTPAY, G.; FAHEEM, S.; BALOCH, B. K.; ULGER, A. C.; OZKAN, H. Diversity assessment of Turkish maize landraces based on fluorescent labelled SSR markers. *Plant. Ml. Bio. Rep.* N.30, p.261-274. 2012.
- CRUZ, C. D. Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética. *Suprema*. Visconde do Rio Branco – MG. 2011.
- CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum*. v.38, n.4, p.547-552, 2016
- CUNHA, F. L. Sementes da paixão e as políticas públicas de distribuição de sementes na Paraíba. 2013. 184f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2013.
- DOYLE, J.; and DOYLE, J. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15. 1990.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, n.131, p.479-491, 1992.

EICHOLZ, E. D. et al. Produtividade de variedades de milho de polinização aberta no RS. In: XXXI CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Anais... Bento Gonçalves, p. 1436 – 1439, 2016.

Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Expansão. Capixaba Incaper 203. Nova Variedade de milho para a Agricultura Familiar. 2007. Disponível em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/969/1/Folder-Milho-Capixaba.pdf>. Acesso em: 07-06-2020.

Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Expansão. ES-204 Imperador, Nova variedade de milho para a agricultura orgânica e familiar do ES. 2018. Disponível em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/123456789/3355/1/Milho-ES204-imperador-incaper.pdf>. Acesso em: 07-06-2020.

KAMADA, T. Avaliação da diversidade genética de populações de Fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) por RAPD, caracteres morfológicos e teor de beta-ecdisona. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. 2006.

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. Anais. Águas de Lindóia: [s.n.], 2003.

LANES, E. C. M. Caracterização molecular de linhagens de milho tropical por marcadores microssatélites. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Viçosa, 2009.

LITT, M., LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet*, v.44, n.3, p.397-401, 1989.

MATSUOKA, Y.; VIGOUROUX, Y.; GOODMAN, M.M.; SANCHEZ, G.J.; BUCKLER, E.; DOEBLEY, J. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proc Natl Acad Sci*. v.99, p.6080-6084. 2002.

MACHADO, A. T.; MAGALHÃES, J. R.; MAGNAVACA, R.; SILVA, M. R. Determinação das atividades de enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio em diferentes variedades de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.4, n.1, p.45-47, 1992.

MACHADO, A.T.; NUNES, J.A.; MACHADO, C.T.T.; NASS, L.L.; BETTERO, F.C.R. Mejoramiento participativo en maíz: su contribución en el empoderamiento comunitario en el municipio de Muqui, Brasil. *Agronomía Mesoamericana*, v.17, n.3, p. 393-405. 2006.

MOJEMA, R Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. *Comp. J.* 20: 359-363.1977.

NUNES, J.A. Avaliação participativa de variedades locais e melhoradas de milho visando a eficiência no uso de nitrogênio. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Espírito Santo. 2006.

PADILHA, L.; GUIMARAES, C. T.; VIEIRA, M. G. G. C.; SOUZA, I. R. P.; PARENTONI, S. N.; PACHECO, C. A. P.; SANTOS, M. X.; GAMA, E. E. G.; PAIVA, E. Microssatélites fluorescentes na diferenciação de linhagens de milho. XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Florianópolis – SC. 2002.

PEREIRA, M. G.; BERILLI, A. P. C. G.; TRINDADE, S. T.; ENTRINGER, G. C. ; SANTOS, P. H. A. D. ; VETTORAZZI, J.C.F. ; CUNHA, K. S. . UENF 506-11: a new corn cultivar for the north and northwest of the Rio de Janeiro State. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 19, p. 141, 2019.

PINTO, M. O.; TEIXEIRA, F. F.; GUIMARAES, C. T. Diversidade genética de milho-doce utilizando marcadores microssatélites. XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Bento Gonçalves – RS. 2016.

QUEIROZ, T. N.; VALIGUZSKI, A. L.; SOUZA, S. A. M.; ROCHA, A. M. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de variedades tradicionais de milho. *Rev. Universidade Vale do Rio Verde*. V.17, n.1, 2019.

RAPOSO, A.; MARTINS, K.; CIAMPI, A. Y.; WADT, L. H. H.; VEASEY, E. A. Diversidade genética de populações de andiroba no Baixo Acre. *Pesq. Agropec. Bras.* v.42, n.9, Brasília, 2007.

RIBEIRO, C. A. G.; PINTO, M. O. MACIEL, T. E. F.; PASTINA, M. M.; BARROS, E. G.; GUIMARAES, C. T. Universal tail sequence-SSR applied to molecular characterization of tropical maize hybrids. *Sci. Agric.* V.74, n.2, p.163-168. 2017.

SANCHEZ, C. F. B. Diversidade entre e dentro de populações simuladas sob deriva genética. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Viçosa. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. 2008.

SILVEIRA, DIÓGENES CECCHIN et al. Caracterização agromorfológica de variedades de milho crioulo (*Zea mays* L.) na região noroeste do Rio Grande do Sul. *CIÊNCIA & TECNOLOGIA*, v. 1, n. 1, p. 01- 11, 2015.

YAO, Q.; YANG, K.; PAN, G.; RONG, T. Genetic diversity of maize (*Zea mays* L.) landraces from southwest China based on SSR data. *Journal of Genetics and Genomics*. v.34, n.9, p.851-860. 2007.

5. Capítulo II – Caracterização morfoagronômica de variedades de milho (*Zea mays* L.) cultivadas em Comunidades Rurais do Espírito Santo

Resumo

O milho é uma cultura que apresenta grande importância para a subsistência, sendo utilizado diretamente para consumo humano ou para atividades de alimentação animal. É uma cultura que tem sido muito estudada nas últimas décadas, com enfoque principal em produtividade, e para isso, a seleção é considerada uma importante estratégia para produção de variedades melhoradas. Neste sentido, objetivou-se realizar a caracterização agrônômica de variedades de milho disponíveis para cultivo, a fim de identificar materiais mais adequados e que possam se adaptar ao local de cultivo. Foram realizados três experimentos em campo, sendo dois em safra verão e um em safra inverno, com dezesseis variedades de milho. A partir desses experimentos, os dados foram coletados de doze características agrônômicas. A partir dos dados obtidos seguiu-se as seguintes análises: análises de variância e teste de Tukey para comparação de médias, análises de agrupamento, análise da correlação genotípica e fenotípica, análise de componentes principais, cálculo do coeficiente de herdabilidade, aplicação do índice de seleção e entre as características. Através da análise de variância conjunta, foi possível perceber que as variedades Fortaleza se destacaram nas características peso de grãos, peso de espigas, número de espigas, altura de plantas e espigas e apresentaram menores médias com relação ao número de espigas doentes. A característica peso de grãos apresentou correlação significativa com peso de espigas, número de plantas total, número de espigas total, altura de plantas e altura de espigas, demonstrado que quando for realizada a seleção indireta para essas características, pode acarretar em maiores produções de grãos, conseqüentemente. Através da análise de agrupamento foi possível concluir que cruzamentos entre variedades Fortaleza e a variedade Sol da Manhã podem ser realizados, visando a heterose.

5.1 Introdução

O milho (*Zea mays*. L) é uma gramínea pertencente à família Poaceae, e seu desenvolvimento é datado de 8 a 10 mil anos atrás, a partir do seu ancestral teosinto (MAGALHÃES e SOUZA, 2011). O Brasil é o terceiro maior produtor de milho do mundo, somente atrás da China e dos Estados Unidos (MIRANDA, 2018).

É uma cultura que apresenta grande importância para a subsistência, sendo utilizado diretamente para o consumo humano ou para atividades de alimentação animal (SILVEIRA et al., 2015). Geralmente, as cultivares selecionadas para plantio são escolhidas para responder a adubação solúvel, resistência a pragas e alta produtividade (EICHOLZ et al., 2016).

Nos últimos anos, houve uma mudança no modo de cultivo de milho, pois as tradicionais variedades locais, de polinização aberta, foram sendo substituídas por cultivares híbridos, que apresentam maior potencial produtivo, porém com maior exigência em tecnologia de produção, relacionada a adubação, irrigação e uso de defensivos (EMYGDIO et al., 2008). Para agricultores que dispõem de menos tecnologias, os cultivares híbridos podem apresentar desempenho próximo ou inferior às variedades locais (CARPENTIERI et al., 2010).

Além disso, essas variedades carregam uma grande diversidade genética, e estão em constante processo evolutivo e de adaptação às condições ambientais e sistemas de cultivo (CUNHA, 2013).

Nos programas de melhoramento de plantas, o estudo de relações lineares entre os caracteres pode fornecer resultados importantes, especialmente na identificação de caracteres que possam ser utilizados na seleção indireta. Dessa forma, a seleção efetuada em apenas um caráter pode ocasionar mudanças concomitantes em outros caracteres (FALCONER e MACKAY, 1996; NARDINO et al., 2016).

Neste sentido, a seleção é considerada uma importante estratégia para geração de variedades melhoradas. Porém, a falta de informações regionais referentes às variedades locais, em relação ao comportamento agrônomico das mesmas, faz com que a escolha das variedades possa ser um obstáculo para os agricultores no planejamento do cultivo (SILVEIRA, 2015).

Logo, a caracterização agronômica de variedades disponíveis para cultivo, é de fundamental importância para identificação de materiais mais adequados e que possam se adaptar ao local de cultivo e apresentarem maior potencial produtivo.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo realizar a caracterização agronômica de dezesseis variedades de milho cultivadas por agricultores em comunidades rurais.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Material genético

Foram utilizadas dezesseis variedades de milho, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Variedades de milho cultivados em comunidades rurais, selecionadas para caracterização morfoagronômica

N	Variedade	Sigla	Método Melhoramento	Produtor	Local de cultivo	Caracterização
1	Fortaleza NV	F-NV	Participativo	José Luiz Pilon	Travessia - Nova Venécia - ES	
2	Fortaleza AC	F-AC	Participativo	Clésio Brandão	Afonso Cláudio – ES	
3	Fortaleza MS-1	F-MS-1	Participativo	João Machado	Palmeira - Mimoso do Sul - ES	Variedade com 10 ciclos de seleção massal proveniente da variedade BR 106, através de melhoramento participativo Comunidade Fortaleza, Muqui-ES; apresenta endosperma dentado e cor amarela (NUNES, 2006).
4	Fortaleza M-1	F-M-1		Franknely Bettero	Fortaleza - Muqui-ES	
5	Fortaleza M-2	F-M-2	Participativo	Renato Bettero	Fortaleza - Muqui-ES	
6	Fortaleza M-3	F- M-3	Participativo	Márcio Tuão	Fortaleza - Muqui-ES	
7	Fortaleza M-4	F- M-4	Participativo	Antônio M. Verly	Fortaleza - Muqui-ES	
8	Fortaleza M-5	F-M-5	Participativo	Ângelo Bettero	Fortaleza - Muqui-ES	
9	São José	S-José	Participativo	Renildo Moreira	São José do Sassuí -Irupi-ES	Variedade de grãos dentados, amarelos, de porte normal, ciclo semiprecoce selecionados para a região do Caparaó Capixaba pela Comunidade São José do Sassuí, Irupi-ES (NUNES, J.A. comunicação pessoal)
10	Aliança 01	AL-01	Participativo	Valter Viana	Aliança - Muqui – ES	População de grãos duros, semiduros e semidentados, alaranjados e amarelos; variedade com 10 ciclos de seleção massal simples da variedade EM-201. (NUNES, 2006).
11	Aliança 02	AL-02	Participativo	Henrique Rosino		
12	BR106	BR106	Convencional	EMBRAPA Milho e Sorgo	Sete Lagoas – MG	Lançada em 1985, originada do cruzamento de três variedades brasileiras (Maya, Centralmex e Dentado Composto) e uma introdução exótica (Tuxpeño). Apresenta endosperma dentado e de cor amarelo (NUNES, 2006).

Continuação Tabela 1 – Variedades de milho cultivados em comunidades rurais, selecionada para caracterização morfoagronômica

N	Variedade	Sigla	Método de melhoramento	Produtor	Local de cultivo	Caracterização
13	Sol da Manhã	SM	Participativo	Comunidade Sol da Manhã, Seropédica- RJ.	Comunidade Sol da Manhã, Seropédica- RJ.	Apresenta grãos duros e semiduros, de cor alaranjados e predomínio dos germoplasmas Cateto, Eto e Duros do Caribe (MACHADO et al., 1992; NUNES, 2006).
14	Eldorado	ELD	Participativo	Comunidade Sol da Manhã, Seropédica-RJ, e Sítio Alegria-DF	Comunidade Sol da Manhã, Seropédica-RJ, e Sítio Alegria-DF	Selecionada para sistema orgânico, com seis ciclos de seleção massal. População de grãos dentados e semidentados, amarelos com segregação para branco (NUNES, 2006).
15	Imperador-ES204	EM-201	Convencional	INCAPER	Domingos Martins – ES	Melhoramento genético iniciando em 1984, após três ciclos de seleção foi lançada como ‘Emcapa-201’, como a primeira variedade melhorada de milho para o Espírito Santo. Logo após, foi introduzida no sistema de cultivo orgânico, na URA/INCAPER, e submetida a 28 anos de seleção. Obteve-se então a variedade ‘ES-204 Imperador (INCAPER, 2018).
16	Capixaba INCAPER 203	IN-203	Convencional	INCAPER	Fazenda Experimental de Sooretama/INCAPER	Começou a ser desenvolvida em 1985 e passou por quatro ciclos de seleção massal. Apresenta grãos duros e de colocação avermelhada (INCAPER, 2007).

