

MATEUS CUPERTINO RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DE LINHAGENS DE MILHO TROPICAL PARA EFICIÊNCIA
NO USO DE NITROGÊNIO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

R696a
2015
Rodrigues, Mateus Cupertino, 1987-
Avaliação de linhagens de milho tropical para eficiência no uso de
nitrogênio / Mateus Cupertino Rodrigues. - Viçosa, MG, 2015.
vii, 37f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Rodrigo Oliveira de Lima.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.32-37.

1. Milho. 2. *Zea mays*. 3. Variabilidade (Genética). 4. Nitrogênio -
Absorção. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia.
Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.15


MATEUS CUPERTINO RODRIGUES

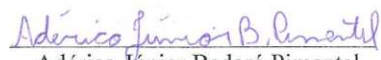
AVALIAÇÃO DE LINHAGENS DE MILHO TROPICAL PARA EFICIÊNCIA
NO USO DE NITROGÊNIO

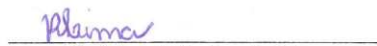
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 17 de julho de 2015.


Leonardo Duarte Pimentel


Laércio Junio da Silva


Adérico Júnior Badaró Pimentel


Rodrigo Oliveira de Lima
(Orientador)

*Aos meus irmãos Tiago e David,
pelo exemplo de força e coragem,
por todo o carinho, amizade e apoio.*

OFEREÇO.

*Ao meu pai José Otacílio Rodrigues e à minha
mãe Maria das Dores Cupertino Rodrigues,
pelo exemplo de força e honestidade,
por sempre ajudarem na minha formação
profissional e pessoal. Por todo o amor, apoio
e incentivo.*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e à Fundação Arthur Bernardes (Funarbe), pelo financiamento dos projetos, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao orientador e amigo, Prof. Rodrigo Oliveira de Lima, pelo apoio e pelas instruções na execução do trabalho.

Aos professores, Dr. Leonardo Duarte Pimentel e Dr. Laercio Junio da Silva, e ao Dr. Adérico Júnior Badaró Pimentel, pela participação na banca de defesa de dissertação.

Aos estagiários, bolsistas de iniciação científica e pós-graduandos do Programa Milho-UFV, pela imensa dedicação e ajuda, pois sem eles este trabalho não existiria.

Aos funcionários do Campo Experimental de Coimbra, por toda dedicação com que me auxiliaram na condução do experimento.

Aos Prof. Ricardo Henrique Silva Santos e a todos os integrantes do Laboratório de Agroecologia, pela amizade e apoio na realização das análises químicas.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigado.

BIOGRAFIA

MATEUS CUPERTINO RODRIGUES, filho de José Otacílio Rodrigues e Maria das Dores Cupertino Rodrigues, nasceu em Viçosa - MG, em 24 de outubro de 1987.

Em 2008, ingressou na Universidade Federal de Viçosa, onde se graduou em Agronomia, obtendo o título em julho de 2013.

Em agosto de 2013, iniciou o curso de Mestrado em Fitotecnia, com área de concentração em genética e melhoramento de plantas, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa em julho de 2015.

Sumário

RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
1. INTRODUÇÃO	VII
2. OBJETIVOS	5
3. MATERIAL E MÉTODOS	5
3.1. Material genético	5
3.2. Avaliação das linhagens endogâmicas de milho	6
3.3. Análises genético-estatísticas	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4.1. Componentes de variância, médias, herdabilidade e acurácia estatística.....	10
4.2. Diversidade genética	17
4.3. Contribuições dos caracteres EAbN e EUtN para EUN.....	23
4.4 Correlações fenotípicas e análise de trilha	24
5. CONCLUSÕES	32
6. REFERÊNCIAS.....	32

RESUMO

RODRIGUES, Mateus Cupertino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2015. **Avaliação de linhagens de milho tropical para eficiência no uso de nitrogênio.** Orientador: Rodrigo Oliveira de Lima. Coorientadores: João Carlos Cardoso Galvão e José Marcelo Soriano Viana.