Os três experimentos foram realizados em condições de campo (Tabela 6), na propriedade dos agricultores João Mariano Martins e Zinma Mariano Martins, no município de Iúna-ES, (Latitude:20.3683798, Longitude:41.52794853, Elevação:652m).

Tabela 6 – Experimentos realizados em campo para caracterização morfoagronômica das dezesseis variedades de milho

Experimentos	Época de plantio/colheita	Delineamento
1	Novembro – abril 2017-2018	DBC (Blocos Casualizados)
2	Maio – setembro 2018	Três blocos 16 parcelas por bloco
3	Novembro – abril 2018-2019	

O município de Iúna está localizado no sul do estado do Espírito Santo. Compõe a microrregião do Caparaó. O município é constituído de famílias de agricultores que sobrevivem da cafeicultura, do cultivo de milho e pecuária leiteira (PREFEITURA MUNICIPAL DE IUNA, 2020).

A área onde o experimento foi instalado (Figura 4) vem sendo cultivada em sistema orgânico pela própria família. Após a colheita do milho a área é deixada em pousio até o plantio do próximo ensaio (comunicação pessoal).

A adubação orgânica em todos os experimentos foi realizada na proporção de 16 ton/ha com esterco bovino produzido na mesma propriedade. O delineamento experimental utilizado em todos os experimentos foi o de blocos ao acaso, com 3 repetições. Na área útil do experimento, cada parcela foi constituída de 2 fileiras com 5 metros cada e espaçadas entre si em 1 metro. Um stand final de 50 plantas por parcela foi mantido após o desbaste realizado quando as plantas possuíam em média, 25 cm de altura. A bordadura dos ensaios foi feita com uma das variedades utilizadas (variedade Aliança). Os experimentos foram avaliados durante três anos agrícolas consecutivos (primavera/verão 2017- 2018 e 2018-2019, e outono/inverno 2018).



Figura 4 - Experimento em campo mostrando a plantação de milho referente ao ano agrícola 2017 – 2018.

A quantidade de dias de chuva e a temperatura média nos anos realizados os experimentos são mostrados nas figuras 5 e 6:

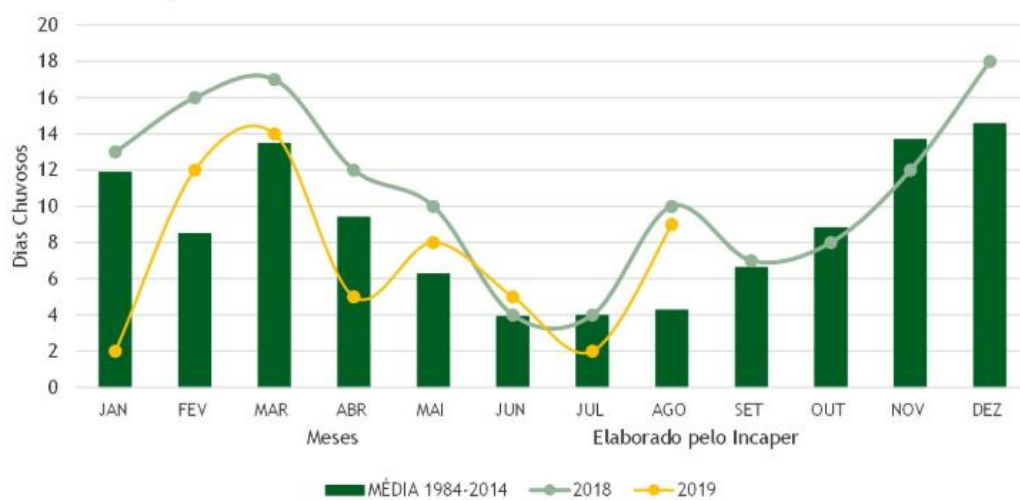


Figura 5 - Dias de chuva nos anos 2018-2019 da microrregião do Caparaó, segundo o INCAPER

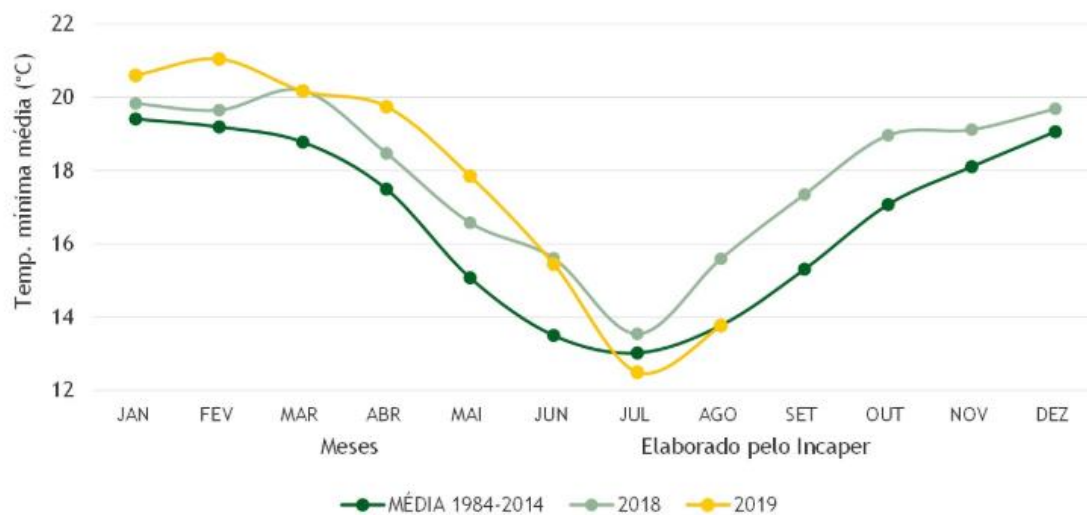


Figura 6 - Temperatura mínima média nos anos 2018 – 2019, na microrregião do Caparaó, segundo o INCAPER.

5.2.2 Avaliação dos caracteres agronômicos

Foram realizadas avaliações de doze caracteres agronômicos quantitativos pertencentes à relação de descritores da cultura do milho (IPIGRI, 2000). A avaliação dos caracteres foi dividida em três momentos: experimento em campo, pré-colheita e pós-colheita.

Cerca de 60 dias após o plantio, os experimentos em campo passaram a ser visitados todos os dias no mesmo horário (9:00h), para avaliação do florescimento feminino e masculino. Quando 50% da parcela já havia emitido os estigmas sobre a espiga e emitindo o pólen, os dados foram anotados para posterior análise estatística.

No momento pré-colheita foram analisados os seguintes caracteres por parcela:

- NPT = Número de plantas total, para correção de stand.
- NET = Número de espigas total, determinada pela contagem de espigas da parcela.
- NPA = Número de plantas acamadas, anotadas por contagem na parcela.
- NPQ = Número de plantas quebradas, anotadas por contagem na parcela.
- AP = Altura de plantas (m), anotadas de vinte plantas competitivas, tomadas da base do solo até a base do pendão.
- AE = Altura de espigas (m), anotadas das mesmas vinte plantas competitivas, tomadas da base do solo até a inserção da espiga superior.

E no momento pós-colheita, foram analisados os seguintes caracteres por parcela:

- PE = Peso de espigas: Contagem de todas as espigas colhidas na área útil da parcela e peso obtido em balança digital,
- NED = Número de espigas doentes: obtidas pela contagem de espigas doentes colhidas em cada parcela na ocasião de colheita.
- PG = Peso de grãos: determinada pela massa total de grãos da parcela (ou área útil), com grau de umidade corrigido para 13%, e transformada em Kg há⁻¹

5.2.3 Análises estatísticas

A diversidade fenotípica entre as variedades foi quantificada através de análises estatísticas univariadas e multivariadas. As análises foram realizadas no Programa Genes (CRUZ, 2016).

A análise de variância (ANOVA) de cada experimento foi realizada seguindo o modelo para delineamento em blocos casualizados, considerando-se como fixos os efeitos das variedades. O modelo matemático foi:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + E_{ij}$$

Onde:

Y_{ij} = valor da variável testada sob a i-ésima população e no j-ésimo bloco;

μ = média geral do experimento para a variável;

G_i = efeito fixo do i-ésimo variedade;

B_j = efeito aleatório do j-ésimo bloco;

E_{ij} = erro aleatório

O teste de Liliiefors para normalidade dos dados foi aplicado, e após, a análise de variância conjunta foi realizada seguindo o esquema fatorial, para desdobramento da interação do ambiente nas variedades, considerando-se como fixos os efeitos das variedades e aleatório o efeito dos ambientes. O modelo matemático foi:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + B/A_{jk} + A_j + GA_{ij} + E_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = variável observada no i-ésimo nível do fator G com o j-ésimo nível do fator B da k-ésima repetição

μ = a média geral do experimento para a variável;

G_i = o efeito do i-ésimo nível do primeiro fator

B/A_{jk} = efeito aleatório do k-ésimo bloco

A_j = efeito do j-ésimo nível do segundo fator

GA_{ij} = efeito da interação do i-ésimo fator G com o j-ésimo nível do fator A

E_{ijk} = erro associado independente

A partir da análise de variância dos três experimentos, o teste de Tukey a 5% de probabilidade foi aplicado para comparação das médias.

O coeficiente de herdabilidade foi calculado usando a fórmula:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_f^2}$$

Em que:

h^2 = estimativa do coeficiente de herdabilidade no sentido restrito;

σ_g^2 = estimativa da variância genotípica

σ_f^2 = estimativa da variância fenotípica

O cálculo do coeficiente de variação genética foi obtido com o uso da seguinte fórmula:

$$CVg = \frac{\sigma_g \times 100}{m}$$

Em que:

CVg = coeficiente de variação genética;

σ_g = estimativa do desvio-padrão genotípico

m = média observada da característica

Foram estimados os coeficientes de correlação fenotípica (r_f) e genotípica (r_g) (FALCONER, 1987). A estatística t foi utilizada para avaliar a hipótese de o coeficiente de correlação fenotípica (r) ser igual a zero. Além disso, verificou-se a magnitudes dos coeficientes de correlação de acordo com a classificação de Carvalho et al. (2004): $r = 0$ (nula); $0 < |r| < 0,30$ (fraca); $0,30 < |r| < 0,60$ (média); $0,60 < |r| < 0,90$ (forte); $0,90 < |r| < 1$ (fortíssima) e $|r| = 1$ (perfeita).

As predições de ganho por seleção foram obtidas pelos Índice clássico de Smith (1936) e Hazel (1943), Índice de Mulamba e Mock (1978) e pelo Índice de Elston (1963) de pesos e parâmetros.

Foi utilizada a distância generalizada de Mahalanobis, onde a partir das distâncias generalizadas entre os pares de variedades foi construída a matriz de dissimilaridade, para a definição dos agrupamentos conforme o método de otimização de Tocher e UPGMA (RAO, 1952).

A contribuição relativa dos caracteres para a divergência foi calculada utilizando o critério proposto por SINGH (1981). Desse modo, a importância relativa dos caracteres é estimada por meio da participação dos componentes

de D2 (distância generalizada de Mahalanobis), relativos a cada característica no total da dissimilaridade observada.

Foi realizada a análise de componentes principais, que foi processada com a matriz de covariância das variáveis originais, obtendo-se dela os autovalores que construíram os autovetores. Estes são combinações lineares das variáveis originais e se denominam componentes principais. O poder discriminatório de cada variável num componente foi medido pela fórmula:

$$rxj = (cph) = \frac{a_{jh}\sqrt{\lambda_h}}{S_j}$$

Nesta fórmula:

rxj = componente principal,

S_j = desvio padrão da variável j,

a_{jh} = coeficiente da variável j no h-ésimo componente principal e

λ_h = h-ésima raiz característica (autovalor) da matriz de covariância (HAIR et al., 2005).

5.4 Resultados e discussão

5.4.1 Análise conjunta

Através da análise de variância conjunta (Tabela 7) verificou-se que a interação entre variedades X ambientes (GXA) foi significativa para as variáveis: peso de espigas (PE), peso de grãos, número de plantas quebradas, número de espigas totais, número de espigas doentes, umidade e altura de plantas (Tabela 7). Para as variáveis altura de espigas, florescimento feminino e florescimento masculino houve variação significativa apenas das variedades, indicando que pelo menos uma variedade difere dos outros quinze, e dos ambientes, indicando que pelo menos um ambiente difere dos outros dois. Isso demonstra que existe variabilidade genética entre as variedades e possibilidade de discriminação dos mesmos com base nesses caracteres e que as variedades de milho do presente estudo podem ser utilizadas como fonte de germoplasma e adaptados a região de cultivo.

De acordo com Pimentel-Gomes (1985), o coeficiente de variação fornece uma ideia da precisão do experimento, e são classificados em baixos, quando

inferiores a 10%, médios quando de 10 a 20%, altos, quando de 20 a 30%, e muito altos, quando superiores a 31%.

Entre os caracteres analisados (Tabela 7), os caracteres: número de plantas acamadas, número de plantas quebradas e número de espigas doentes apresentaram um coeficiente de variação muito elevado (109,6; 74,98 e 72,37, respectivamente). Neste caso, pode ter ocorrido uma dispersão alta dos dados experimentais, insuflando o erro, talvez causado por parcelas perdidas ou até mesmo a diferença genética e fenotípica entre os materiais em estudo ser muito alta (LEITE et al., 2016).

Rangel et al., (2011), encontraram valores de coeficiente de variação muito elevados para as mesmas características em milho pipoca, e concluíram que estas podem ser de maior sensibilidade em relação a influência ambiental, como pode ter ocorrido no presente trabalho.

Tabela 7 - Resumo da Análise de variância (ANOVA) conjunta, teste F e CV (%) para as características avaliadas nas variedades de milho

FV	GL	Quadrados médios										
		PE	PG	NPT	NPA	NPQ	NET	NED	ALP	ALE	FLM	FLF
Blocos/Amb	6	2,212	12,878	91,493	14,54	2,63	89,07	13,29	0,083	0,0333	7,840	8,35
Blocos	2	1,618	29,108	140,92	15,84	1,88	16,34	26,02	0,003	0,0357	12,96	20,00
BI x Amb	4	2,50	47,626	66,77	13,89	3,00	125,44	6,92	0,123	0,0323	5,277	2,52
Variedades	15	23,52 ns	13,68ns	48,94 ns	12,11 ns	4,26ns	97,46 ns	10,14 ns	0,305**	0,141**	81,474**	124,99**
Ambientes	2	23,760**	15,20**	380,5 ns	58,52 ns	405,34 **	3686,9 **	81,86 *	5,220**	5,897**	647,34**	1369,7**
Gen x Amb	30	23,22**	13,24**	39,76 ns	11,66 ns	7,82*	122,12**	9,13 *	0,101*	0,038 ns	14,98ns	10,02ns
Resíduo	90	98,91	58,34	27,28	9,54	4,20	41,69	5,58	0,058	0,038	20,34	7,75
Total	143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Média	-	3418,5	2531,8	43,27	2,819	2,736	31,72	3,26	1,95	1,02	78,63	83,42
CV (%)	-	30,01	30,17	12,06	109,6	74,98	20,35	72,37	12,37	19,24	5,73	3,33

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; ns: não significativo; *e**: significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. PE: peso de espigas; PG: peso grãos; NPT: número de plantas total; NPA: número de plantas acamadas; NPQ: número de plantas quebradas; NET: número de espigas total; NED: número de espigas doentes; UM: umidade; ALP: altura de plantas; ALE: altura de espigas; FLM: florescimento masculino; FLF: florescimento feminino.

Entre as outras características estudadas, o CV (%) variou de 3,33 a 30,17%, para FLF e PG, respectivamente, revelando de médios e altos níveis de precisão para os experimentos desenvolvidos em campo. Esses valores enquadram-se nos limites aceitáveis, segundo as classificações propostas por Gomes (1985) e Scapim et al., (1995).

O teste de média de Tukey possibilitou a detecção de variabilidade nas características avaliadas nas dezesseis variedades de milho. Ao avaliar a característica peso de espigas (Tabela 8), foi possível constatar respostas diferentes no primeiro experimento em relação aos outros dois. A exceção encontrada foi para a variedade BR106, que apresentou as mesmas médias para os três experimentos, demonstrando uma possível estabilidade. Ao verificar a análise de variância (Tabela 7), percebemos que a interação entre variedades e ambientes foi significativa, ocorrendo então dependência entre os dois fatores, variedades e ambientes, mostrando que pelo menos uma variedade apresentou respostas diferentes em pelo menos um ambiente. De acordo com esses resultados, pode-se perceber que as variedades estudadas, em geral, apresentam boa estabilidade quanto ao comportamento peso de espigas em diferentes épocas de cultivo.

Tais resultados podem ser confirmados quando analisamos o coeficiente de variação da característica peso de espigas no resumo da análise de variância (Tabela 7). Para a característica em análise, o coeficiente de variação foi de 30,01%, indicando boa precisão do experimento realizado.

Em relação a característica peso de grãos, percebemos que encontramos diferentes respostas das variedades quando relacionados aos ambientes, mostrando que houve interação entre as épocas de cultivo do milho verão e inverno (Tabela 8). As maiores médias foram encontradas no experimento 1, exceto para variedade BR106, devido ao número de stand baixo, e também no experimento 3 para as variedades F-MS-1, F-M4, SJ e SM.

Assim como a característica peso de espigas, o peso dos grãos apresentou coeficiente de variação igual a 30,17%, indicando boa precisão do experimento realizado, e interação significativa entre variedades e ambientes, demonstrando que a resposta das variedades em relação ao peso dos grãos depende das condições de cultivo da cultura.

Analisando as variedades, podemos perceber que algumas variedades Fortaleza apresentaram maiores médias de peso de grãos e peso de espigas, sendo eles: F-NV, F-AC e F-M-1. A variedade Fortaleza foi melhorada a partir de ciclos de seleção da variedade BR106, e o fato das variedades provenientes desta variedade apresentarem maiores médias de peso de grãos e espigas, com relação a BR106, indica que o melhoramento participativo realizado por agricultores e pesquisadores na Comunidade Fortaleza, em Muqui, foi efetivo, pois essa variedade se sobressaiu, apresentando melhor produtividade.

Resultados semelhantes foram encontrados por Nunes (2006), avaliando variedades de milho em diferentes sistemas de cultivo, e a variedade Fortaleza obteve os maiores valores para produção de grãos, em ambientes com baixa e alta concentração de nitrogênio, confirmando o bom desempenho dessa variedade encontrado no presente estudo.

O peso dos grãos de milho é um fator determinante no rendimento de grãos, juntamente com o número de plantas por área. Entretanto, uma elevação no rendimento de grãos é atribuída às mudanças nas práticas culturais, ao melhoramento genético, as alterações climáticas, ao genótipo cultivado e à interação entre esses fatores (TOLENNAR e WU, 1999; LOPES et al., 2007).

Os elementos meteorológicos são os principais responsáveis por oscilações da produção de grãos em todo o Brasil. A cultura do milho necessita que os índices dos fatores climáticos atinjam níveis considerados ótimos para que o potencial genético de produção se expresse ao máximo (BERGAMASCHI e MATZENAUER, 2014).

O maior período de sensibilidade da cultura do milho em relação ao déficit hídrico, é a partir de aproximadamente uma semana antes do florescimento duas semanas após (GUIMARÃES e LANDAU, 2015). Considerando o experimento de inverno, que foi plantado em abril, a fase de formação de espigas se deu nos meses de junho/julho. Como pode-se observar na figura 7, esses meses foram os mais escassos em chuva, com cerca de 4 dias chuvosos por mês. Esses dados mostram que os poucos dias de chuva pode ter provocado um déficit hídrico que pode ter prejudicado a produção de grãos e espigas.

Em contrapartida, os experimentos 1 e 3, realizados na safra verão, tiveram o espigamento acontecendo entre fevereiro e março, meses que apresentaram uma média de 17 dias de chuva por mês. Essa disponibilidade hídrica influenciou

positivamente no crescimento da cultura, pois foi possível observar maiores médias com relação as características peso de grãos e peso de espigas, para estes experimentos.

Tabela 8 – Características peso de espigas, peso de grãos e número de plantas total nas dezesseis variedades de milho em estudo, nos três experimentos realizados

Variedades	Peso de espigas (g)			Peso de grãos (g)			Número de plantas total		
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3
F-NV	7211,66 A a	2355,00 B a	3168,33 B a	5248,33 A a	1370,00 B a	2908,33 B a	47,00 A a	42,66 A a	44,00 A abc
F-AC	7506,66 A a	1546,66 B a	3335,00 B a	5705,00 A a	715,00 C a	2655,00 B a	46,66 A a	42,66 A a	47,33 A a
F-MS-1	5666,66 A ab	1170,00 B a	2645,00 B a	3941,66 A ab	455,00 B a	3448,33 A a	44,33 A a	39,66 A a	45,00 A abc
F-M-1	7540,00 A a	1623,33 B a	2698,33 B a	5461,66 A a	746,66 B a	1951,66 B a	48,66 A a	34,00 B a	41,00 AB bc
F-M-2	6463,33 A a	1928,33 B a	2245,00 B a	4803,33 A ab	840,00 B a	2206,66 B a	45,66 A a	44,00 A a	46,33 A a
F- M-3	4450,00 A ab	1290,00 B a	2255,00 B a	3393,33 A ab	795,00 B a	2236,66 AB a	40,00 A a	42,66 A a	47,66 A a
F- M-4	5548,33 A ab	1156,66 B a	2626,66 B a	3840,00 A ab	426,66 B a	2461,66 A a	44,66 A a	40,66 A a	44,33 A abc
F -M-5	5061,66 A ab	1716,66 B a	2445,00 B a	3698,33 A ab	838,33 B a	1918,33 B a	37,66 A a	39,00 A a	40,33 A c
S-José	5880,00 A ab	2076,66 B a	2110,00 B a	4416,66 A b	955,00 B a	2526,66 B a	47,00 A a	45,66 A a	44,66 A abc
BR106	2000,00 A b	1810,00 A a	3868,33 A a	1541,66 AB ab	726,66 B a	2758,33 A a	30,66 B a	41,00 AB a	43,33 A abc
SM	6106,66 A ab	1160,00 B a	1878,33 B a	4413,33 A ab	580,00 B a	1918,33 B a	46,66 A a	31,66 B a	45,00 A abc
ELD	5543,33 A ab	1271,66 B a	3178,33 B a	3975,00 A ab	528,33 B a	3083,33 A a	46,33 A a	34,33 B a	48,00 A a
AL-01	7581,66 A a	1898,33 B a	3226,66 B a	5965,00 A a	925,00 B a	2533,33 B a	47,00 A a	44,66 A a	46,66 A a
AL-02	5445,00 A ab	1541,66 B a	2893,33 B a	4055,00 A ab	838,33 B a	2356,66 B a	47,66 A a	39,66 A a	48,00 A a
EM-201	6500,00 A a	1375,00 B a	2628,33 B a	4473,33 A ab	650,00 C a	2323,33 B a	47,66 A a	39,66 A a	45,33 A abc
IN-203	5893,33 A ab	1705,00 B a	2863,33 B a	4393,33 A ab	993,33 B a	2531,66 B a	46,33 A a	38,66 A a	45,66 A ab
Média	5899.893	1601.559	2754.06	4332.809	773.9563	2488.641	44.62063	40.036875	45.16375

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal não diferem estatisticamente entre si a nível de ambientes pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si a nível de variedades pelo teste de Tukey. ($p < 0,05$). Siglas das variedades de acordo com Tabela 1.

A densidade do plantio, ou stand, definida como o número de plantas por unidade de área, tem papel importante no rendimento de uma lavoura de milho, uma vez que pequenas variações na densidade têm grande influência no rendimento final da cultura (CRUZ et al., 2010). Além disso, também pode influenciar outras características da planta, como o número de espigas, e há maior susceptibilidade ao acamamento e ao quebramento. Para o caráter número de plantas total, observou-se médias significativamente diferentes entre os experimentos e entre as variedades, sendo que as médias desta característica foram diferentes apenas no terceiro experimento, indicando que tanto o ambiente quanto as variedades avaliadas apresentaram diferentes comportamentos, o que pode ter ocorrido devido as diferentes épocas de cultivo e as diferentes variedades utilizadas.

No presente estudo, as variedades F-M-1, BR106, SM e ELD apresentaram médias menores no segundo experimento para a característica número de plantas total. O período de crescimento e desenvolvimento do milho é limitado pela água, temperatura e radiação solar. A temperatura ideal para o desenvolvimento do milho, da emergência à floração, está compreendida entre 24° e 30°C (CRUZ et al., 2010). De acordo com a figura 8, no município de Lúna, no mês de abril e maio, período de semeadura e emergência do segundo experimento, as temperaturas variaram de 17° a 15°, continuando a diminuir nos próximos meses, influenciando a resposta das variedades em campo.

A qualidade de colmo é uma das mais importantes características do milho para produção e pode ser avaliada pela quantidade de plantas acamadas e quebradas (MIRANDA et al., 2003). O número de plantas acamadas apresentou diferença significativa no segundo e terceiro experimento para as variedades F-MS-1 e F-M-3 (Tabela 9). Analisando as variedades, no terceiro experimento, somente a variedade AL-02 proporcionou melhor desempenho, já que apresentou um menor número de plantas acamadas. Considerando a característica plantas quebradas, houve diferença significativa nas médias dos ambientes e das variedades. O terceiro experimento apresentou maior diferença significativa entre as variedades, como demonstrado pelo teste de comparação de médias de Tukey, e a variedade ELD apresentou a menor média, indicando maior resistência ao quebraamento. As variedades Fortaleza M-1, M-2 e M-3 e a variedade BR106 apresentaram as maiores médias para esta característica quando analisados os três experimentos, indicando que tais variedades apresentam menor resistência ao quebraamento de colmo do milho.

Na produção mundial de milho, são estimadas perdas anuais de 5 a 20%, em consequência do acamamento e do quebraamento (GOMES, 2010). Os efeitos desses caracteres sobre o rendimento de grãos dependem principalmente da variedade e da fase de desenvolvimento da cultura em que eles se manifestam (FEDERIZZI et al., 1994). No presente estudo podemos analisar que o acamamento de plantas e o quebraamento de colmo interage significativamente com as diferentes épocas de cultivo das variedades de milho, pois o experimento realizado no inverno apresentou as menores médias para estas características e também para a característica altura de plantas.

O número de espigas total variou entre os experimentos e entre as variedades apenas no primeiro experimento. Analisando a variação entre experimentos, podemos perceber que as variedades Fortaleza NV, M-4 e M-5 apresentaram boa estabilidade, não mostrando variação neste aspecto. No primeiro experimento, a variedade que se destacou com relação ao número de espigas foi a variedade Sol da Manhã. Essa variedade foi selecionada de forma participativa na Comunidade Sol da Manhã, em Seropédica – RJ. Resultados semelhantes foram encontrados por Machado et al., (2002) trabalhando com essa variedade, que se destacou por apresentar alta produtividade de grãos e espigas, sendo indicada para locais que apresentam estresses abióticos.

Nos outros dois experimentos, a variedade Sol da Manhã apresentou valores inferiores em relação a variedade Fortaleza. De acordo com Nunes (2006), a variedade SM apresenta grãos do tipo duro, enquanto a variedade Fortaleza apresenta grãos do tipo dentado, e as variedades de grãos dentados produzem mais do que as de grãos duros, mas, esses tipos de grãos são importantes para a culinária, agroindústria e alimentação animal. A comunidade Fortaleza identificou ainda, nessa variedade, potencial para uso em alguns produtos da culinária local, como a polenta feita com estes grãos.

Tabela 9 – Características número de plantas acamadas, número de plantas quebradas e número de espigas total nas dezesseis variedades de milho em estudo, nos três experimentos realizados

Variedades	Número de plantas acamadas			Número de plantas quebradas			Número de espigas total		
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3
F-NV	7,00 A a	1,66 A a	2,66 A ab	6,66 A a	0,00 B a	1,66 B abc	44,66 A abc	33,66 A a	35,00 A a
F-AC	1,00 A a	0,66 A a	3,00 A ab	5,33 A a	0,00 B a	2,66 AB ab	46,00 A abc	21,00 B a	35,00 A a
F-MS-1	7,33 A a	0,33 B a	2,66 AB ab	6,66 A a	0,33 B a	0,66 B bc	35,33 A cd	19,33 B a	32,00 AB a
F-M-1	1,66 A a	0,33 A a	5,33 A ab	3,00 A a	0,66 A a	2,00 A abc	46,00 A abc	19,66 B a	31,00 B a
F-M-2	5,66 A a	1,33 A a	2,66 A ab	4,33 A a	0,33 A a	1,66 A abc	42,00 A abcd	25,00 B a	34,66 AB a
F-M-3	12,00 A a	2,33 B a	3,33 B ab	4,66 A a	0,66 A a	2,00 A abc	33,00 A d	20,00 A a	27,67 A a
F-M-4	4,33 A a	0,33 A a	2,66 A ab	6,66 A a	0,66 B a	1,66 B abc	38,33 A abcd	18,33 B a	32,33 A a
F-M-5	3,33 A a	2,33 A a	2,66 A ab	5,66 A a	0,33 B a	1,00 B bc	36,33 A bcd	27,00 A a	27,33 A a
S-José	4,00 A a	1,66 A a	2,00 A ab	5,33 A a	0,66 B a	2,00 AB abc	41,66 A abcd	29,66 AB a	23,67 B a
BR106	0,00 A a	0,00 A a	3,33 A ab	1,00 A a	0,00 A a	3,33 A a	14,33 B e	26,66 AB a	37,67 A a
SM	0,33 A a	2,00 A a	2,66 A ab	6,00 A a	1,00 B a	1,00 B bc	47,33 A a	19,33 B a	23,00 B a
ELD	2,33 A a	3,00 A a	2,33 A ab	10,33 A a	1,00 B a	0,33 B c	41,00 A abcd	17,00 B a	34,33 A a
AL-01	5,00 A a	4,66 A a	3,33 A ab	7,33 A a	0,00 B a	3,33 AB a	46,33 A ab	26,00 B a	39,00 AB a
AL-02	4,00 A a	1,66 A a	0,66 A a	10,66 A a	0,66 B a	1,00 B bc	41,66 A abcd	21,33 B a	35,33 A a
EM-201	2,33 A a	1,66 A a	3,00 A ab	7,33 A a	1,00 B a	0,66 B bc	44,66 A abc	20,00 B a	26,67 B a
IN-203	2,33 A a	3,33 A a	3,00 A ab	5,33 A a	0,66 B a	2,00 AB abc	46,66 A ab	21,00 B a	37,67 A a
Médias	3.920625	1.710625	2.829375	6.016875	0.496875	1.759286	40.33	22.81	32.020625

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal não diferem estatisticamente entre si a nível de ambientes pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si a nível de variedades pelo teste de Tukey. ($p < 0,05$). Siglas das variedades de acordo com Tabela 1.

A característica número de espigas doentes apresentou diferença significativa, pelo teste de Tukey, apenas quando comparadas entre os ambientes (Tabela 10). As variedades F-M-1, ELD e IN-203 apresentaram as menores médias nos segundo e terceiro experimento, indicando bom desempenho em relação as outras variedades, com um menor número de espigas doentes apresentados.

Os caracteres altura de plantas (Tabela 10) e altura de espigas (Tabela 11) apresentaram comportamento similar na distinção de médias pelo teste de Tukey, e a variedade BR106 foi o que apresentou as menores médias. A variedade BR106 foi lançada em 1985, e desde então vem sendo geneticamente melhorada a cada ano através de ciclos de seleção, que proporcionam ganhos em uniformização de plantas, empalhamento de espigas e principalmente produtividade de grãos (NOCE, 2004). As variedades Fortaleza e São José foram melhoradas a partir da variedade BR106, e apresentaram maiores médias de altura de plantas e de espigas do que a variedade precursora delas. Estes resultados demonstram ganhos genéticos com relação as variedades melhoradas de forma participativa, que apresentam maior uniformização de crescimento do que a variedade BR106.

A característica florescimento masculino apresentou diferenças estatísticas apenas entre os ambientes. Já o florescimento feminino apresentou diferenças tanto a nível de variedades quanto a nível de ambiente. As menores médias de dias dos dois caracteres foram encontradas nos experimentos 1 e 3.

Tabela 10 - Características número de espigas doentes, umidade e altura de plantas nas dezesseis variedades de milho em estudo, nos três experimentos realizados

Variedades	Número de espigas doentes			Umidade (%)			Altura de plantas (m)		
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3
F-NV	5,00 A a	2,66 A a	3,00 A a	21,46 A cde	22,13 A a	21,76 A abc	2,38 A a	1,62 B a	2,55 A ab
F-AC	2,67 A a	1,00 A a	3,00 A a	21,16 A def	21,40 A a	21,20 A abc	2,10 AB ab	1,59 B a	2,30 A ab
F-MS-1	2,67 A a	0,66 A a	2,00 A a	23,23 A a	22,80 A a	22,80 A a	2,00 A ab	1,56 B a	2,48 A ab
F-M-1	6,33 A a	0,33 B a	3,00 AB a	21,67 A bcd	22,80 A a	21,66 A abc	2,47 A a	1,70 B a	2,42 A ab
F-M-2	3,00 A a	3,33 A a	3,67 A a	22,50 A abc	21,70 A a	22,40 A ab	2,36 A a	1,58 B a	2,29 A ab
F-M-3	2,33 A a	1,33 A a	2,00 A a	21,30 A cdef	21,93 A a	21,33 A abc	1,76 AB ab	1,48 B a	2,21 A ab
F-M-4	4,00 A a	2,00 A a	5,00 A a	22,93 A ab	23,13 A a	23,00 A a	2,24 A a	1,49 B a	2,22 A ab
F-M-5	3,33 A a	4,00 A a	2,33 A a	20,17 A fgh	20,57 A a	20,20 A abc	2,35 A a	1,46 B a	2,30 A ab
S-José	5,00 A a	1,67 A a	1,67 A a	21,67 A bcd	22,30 A a	21,63 A abc	2,44 A a	1,74 B a	2,46 A a
BR106	2,33 A a	6,00 A a	3,33 A a	19,20 A hi	21,06 A a	19,23 A bc	1,28 A b	1,71 A a	1,51 A b
SM	7,00 A a	2,33 A a	4,00 A a	18,07 B i	22,13 A a	18,16 B c	1,90 A ab	1,65 A a	1,89 A ab
ELD	11,33 A a	1,33 B a	5,00 B a	21,00 A defg	22,16 A a	21,03 A abc	1,95 AB ab	1,45 B a	2,06 A ab
AL-01	6,00 A a	2,33 A a	3,00 A a	22,17 A abcd	22,60 A a	22,13 A ab	2,17 A a	1,71 A a	2,15 A ab
AL-02	4,67 A a	1,33 A a	2,67 A a	20,30 B efgh	22,40 A a	21,00 AB abc	2,04 A ab	1,56 A a	2,05 A ab
EM-201	2,00 A a	2,00 A a	1,67 A a	19,40 B h	22,80 A a	19,56 B abc	2,11 A ab	1,39 B a	2,03 A ab
IN-203	7,67 A a	2,33 B a	1,33 B a	19,77 B gh	22,93 A a	19,73 B abc	1,93 AB ab	1,51 B a	2,05 A ab
Média	4.708125	2.164375	2.916875	21	22.17563	21.05125	2.0925	1.569375	2.185625

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal não diferem estatisticamente entre si a nível de ambientes pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si a nível de variedades pelo teste de Tukey. ($p < 0,05$). Siglas das variedades de acordo com Tabela 1.

Segundo Barbano et al. (2001), a temperatura influencia os processos fisiológicos dos vegetais, interferindo em cada subperíodo do ciclo das culturas.

A temperatura do ar é a principal causa de variação no número de dias do ciclo vegetativo do milho (BARBANO, 2003). Assim, a diferença de temperatura entre os três experimentos pode ter sido de grande influência na floração das variedades de milho em estudo, visto que o experimento que apresentou maiores médias (Exp.2) foi realizado em condições de inverno.

Analisando os três experimentos, as variedades SM apresentaram as menores médias de florescimento feminino, indicando que essa variedade possui ciclo de florescimento menor do que as outras.

De acordo com o Incaper (2007), a variedade IN-203 apresenta uma média de 55 dias para o florescimento feminino. No presente trabalho, esta variedade apresentou uma média de 76 dias para o florescimento nos experimentos realizados na safra verão (Exp.1 e Exp.3). Segundo Nunes (2006), em cultivos em sistema orgânico, a liberação de nutrientes controlada pela biomassa bacteriana se dá de forma lenta e gradativa, contribuindo assim, para o prolongamento desse período de florescimento, e conseqüentemente, para o ciclo de vida das plantas, como aconteceu no presente trabalho.

Tabela 11 - Características altura de espigas, florescimento masculino e florescimento feminino nas dezesseis variedades de milho em estudo, nos três experimentos realizados

Variedades	Altura de espigas (m)			Florescimento Masculino (dias)			Florescimento Feminino (dias)		
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3
F-NV	1,42 A a	0,62 B a	1,45 A a	78 B a	90 A a	78 B a	82 B abc	92 A ab	81 B a
F-AC	1,22 A ab	0,52 B a	1,29 A a	76 B a	86 A a	75 B a	79 B abc	89 A ab	81 B a
F-MS-1	1,14 A ab	0,47 B a	1,17 A a	82 A a	85 A a	80 A a	85 B ab	91 A ab	83 B a
F-M-1	1,48 A a	0,77 B a	1,43 A a	76 B a	86 A a	77 Ab a	80 B abc	91 A ab	81 B a
F-M-2	1,36 A a	0,72 B a	1,25 A a	78 A a	82 A a	78 A a	83 B abc	93 A ab	82 B a
F- M-3	0,96 A ab	0,70 A a	1,03 A a	80 A a	87 A a	80 A a	84 B ab	94 A ab	84 B a
F- M-4	1,20 A ab	0,64 B a	1,40 A a	81 A a	84 A a	80 A a	85 B a	95 A a	85 B a
F -M-5	1,35 A ab	0,52 B a	1,33 A a	77 A a	77 A a	77 A a	84 B ab	94 A ab	82 B a
S-José	1,39 A a	0,63 B a	1,36 A a	77 A a	81 A a	78 A a	80 B abc	90 A ab	81 B a
BR106	0,74 A b	0,65 A a	0,81 A a	73 B a	83 A a	73 Ab a	78 B abc	89 A ab	79 B a
SM	1,06 A ab	0,60 B a	1,06 A a	72 A a	75 A a	74 A a	69 B d	73 AB c	73 A b
ELD	1,09 A ab	0,50 B a	1,13 A a	74 B a	84 A a	74 B a	77 B bc	88 A ab	78 B a
AL-01	1,25 A ab	0,74 B a	1,43 A a	77 B a	87 A a	77 B a	77 B bc	88 A ab	78 B a
AL-02	1,16 A ab	0,61 B a	1,20 A a	72 A a	79 A a	72 A a	78 B abc	88 A ab	78 B a
EM-201	1,22 A ab	0,59 B a	1,20 A a	75 A a	79 A a	76 A a	79 B abc	89 A ab	79 B a
IN-203	1,11 A ab	0,55 B a	1,31 A a	70 A a	77 A a	73 A a	75 B cd	86,1 A b	76 B b
Médias	1.196875	0.614375	1.240625	76.125	82.625	76.375	79.75	89.38125	80.0625

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal não diferem estatisticamente entre si a nível de ambientes pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si a nível de variedades pelo teste de Tukey. ($p < 0,05$). Siglas das variedades de acordo com Tabela 1.

5.4.2 Herdabilidade

De acordo com Hanson (1963), a herdabilidade no sentido restrito refere-se à fração das diferenças fenotípicas entre os pais que se espera recuperar entre os descendentes. Assim, esta foi utilizada neste trabalho, pois a herdabilidade no sentido amplo considera a variabilidade genética total, que é transmitida apenas em parte aos descendentes.

Os valores estimados em relação aos coeficientes de herdabilidade para todos os caracteres apresentaram grande variação, de 0,22 a 0,97 no experimento 1, -0,54 a 0,89 no experimento 2 e 0,21 a 0,97 no experimento 3 (Tabela 12), e de 0,20 a 0,88 na análise conjunta. A herdabilidade no sentido restrito indica que parte da variabilidade presente é devido a genética, assim, a seleção praticada em caracteres que apresentam média e alta herdabilidade podem levar a um aumento da variância genética aditiva. Analisando a média dos coeficientes de herdabilidade das características estudadas, o florescimento feminino, umidade e altura de plantas apresentaram as maiores médias (0,88; 0,88 e 0,71, respectivamente), e as características número de plantas quebradas número de plantas acamadas, e peso de espigas apresentaram as menores médias (0,20; 0,29 e 0,37, respectivamente).

Estimativas de herdabilidade referentes as características de plantas são importantes por terem relação com a seleção, e quanto maior o valor estimado desse parâmetro, maior será a chance de sucesso com a seleção de características (CUNHA et al., 2016). Valores de médios a altos para coeficiente de herdabilidade estão associados a uma maior variabilidade genética e possibilidade de selecionar com sucesso variedades de milho com boas características agronômicas, além de apresentarem menor influência do ambiente (COIMBRA et al., 2010). Neste sentido, as características florescimento feminino, umidade e altura de plantas, que apresentaram alta magnitude de herdabilidade, podem ser utilizadas para seleção indireta.

Tabela 12 – Coeficiente de herdabilidade para as características estudadas

	Herdabilidade											
	PE	PG	NPT	NPA	NPQ	NET	NED	UM	ALP	ALE	FLM	FLF
Exp. 1	0,653	0,615	0,366	0,228	0,316	0,936	0,458	0,970	0,729	0,603	0,442	0,880
Exp. 2	0,120	0,218	0,210	-0,178	-0,239	0,179	0,226	-0,541	-0,132	0,133	0,410	0,899
Exp. 3	0,229	0,655	0,806	0,473	0,814	0,214	0,460	0,973	0,685	0,400	0,573	0,501
AC	0,374	0,457	0,483	0,295	0,205	0,473	0,450	0,883	0,712	0,615	0,422	0,883

Exp. 1: Experimento 1 (safra verão); Exp. 2: Experimento 2 (safra inverno); Exp. 3 Experimento 3 (safra verão); AC: Análise conjunta. PE: peso de espigas; PG: peso grãos; NPT: número de plantas total; NPA: número de plantas acamadas; NPQ: número de plantas quebradas; NET: número de espigas total; NED: número de espigas doentes; UM: umidade; ALP: altura de plantas; ALE: altura de espigas; FLM: florescimento masculino; FLF: florescimento feminino, avaliadas nas dezesseis variedades de milho.

5.4.3 Correlação genotípicas e fenotípicas

As correlações medem o grau de associação entre duas variáveis (STEEL e TOORIE, 1960; KEMPTHORNE, 1973); uma correlação entre dois caracteres permite a seleção para uma característica de interesse, por meio de outra característica correlacionada e de mais fácil mensuração (CARVALHO, 2004).

Foi possível observar 44 correlações fenotípicas significativas, com valores variando de 0,49 a 0,94 e 54 correlações genotípicas significativas, com valores variando de 0,53 a 0,97, indicando alto grau de associação. Em 72,2% das correlações fenotípicas e 74% das correlações genotípicas significativas, os valores das estimativas foram superiores a 0,60, indicando forte correlação de acordo com Carvalho et al. (2004).

A característica número de espigas doentes revelou correlação negativa com as características peso de grãos, número de plantas total, número de plantas acamadas, umidade, altura de plantas, e altura de espigas, indicando que um maior número de espigas doentes é inversamente proporcional estas características supracitadas. A correlação negativa da característica número de espigas doentes com número de plantas acamadas pode ter ocorrido principalmente devido ao fato de que plantas que apresentam espigas doentes possuem pouca probabilidade de crescimento, e logo, de acamamento, pois

quanto maiores as plantas, maior será a taxa de acamamento, devido ao peso do colmo exercido sobre a planta. Essa correlação entre acamamento e altura de plantas pode ser observada na figura 9.

A característica peso de grãos apresentou correlação positiva com peso de espigas, número de plantas total, número de espigas total, altura de plantas e altura de espigas. Quando analisamos uma correlação positiva, podemos dizer que o caráter em estudo influencia positivamente os caracteres correlacionados, indicando que a característica peso de grãos tem relação com o bom desempenho da cultura no campo, que apresenta elevado peso de espigas, número de plantas e de espigas, assim como altura de plantas e espigas. Tais resultados indicam que a seleção indireta para uma dessas características acarretará em maiores alterações na outra.

Variáveis correlacionadas positivamente indicam que ambas são beneficiadas ou prejudicadas pelas mesmas causas de variações ambientais, e correlações com valores negativos indicam que o ambiente favorece um caráter em detrimento do outro. As correlações entre duas variáveis têm duas causas: a genética, resultante da ligação gênica ou do pleiotropismo, e a causa ambiental. O ambiente torna-se causa de correlação quando dois caracteres são influenciados pelas mesmas diferenças de condições ambientais (FALCONER, 1981; SILVA et al., 2016).

Analisando a correlação fenotípica, podemos verificar que a característica peso de espigas apresentou correlação positiva com as variáveis peso de grãos, número de plantas total, número de espigas total, altura de plantas e altura de espigas (Figura 7). As variáveis que se correlacionam fenotipicamente apresentam valor prático de seleção, visto que possuem alto componente genético em suas expressões fenotípicas, resultando na obtenção de ganhos via seleção visual (ANDRADE et al., 2010). Logo, podemos concluir que quando o caráter peso de espigas aumenta, os caracteres relacionados também irão aumentar.

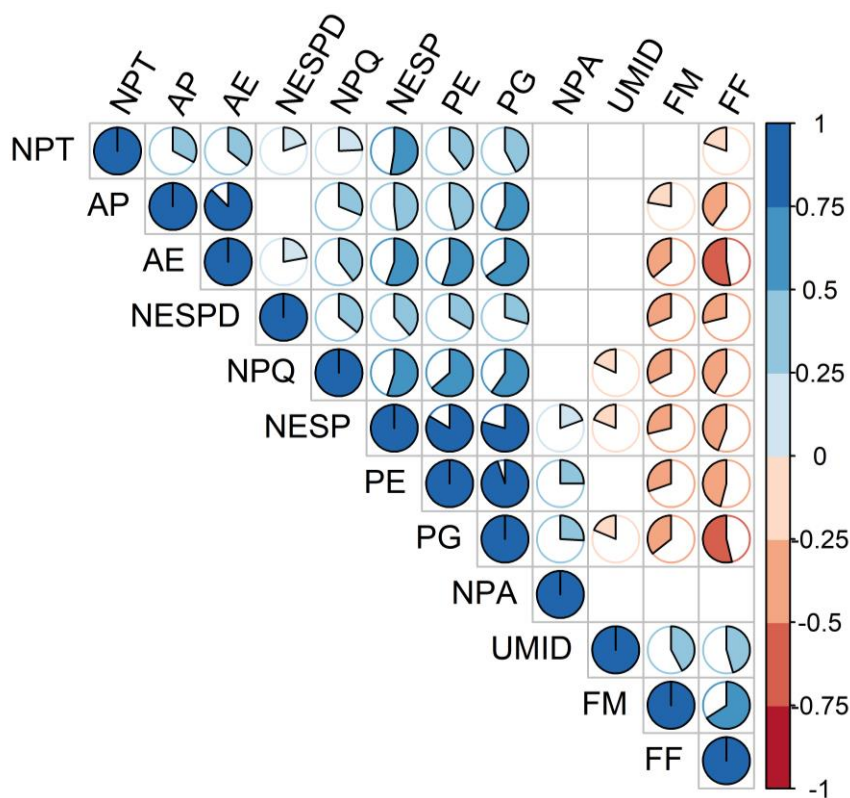


Figura 7 -Correlações genotípicas (vermelho – vertical) e fenotípicas (azul – diagonal) das doze características avaliadas nas dezesseis variedades de milho. NPT: número de plantas total; AP: altura de plantas; AE: altura de espigas; NESPD: número de espigas doentes; NPQ: número de plantas quebradas; NESP: número de espigas; PE: peso de espigas; PG: peso de grãos; NPA: número de plantas acamadas; UMD: umidade; FM: florescimento masculino; FF: florescimento feminino.

A característica número de plantas total apresentou correlação fenotípica positiva com as características peso de espigas, peso de grãos, número de plantas quebradas, número de espigas total e umidade, indicando que a seleção de variedades com boa germinação e manutenção em campo resultará em plantas com melhor desempenho em peso de espigas, peso de grãos, número de espigas e umidade, porém também poderá levar a um maior número de plantas quebradas.

O caráter altura de plantas apresentou correlação fenotípica positiva com os caracteres peso de espigas, peso de grãos, número de espigas total e altura de espigas, indicando que plantas mais altas resultarão em maior altura de espigas e maior produtividade relacionada ao peso de grãos, peso de espigas e número de espigas total. A altura das plantas é uma característica favorável e fundamental quando se busca variedades com maior produção, pois esta exerce

elevada contribuição na produção de grãos (LEITE et al., 2016), via peso de grãos e espigas e número de espigas, como encontrado no presente trabalho.

A característica número de espigas total apresentou correlações fenotípicas positivas com peso de espigas, peso de grãos, número de plantas total, altura de plantas e altura de espigas. O caráter altura de espigas apresentou correlação positiva com as características peso de espigas, peso de grãos, número de espigas total, umidade, altura de plantas, florescimento masculino e feminino. Resultados semelhantes foram encontrados por Souza et al. 2008, e indicaram que, assim como no presente estudo, fazendo a seleção para plantas mais prolíferas, ou seja, que produzem mais espigas, se obterá maior produção de grãos na variedade em estudo.

As correlações genotípicas em geral foram maiores do que as correlações fenotípicas, demonstrando que fatores genéticos contribuíram mais do que os fatores ambientais, para as correlações. Oliveira et al., (2011), encontraram resultados similares, e indicam que as correlações encontradas são indicadores que possibilitam a elaboração de estratégias de seleção indireta para caracteres econômica, assim como no presente estudo.

5.4.4. Distância generalizada de Mahalanobis e Importância relativa de caracteres

As estimativas das distâncias generalizadas de Mahalanobis (D_2) indicaram as variedades mais distantes sendo F-M-3 e AI-02 e as variedades mais similares geneticamente sendo F-M-2 e São José. A dissimilaridade entre as variedades F-M-4 e AI-02 pode ser explicada pelo melhoramento que deu origem a essas duas variedades. A variedade Fortaleza é fruto de melhoramento a partir da variedade BR106, já a variedade AI-02 é fruto de melhoramento a partir da variedade EM-201, mostrando que diferentes formas de melhoramento geraram diferentes variedades, e que estas possuem variabilidade genética entre si.

A similaridade entre as variedades F-M-2 e São José também pode ser explicada pela origem das variedades, uma vez que as variedades Fortaleza e a variedade São José foram melhoradas a partir da mesma variedade comercial, a BR106. Apesar de estarem sendo cultivadas em locais diferentes, ainda apresentam similaridade genética devido a sua procedência.

O resultado do agrupamento das dezesseis variedades com base na distância generalizada de Mahalanobis pelo método hierárquico UPGMA é apresentado na figura 8.

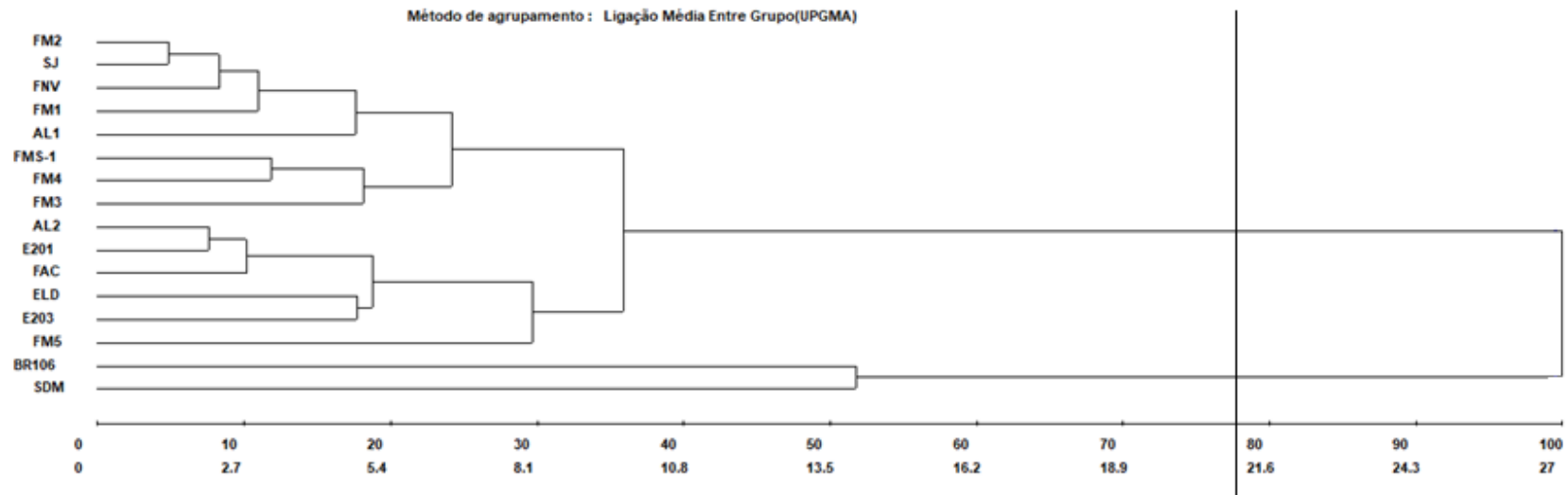


Figura 8 - Dendrograma resultante da análise de dezesseis variedades de milho obtido pelo método de agrupamento UPGMA, com base na distância generalizada de Mahalanobis.

Através do agrupamento de Tocher, com base na distância generalizada de Mahalanobis, foi possível constatar a formação de três grupos distintos (Tabela 14). O Grupo 1 apresenta 12 variedades geneticamente similares (75% do total de variedades), incluindo a variedade Fortaleza cultivada em diferentes locais, e também as variedades Sol Da Manhã, Eldorado, São José e Imperador – ES – 204. De acordo com os resultados desse agrupamento, os possíveis cruzamentos dessas variedades entre si terão menor possibilidade de obtenção de variedades superiores, devido à proximidade genética entre eles.

As 3 variedades restantes (25%), foram distribuídas em dois grupos distintos (Grupo 2 e 3). O Grupo 2 ficou constituído pelas variedades AI-01 e IN-203, e o Grupo 3 pela variedade AI-02, indicando que houve uma diferenciação entre as variedades Aliança cultivados em diferentes locais durante o tempo. A variedade IN-203 vem sendo melhorada no estado do Espírito Santo pelo INCAPER há mais de duas décadas. De acordo com o Instituto, essa variedade apresenta alta produtividade, boa estabilidade de produção, e sua cor avermelhada leva à produção de alimentos mais apreciados pelos consumidores (FERRÃO et al., 2007). Tais resultados são relevantes pois indica que essa variedade apresenta potencial para cruzamentos futuros.

Tabela 13 - Agrupamento de Tocher de dezesseis variedades de milho com base na distância generalizada de Mahalanobis

Grupo	Variedades
I	Fortaleza (NV, AC, MS-1, M-1, M-2, M-3, M-4, M-5), São José, Eldorado, BR10
II	Aliança 01 e Incaper 203
III	Aliança 02

Variedades numerados de acordo com a tabela 1.

Na tabela 15 verifica-se a contribuição relativa dos caracteres avaliados para a diversidade (S_j) e os seus valores percentuais, que constituem a medida da importância relativa da variável j para o estudo da diversidade genética. As características com maiores contribuições relativas para a avaliação da diversidade dos acessos no presente trabalho foram, segundo o método de Singh

(1981): florescimento feminino, umidade e altura de plantas (Tabela 15). As características com menores valores de importância relativa foram: peso de espigas, número de plantas quebradas e número de plantas total. Comparando tais resultados com o teste de Tukey, percebemos que as características que apresentaram maior importância relativa foram as que apresentaram maiores números médias com diferença significativa.

Tabela 14 – Contribuição relativa dos caracteres para a diversidade baseada na distância generalizada de Mahalanobis

VARIÁVEL	Sj	Valor em %
Peso espigas	0,0	0,0
Peso grãos	96,044428	6,4855
Número plantas total	41,037351	2,7711
Número de plantas acamadas	50,814863	3,4313
Número de plantas quebradas	30,447831	2,056
Número de espigas total	64,266067	4,3396
Número de espigas doentes	62,273214	4,205
Umidade	321,991541	21,7427
Altura de plantas	153,927814	10,3941
Altura de espigas	56,92434	3,8439
Florescimento masculino	74,284238	5,0161
Florescimento feminino	528,905761	35,7147

No melhoramento genético, estudos de diversidade genética tem importância fundamental para a escolha de variedades a serem utilizados como genitores, uma vez que a distância genética entre os parentais é um indicativo da expressão heterótica nas progênies (CRUZ et al., 1994; MARIM et al., 2009), o que aumenta a possibilidade de indivíduos superiores nas populações segregantes. Esses autores afirmam também que, além da divergência entre os progenitores, é fundamental considerar o mérito individual de cada característica que se tem interesse em melhorar.

Assim, para se obter ganhos com essa cultura, podemos recomendar cruzamentos entre os grupos formados, a fim de alcançar a heterose nessas variedades.

5.4.5 Análise de componentes principais

As análises de componentes principais mostraram que os dois primeiros componentes principais permitiram explicar 60,01% da variância contida nas variáveis originais (Figura 9). O componente principal 1 com 54,1% (componente com a maior retenção da variabilidade original) e o componente principal 2 contribuíram com 15,0% (componente com melhor retenção da variabilidade excluindo a variabilidade retida no primeiro componente), respectivamente, da variância remanescente (Figura 11). A análise de componentes principais permite condensar a maior quantidade de informação original contida em p variáveis ($p=12$, neste estudo) em duas variáveis latentes ortogonais denominadas componentes principais, que são combinações lineares das variáveis originais criadas com os dois maiores autovalores da matriz de covariância dos dados (HAIR, 2005). Desta forma, o conjunto inicial de doze variáveis passou a ser caracterizado por duas novas variáveis latentes, o que possibilitou sua localização em figuras bidimensionais (ordenação das variedades por componentes principais).

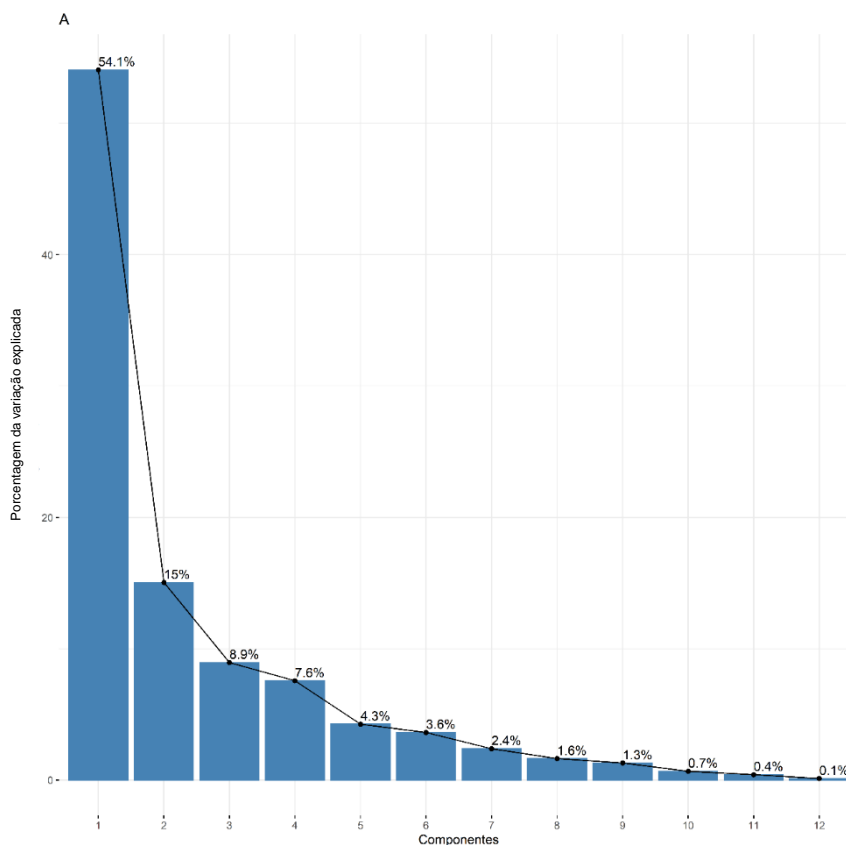


Figura 9 - Componentes principais das características agrônômicas nas variedades de milho

A representação gráfica e a correlação das variáveis nos componentes principais (Figura 10) permitiram caracterizar as variáveis que mais discriminaram na formação dos grupos I, II e III, mostrados na Figura 10.

As características número de espigas doentes, número de plantas quebradas, número de espigas total, peso de grãos, peso de espigas, altura de espigas, número de plantas total, altura de plantas e número de plantas acamadas são responsáveis pela discriminação dos grupos I e II, localizados a esquerda de CP1 (componente principal 1), enquanto as variáveis umidade, florescimento masculino e florescimento feminino são responsáveis pela discriminação do grupo III, localizado a direita.

Assim, os grupos I e II são caracterizados por plantas com maiores valores das características: número de plantas total, número de espigas, peso de grãos, peso de espigas, altura de plantas e espigas, mas também com um maior número de espigas doentes, plantas acamadas e plantas quebradas, corroborando com as análises de correlação genotípica e fenotípica, enquanto o grupo três foi

caracterizado por plantas com maior teor de umidade e maior número de dias para florescimento masculino e feminino.

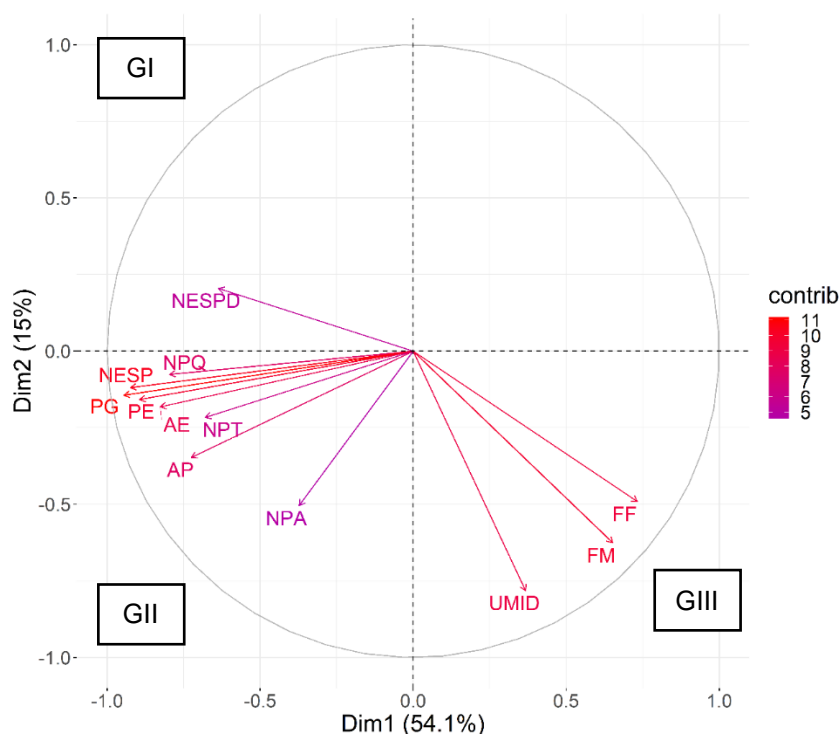


Figura 10 - Dispersão (gráfico biplot) das características analisadas em dezesseis variedades de milho
 AE: altura de espigas; AP: altura de plantas; FF: florescimento feminino; FM: florescimento masculino; NESP: número de espigas; NESPĐ: número de espigas doentes; NPA: número de plantas acamadas; NPQ: número de plantas quebradas; NPT: número de plantas total; PE: peso de espigas; PG: peso de grãos; UMD: umidade.

5.4.6 Índices de seleção

Para o índice clássico Smith e Hazel (SM) e para o índice livre de pesos e parâmetros (PP), os valores de ganhos genéticos foi igual para as características NPA, NPQ, NET, NED, UMD e ALP (Tabela 16). Já o índice Mulamba e Mock (MM) apresentou valores de ganhos genéticos iguais apenas para as características NPA, NPQ e NET. As características NPQ e NET apresentaram ganhos nulos para todos os índices analisados.

O índice clássico de SM apresentou maiores ganhos genéticos para as características FLM (176,56), ALE (159,99) e FLF (79,29). As mesmas características apresentaram maiores ganhos genéticos no índice de “soma de

ranks”, porém em ordem de grandeza diferente, sendo FLF (94,07), FLM (28,24) e ALE (23,95). Com relação ao índice PP, foi observado ganhos totais negativos com valores iguais a -137,18, e as características que apresentaram maiores valores de ganhos genéticos foram FLF (139,21) e PG (12,82).

O primeiro índice de seleção foi apresentado por Smith (1936) e Hazel (1943), conhecido como índice clássico, e posteriormente, sofreu modificações, também baseada na obtenção de combinações lineares dos caracteres. O índice de Mulamba e Mock (1978) hierarquiza as variedades, inicialmente, para cada característica, por meio de atribuição de valores absolutos mais elevados aqueles de melhor desempenho. Por fim, os valores atribuídos a cada característica são somados, obtendo-se a “soma de ranks”, que assinala a classificação das variedades (RANGEL et al., 2011).

O Índice livre de pesos e parâmetros não requer a obtenção de estimativas de parâmetros genéticos nem supõe a existência de um valor genotípico populacional. Isso permitiu que fosse sugerida sua aplicação com a simples finalidade de classificar as variedades com respeito a diversos caracteres, simultaneamente, como é o caso da seleção de cultivares (GRANATE et al., 2002).

Os ganhos mais expressivos para características de interesse econômico relevantes a produtividade, como peso de grãos e peso de espigas foram encontrados utilizando o índice de Mulamba e Mock (1978) e índice de Pesos e Parâmetros de Elston (1963). Os ganhos negativos com relação à altura de plantas podem indicar que é necessário trabalhar na redução da altura das plantas, quando o objetivo for produção, a fim de diminuir outras características que podem influenciar negativamente na produção. Resultados semelhantes foram encontrados por Reis et al., (2017), e relataram essa mesma necessidade de diminuição do porte das plantas, devido aos fortes ventos que ocorrem na região de estudo, levando também ao acamamento e ao quebramento do colmo, influenciando na produtividade.

A utilização de índices de seleção permitiu a predição de ganhos nas duas principais características relacionadas a produtividade (PG e PE), sendo que a seleção de variedades superiores, realizada com base no índice de Mulamba e Mock (1978) e de Elston (1963), produziu maiores ganhos preditos, de 2,78 e 5,41% para peso de espigas, e 6,88 e 12,82 para peso de grãos, respectivamente.

Um cultivar /variedade elite necessita combinar diferentes características de interesse agrônômico, e uma estratégia adotada para a seleção de variedades superiores tem sido a aplicação de índices de seleção, que constituem um caráter adicional, estabelecido pela combinação linear de vários caracteres, o que possibilita a seleção simultânea com maior precisão (SILVA et al., 2020).

Tabela 15 - Estimativas de ganhos com a seleção (GS%) obtidos para doze caracteres pelo índice clássico proposto por Smith(1936) e Hazel(1943) (SH), índice de soma de "ranks" de Mulamba e Mock (1978) (MM) e índice livre de pesos e parâmetros (Elston, 1963).

Índices	Ganho de Seleção (%)												Total
	PE	PG	NPT	NPA	NPQ	NET	NED	UM	ALP	ALE	FLM	FLF	
SH	0,96	2,42	-7,15	-3,76	0,0	0,0	-9,95	-79,55	-62,87	159,99	176,56	79,29	255,94
MM	2,78	6,88	6,78	-3,76	0,0	0,0	2,18	17,12	-45,95	23,95	28,24	94,07	132,29
PP	5,41	12,82	7,86	-3,75	0,0	0,0	-9,95	-79,45	-62,82	-72,8	-75,2	139,21	-137,18

Características PE: peso de espigas; PG: peso grãos; NPT: número de plantas total; NPA: número de plantas acamadas; NPQ: número de plantas quebradas; NET: número de espigas total; NED: número de espigas doentes; UM: umidade; ALP: altura de plantas; ALE: altura de espigas; FLM: florescimento masculino; FLF: florescimento feminino

Foram utilizados índices diversificados para a seleção combinada de características com maior relevância nas variedades de milho, logo, por esses índices, pode ser possível fazer a seleção antecipada de variedades de milho com potencial para utilização em programas de melhoramento. No presente estudo, o índice mais eficiente na seleção simultânea de características nas variedades de milho foi o índice MM, ao proporcionar um ganho relativo de seleção total, com a maioria das características apresentando ganhos desejáveis positivos, uma distribuição mais uniforme de ganho entre as características avaliadas, e ganho satisfatório de peso de grãos.

5.5 Conclusões

Existe variabilidade entre as variedades locais, assim como entre as variedades convencionais. Nas análises das características morfoagronômicas, a variedade Fortaleza cultivada em diferentes locais apresentou médias superiores considerando as características peso de grãos, peso de espigas, número de espigas, altura de plantas e espigas e apresentaram menores médias com relação ao número de espigas doentes. Além disso, a variedade Sol da Manhã foi superior em número de espigas e na análise da umidade em ocasião de colheita, e a variedade Eldorado apresentou bons resultados quando avaliados o número de espigas doentes, plantas acamadas e plantas quebradas, apresentando bom desempenho em campo.

6. Conclusões gerais

Fazendo um estudo comparativo entre as diversidades genéticas e fenotípicas, foi possível concluir que, analisando os dois dendogramas, as variedades F-NV e ELD apresentaram-se divergentes, e também bons resultados nas características morfoagronômicas analisadas, o que indica que podem ser utilizados para futuros cruzamentos, a fim de visar ganhos com relação à produtividade.

As variedades apresentaram diferentes comportamentos nos três ambientes analisados, sendo que o experimento realizado na safra inverno apresentou menores médias para as principais características analisadas, indicando que o período Maio-Setembro não foi favorável para o desenvolvimento da cultura na região estudada.

;

Referências

ALVES, W. M.; FARONI, L. R. D.; QUEIROZ, D. M.; CORREA, P. C.; GALVAO, J. C. C. Qualidade de grãos de milho em função de colheita e temperatura de secagem. Rev. Bras. De Eng. Agr, v.5, n.3, p.469-474, 2001.

ANDRADE, F. A.; ROCHA, M. M.; GOMES, R. L. F.; FEIRE FILHO, F. R.; RAMOS, S. R. R. Estimativas de parâmetros genéticos em variedades de feijão-caupi avaliados para feijão fresco. Revista Ciência Agronômica, v. 41, n. 2, p. 253-258, 2010.

BARBANO, M. T.; SAWAZAKI, E. BRUNINI, O. GALLO, P. B.; PAULO, E. M. Temperatura-base e acúmulo térmico no subperíodo semeadura-florescimento masculino em cultivares de milho no Estado de São Paulo. Revista Brasileira de Agrometeorologia, Santa Maria, v. 9, n. 2, p. 261-268, 2001.

BARBANO, M. T.; SAWAZAKI, E. BRUNINI, O. GALLO, P. B.; PAULO, E. M. Temperatura base e soma térmica para cultivares de milho pipoca (*Zea mays. L*) no subperíodo de emergência-florescimento masculino. Rev. Bras. De Agrometeorologia, Santa Maria, v. 11, n. 1, p. 79-84, 2003.

BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. O milho e o clima. Porto Alegre: Emater/RS-Ascar, 84 p. il, 2014.

BOLSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. American Journal of Human Genetics, v.32, p.314-331, 1980.

CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; SOUZA, A. SILVA; D. A., BARRETO; T.P.; GARBUGLIO, D.D.; FERREIRA, J.M. Avaliação de cultivares de milho crioulo em sistema de baixo nível tecnológico. Acta Scientiarum Agronomy, Maringá, 32: 229-233. 2010.

CARVALHO, F.I.F. DE; LORENCETTI, C.; BENIN, G. Estimativas e implicações da correlação no melhoramento vegetal. Pelotas: Ed. Universitária da UFPel, 142 p, 2004.

COIMBRA, R. R.; MIRANDA, G. V.; CRUZ, C. D.; MELO, A. V.; ECKERT, F. R. Caracterização e divergência de populações de milho resgatadas do Sudeste de Minas Gerais. Revista Ciência Agronômica, v.41, n.1, p.159-166, 2010.

CRUZ, C. D.; CARVALHO, S. P.; VENCOVSKY, R. Estudos sobre divergência genética: fatores que afetam a predição do comportamento de híbridos. Revista Ceres, v.41, p.179-182, 1994.

CRUZ, J. C.; FILHO, I. A. P.; ALVARENGA, R. C.; NETO, M. M. G.; VIANA, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F.; MATRANGOLO, W. J. R.; FILHO, M. R. A. Cultivo do milho.

Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de produção, 2. Versão eletrônica – 6ª edição. 2010.

CUNHA, F. L. Sementes da paixão e as políticas públicas de distribuição de sementes na Paraíba. Seropédica, RJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 184 f. Dissertação (mestrado). 2013

CUNHA, L. C.; COELHO, A. F.; TEIXEIRA, T. D.; CARDOSO, D. L. Herdabilidade de características relacionadas as sementes de milho crioulo. 7º seminário de Iniciação Científica. 17 e 18 nov. 2016.

CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. Acta Scientiarum. v.38, n.4, p.547-552, 2016

EICHOLZ, E. D.; PEREIRA, L. R. Produtividade de variedades de milho de polinização aberta no RS. Anais do Congresso Nacional de Milho e Sorgo: Milho e Sorgo as inovações mercados e segurança Alimentar, Bento Gonçalves, Brasil, 17. 2016.

ELSTON, R. C. A weight-free index for the purpose of ranking or selection with respect to several traits at a time. Biometrics, v.19, p.85-97,1963.

EMYGDIO, B. M.; SILVA, S. D. DOS A. E.; PORTO, M. P.; TEIXEIRA, M. C. C.; OLIVEIRA, A. C. B. De. Fenologia e características agronômicas de variedades de milho recomendadas para o RS. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica, 74: 234. 2008.

FALCONER, D. S. Introdução a genética quantitativa. Tradução de Silva, M. A. e Silva, J. C. Universidade Federal de Viçosa: Imprensa universitária, 1981.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. Introduction to quantitative genetics. 4.ed. England: Longman, 463p. 1996.

FEDERIZZI, L.C.; FANTINI, A.C.; CARVALHO, F.I.F. de. Efeito do acamamento artificial em alguns variedades de trigo de porte alto e baixo. Ciência Rural, v.24, p.465-469, 1994.

GUIMARÃES, D. R.; LANDAU, E. C. Monitoramento da agricultura irrigada em tempo real. João Pessoa, PB, 2015.

GOMES, F. P. Curso de estatística experimental. São Paulo: USP/ESALQ, 467p, 1985.

GOMES, L. S.; BRANDAO, A. M.; BRITO, C. H.; MORAES, D. F.; LOPES, M. T. G. Resistencia ao acamamento de plantas e ao quebramento de colmo em milho tropical. Pesq. Agropec. Bras. Brasília, v.45, n.2, p.140-145, 2010.

GONÇALVES, G.M.; VIANA, A.P.; REIS, L.S.; NETO, F.V.B.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; REIS, L.S. Correlações fenotípicas e genético-aditivas em maracujá-amarelo pelo delineamento I. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, p. 1413-1418, 2008.

HAIR, J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. *Análise multivariada dos dados*. Porto Alegre, Bookman, 2005.

HANSON, W.D. Heritability. In: HANSON, W.D.; ROBINSON, H.F. (Ed.). *Statistical genetics and plant breeding*. Washington: National Academy of Science; National Research Council, p.125-139, 1963.

HAZEL, L. N. The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics* 28: 476-490. 1943.

IPIGRI. *Descritores para o milho*. International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico City/ International Plant Genetic Resources Institute. Rome, 2000. 46 p.

KEMPTHORNE, O. 'Probability, Statistics, and the Knowledge Business', in *Foundations of Statistical Inference*, V. P. Godambe and D. A. Sprott, (eds.), Holt, Rinehart and Winston of Canada, Toronto, 1973.

LEITE, W. S.; PAVAN, B. E.; FILHO, C. H. A. M.; NETO, F. A.; OLIVEIRA, C. B.; FEITOSA, F. S. Estimativas de parâmetros genéticos, correlações e índices de seleção para seis caracteres agrônômicos em linhagens F8 de soja. *Comunicata Scientiae*, n.7, v.3, p.302-310, 2-16.

LOPES, S. J.; LUCIO, A. D.; STORCK, L.; DAMO, H. P.; BRUM, B.; SANTOS, V. J. Relação de causa e efeito em espigas de milho relacionados aos tipos de híbridos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.37, n.6, p.1536-1542, 2007.

MACHADO, A. T.; MACHADO, C. T. T.; COELHO, C. H. M.; NUNES, J. A. Manejo da diversidade genética do milho e melhoramento participativo em comunidades agrícolas nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo. Planaltina, DF, Embrapa Cerrados, 2002.

MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C. *Cultivo do Milho*. BRASIL Milho e Sorgo. Sete Lagoas: Sistema de Produção, 8ª edição, out,2011.

MARCHÃO, R. L.; BRASIL, E. M.; XIMENES, P. A.; Interceptação da radiação fotossintetizante ativa e rendimento de grãos de milho adensado. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.5, n.2, p.170-181, 2006.

MARIM, B. G.; SILVA, D. J. H.; CARNEIRO, P. C. S.; MIRANDA, G. V.; MATTEDI, A. P.; CALIMAN, F. R. B. Variabilidade genética e importância relativa

de caracteres em acessos de germoplasma de tomateiro. *Pesq. Agrop. Bras.*, Brasília, v.44, n.10, p.1283-1290, set. 2009.

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

MULAMBA, N. N. MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. *Egypt Journal of Genetics and Cytology*, n7, p.40-51. 1943.

NARDINO, M., BARETTA, D.; FOLLMANN, D. N.; KONFLANZ, V. A.; SOUZA, V. Q.; OLIVEIRA, A. C.; MAIA, L. C. Correlações fenotípica, genética e de ambiente entre caracteres de milho híbrido da região Sul do Brasil. *Rev. Bras. Biom.*, Lavras, v.34, n.3, p.379-394, 2016.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v.70, p.3321-3323, 1973.

NOCE, M. A. Milho variedade BR106: técnicas de plantio. Comunicado técnico. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sete Lagoas, 2004.

NUNES, J. A. Avaliação participativa de variedades locais e melhoradas de milho visando a eficiência no uso de nitrogênio. Dissertação (mestrado), Universidade Federal do Espírito Santo, 2006.

OLIVEIRA, E. J.; SANTOS, V. S.; LIMA, D. S.; MACHADO, M. D.; LUCENA, R. S.; MOTTA, T. B. N. Estimativas de correlações genotípicas e fenotípicas em germoplasma de maracujazeiro. *Bragantia*, Campinas, v.70, n.2, p.255-261, 2011.

PIMENTEL-GOMES, F. Curso de estatística experimental. São Paulo: USP/ESALQ, 467p, 1985.

RANGEL, R. M.; JUNIOR, A. T. A.; GONÇALVES, L. S. A.; JUNIOR, S. P.; CANDIDO, L. S. Análise biométrica de ganhos por seleção em população de milho pipoca de quinto ciclo de seleção recorrente. *Rev. Cien. Agro*, v.42, n.2, p.473-481, 2011.

RAO, R.C. Advanced statistical methods in biometric research. New York: J. Wiley, 1952.

REIS, G. G.; PEREIRA, F. B.; GRANATO, I. S. C.; DOVALE, J. C.; FRITSCHENETO, R. Tropical maize indexes genotypes for efficiency in use of nutrients: phosphorus. *Rev. Ceres*, Viçosa, v.64, n.3, p.266-273, 2017.

RIBEIRO, J. Z.; ALMEIDA, M. I. M. Estratificação ambiental pela análise da interação variedade X ambiente em milho. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.46, n.8, 2011.

SCAPIM, C. A.; CARVALHO, C. G. P.; CRUZ, C. D. Uma proposta de classificação de coeficientes de variação para a cultura do milho. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.30, n.5, p.683-686, 1995.

SILVA, C. A.; SCHIMILDT, E. R.; SCHIMILDT, O.; ALEXANDRE, R. S.; CATTANEO, L. F.; FERREIRA, J. P.; NASCIMENTO, A. L. Correlações fenotípicas e análise de trilha em caracteres morfoagronômicos de mamoeiro. Rev. Agro, v.10, n.3, p.217-227, 2016.

SILVA, M. F.; MACIEL, G. M.; FINZI, R. R.; PEIXOTO, J. V. M.; REZENDE, W. S.; CASTOLDI, R. Selection indexes for agronomic and chemical traits in segregating sweet corn populations. Horticultura Brasileira, v.38, n.1, 2020.

SILVEIRA, D. C.; BONETTI, L. P.; TRAGNAGO, J. L.; MONTEIRO, V. Caracterização agromorfológica de variedades de milho crioulo (*Zea mays* L.) na região noroeste do Rio Grande do Sul. CIÊNCIA & TECNOLOGIA. Revista do Centro de Ciências da Saúde e Agrárias da UNICRUZ, v. 1, nº 1, p. 01-11, 2015.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. Indian Journal of Genetic and Plant Breeding, v.41, p.237-245, 1981.

SMITH, H. F. A discriminant function for plant selection. Annual Eugenics, n.7, p.240-250, 1936.

SOUZA, A. R. R.; MIRANDA, G. V.; PEREIRA, M. G.; FERREIRA, P. L. Correlação de caracteres de uma população crioula de milho para sistema tradicional de cultivo. Caatinga (Mossoró, Brasil), v.21, n.4, p.183-190. 2008.

STEEL, R.G.D., J.H. TORRIE and D.A. Dickey, Principles and Procedures of Statistics: A Biometric Approach, 3rd edition. WCB Mc Graw Hill Companies, Inc., USA, 1996.

THOMPSON, R. A.; FOSTER, G. H. Strees cracks and breakage susceptibility as affected by moisture content at harvest for four yellow dent corn hybrids. Transactions of the ASAE, St.Joseph, v.33, n.3, p.863-869, 1990.

TOLLENAAR, M., WU, J. Yield improvement in temperate maize is attributable to greater stress tolerance. Crop Science, v.39, p.1597-1604, 1999.

ANEXOS

Resumo da Análise de variância (ANOVA) para o experimento 1, quadrados médios e coeficiente de variação (CV%) para as características analisadas

FV	GL	Quadrados médios											
		PE	PG	NPT	NPA	NPQ	NET	NED	UM	ALP	ALE	FLM	FLF
Blocos	2	0,2553	0,2870	76,56	33,58	5,08	27,58	17,14	0,090	0,116	0,0658	9,520	9,953
Tratamentos	15	5,8135**	3,3188*	66,35ns	28,11ns	17,08ns	201,6**	18,92ns	6,13**	0,273**	0,1051*	32,45ns	47,82**
Resíduo	30	2,0139	1,2772	42,02	21,69	11,68	12,80	10,25	0,182	0,073	0,0418	18,087	5,719
Total	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Média	-	5,89	4,332	44,62	3,91	6,09	40,33	4,71	21,0	2,10	1,20	76,35	80,06
CV (%)	-	24,05	26,08	14,52	118,9	56,77	8,87	68,02	2,03	12,93	17,01	5,570	2,98

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; ns: não significativo. PE: peso de espigas; PG: peso grãos; NPT: número de plantas total; NPA: número de plantas acamadas; NPQ: número de plantas quebradas; NET: número de espigas total; NED: número de espigas doentes; UM: umidade; ALP: altura de plantas; ALE: altura de espigas; FLM: florescimento masculino; FLF: florescimento feminino.

Resumo da Análise de variância (ANOVA) para o experimento 2, quadrados médios e coeficiente de variação (CV%) para as características analisadas

FV	GL	Quadrados médios											
		PE	PG	NPT	NPA	NPQ	NET	NED	UM	ALP	ALE	FLM	FLF
Blocos	2	0,3075	2,1294	193,39	6,395	0,5625	131,25	13,08	0,1008	0,1101	399,85	5,687	4,536
Tratamentos	15	3,79820ns	0,1628ns	46,66ns	4,75ns	0,04ns	64,93ns	5,82ns	1,523ns	0,034ns	247,5ns	56,69ns	77,72**
Resíduo	30	0,33395	0,12725	36,840	5,595	0,4958	53,294	4,505	2,345	0,0382	381,5	33,43	7,82
Total	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Média	-	1,601	7,73	40,04	1,708	0,5	22,81	2,16	22,71	1,57	63,79	82,87	89,58
CV (%)	-	36,08	46,09	15,15	138,47	140,83	32,00	97,96	6,90	12,38	30,61	6,97	3,12

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; ns: não significativo; *e**: significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. PE: peso de espigas; PG: peso grãos; NPT: número de plantas total; NPA: número de plantas acamadas; NPQ: número de plantas quebradas; NET: número de espigas total; NED: número de espigas doentes; UM: umidade; ALP: altura de plantas; ALE: altura de espigas; FLM: florescimento masculino; FLF: florescimento feminino.

Resumo da Análise de variância (ANOVA) para o experimento 3, quadrados médios, coeficiente de variação (CV%) para as características analisadas

FV	GL	Quadrados médios											
		PE	PG	NPT	NPA	NPQ	NET	NED	UM	ALP	ALE	FLM	FLF
Blocos	2	0,33061	1,4469	4,520	3,645	2,25	108,39	9,645	0,0133	0,0249	0,0208	8,312	10,562
Tratamentos	15	8,035ns	0,536ns	15,46**	2,577ns	2,420**	75,08ns	3,66ns	5,494**	0,201**	0,091ns	22,28*	19,505
Resíduo	30	0,61940	0,3459	2,985	1,356	0,45	58,995	1,979	0,146	0,0635	0,053	9,512	9,718
Total	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Média	-	2,754	2,488	45,16	2,833	1,68	32,03	2,91	21,05	2,18	1,24	76,68	80,62
CV (%)	-	28,57	23,63	3,82	41,11	39,75	23,98	48,23	1,812	11,51	18,67	4,02	3,86

FV: fonte de variação; GL: graus de liberdade; ns: não significativo; *e**: significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente. PE: peso de espigas; PG: peso grãos; NPT: número de plantas total; NPA: número de plantas acamadas; NPQ: número de plantas quebradas; NET: número de espigas total; NED: número de espigas doentes; UM: umidade; ALP: altura de plantas; ALE: altura de espigas; FLM: florescimento masculino; FLF: florescimento feminino.



Figura 11 – Instalação, desenvolvimento e colheita do primeiro experimento em campo, realizado entre novembro de 2017 a abril de 2018.



Figura 12 – Instalação, desenvolvimento e análises pós colheita do segundo experimento em campo, realizado entre maio de 2018 a setembro de 2018.

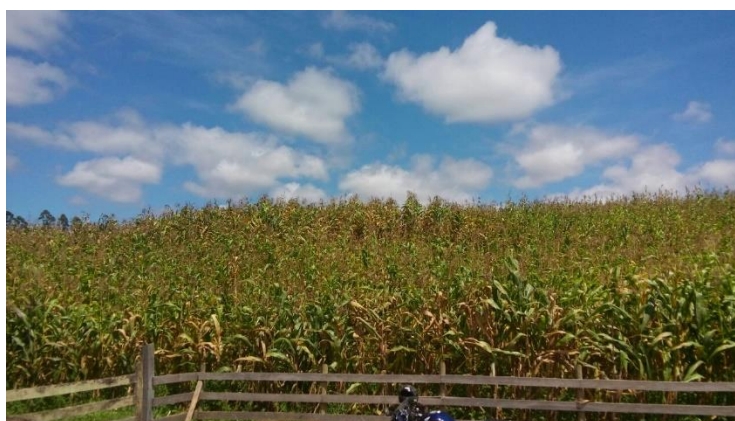


Figura 13– Instalação, desenvolvimento e colheita do terceiro experimento em campo, realizado entre outubro de 2018 a abril de 2019.



Figura 14 – Genótipos colhidos em campo: 1:Aliança – 02; 2: Fortaleza M-3; 3:São José; 4:Fortaleza M-2; 5:Eldorado; 6:Fortaleza M-4; 7: Incaper 203; 8: Fortaleza M-5.



Figura 15 – Genótipos colhidos em campo 9: Fortaleza NV; 10: Fortaleza MS-1; 11: Fortaleza AC; 12: BR106; 13: Imperador – Es204; 14: Aliança 01; 15: Fortaleza M-1; 16: Sol da Manhã.