O nitrogênio (N) é o nutriente mais demandado na cultura do milho. Diante disso, os objetivos deste trabalho foram investigar a presença de variabilidade genética em linhagens de milho tropical para caracteres relacionados à eficiência no uso de N; identificar linhagens de milho tropical eficientes no uso de N; estudar a contribuição da eficiência de absorção e de utilização de N para a eficiência no uso de N em linhagens de milho tropical; estudar a divergência genética entre linhagens de milho tropical; e identificar os caracteres secundários que estão associados com a eficiência no uso de N em linhagens de milho tropical. Foram avaliadas 64 linhagens endogâmicas de milho tropical em Coimbra-MG em ambiente de baixo (30 kg ha^{-1} de N) e alto suprimento de N (180 kg ha^{-1} de N). Os caracteres avaliados foram florescimento masculino, florescimento feminino, peso hectolítrico, teor de clorofila na folha, altura de planta, altura de espiga, número de nós abaixo da espiga, número de nós acima da espiga, diâmetro de espiga, comprimento de espiga, número de fileiras de grãos na espiga, número total de grãos na espiga, produtividade de grãos, peso de 1000 grãos, eficiência na absorção de N, eficiência na utilização de N e eficiência no uso de N. Comprovou-se variabilidade genética entre as linhagens de milho tropical para caracteres avaliados relacionados à eficiência de uso de N. A eficiência de utilização de N contribui com mais de 75% da variação para eficiência de uso de N em ambos os níveis de N. As linhagens eficientes no uso de N em alto suprimento deste nutriente foram L6, L10, L16, L17, L21, L28, L40, L50 e L60. As linhagens eficientes em baixo suprimento de N foram L21, L27, L28, L38, L43 e L63. As linhagens 21 e 28 se destacaram por serem eficientes em ambos os níveis de N. A diferença de disponibilidade de N no solo influencia o padrão de agrupamento das linhagens de milho pela divergência genética. O caráter número de grãos por espiga está fortemente associado com eficiência de uso de N e pode ser utilizado como um caráter secundário na seleção de linhagens de milho eficientes no uso de N.

ABSTRACT

RODRIGUES, Mateus Cupertino, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2015. **Evaluation of tropical maize lines for nitrogen use efficiency.** Adviser: Rodrigo Oliveira de Lima. Co-adviser: João Carlos Cardoso Galvão and José Marcelo Soriano Viana.

Nitrogen (N) is the most nutrient demanded in the maize crop. Thus, the objectives of this study were to investigate the presence of genetic variability in tropical maize inbred lines for traits related to N efficiency in use; identify efficient tropical maize inbred lines in the use of N; study the contribution of the efficiency of absorption and utilization of N to N use efficiency in tropical maize inbred lines; study the genetic divergence among tropical maize inbred lines and identify the secondary traits that are associated with the efficiency in the use of N tropical maize inbred lines. Sixty-four inbred lines of tropical maize were evaluated in Coimbra MG, under low N environment ($30 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$) and high supply of N ($180 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$). The evaluated traits were male flowering, female flowering, hectoliter weight, chlorophyll content in the leaf, plant height, ear height, number of nodes below the ear, number of nodes above the ear, ear diameter, ear length, number in the ear of grain rows, the total number of kernels on the ear, grain yield, 1000 grain weight, N use efficiency, N acquisition efficiency and N utilization efficiency. There is genetic variability among inbred lines of tropical maize for traits related to efficiency use N. The N utilization efficiency contributes more than 75% of the variance for N use efficiency at both levels of N. Inbred lines efficient in the use of N in high level of this nutrient are L6, L10, L16, L17, L21, L28, L40, L50 and L60. Efficient inbred lines in low N are L21, L27, L28, L38, L43 and L63. The inbred lines 21 and 28 stand out for being efficient on both levels of N. The difference in N availability in the soil influences the pattern of grouping of maize inbred lines for genetic diversity. The trait number of grains per ear is strongly associated with N use efficiency and can be used as a secondary trait in the selection of inbred lines efficient in the use of N.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*) é uma espécie da família das poáceas e seu cultivo está disseminado por uma vasta região do mundo, em altitudes que vão desde o nível do mar até 3.000 metros. O México e a Guatemala são considerados países de origem do milho que conhecemos hoje. A mais antiga espiga de milho foi encontrada no Vale do Tehucan, na região onde hoje se localiza o México, datada de 7.000 anos A.C. O teosinto deu origem ao milho por meio de um processo de seleção artificial feito pelo homem. Ao longo do tempo, o homem promoveu a domesticação do milho por meio da seleção visual no campo, considerando importantes caracteres como produtividade de grãos, resistência a pragas e doenças e capacidade de adaptação, entre outros, dando origem ao que é chamado hoje de milho moderno (Beadle, 1978). Mundialmente, o milho tem grande importância econômica, cultural e social, caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vão desde a alimentação animal, passando pela alimentação humana, até a indústria de alta tecnologia, como a produção de filmes, embalagens biodegradáveis, etanol e diversos outros produtos. O grão de milho é composto predominantemente de carboidratos (78%) e proteínas (9%), sendo, por consequência, considerado um alimento energético para as dietas humana e animal (Paes, 2008).

Estima-se que, em 2015, a safra mundial de milho seja de 987,52 milhões de toneladas, o que o posiciona como o cereal com maior volume de produção no mundo (USDA, 2014). Embora seja produzido quase um bilhão de toneladas de grãos de milho, a produção de milho, nas áreas aptas à cultura, não será suficiente para atender a demanda mundial deste cereal nas próximas décadas (Bazinger et al., 2004). Com o desafio de alimentar uma população mundial crescente, que, em 2050, superará os nove bilhões de habitantes, o milho será ainda mais importante e haverá necessidade de aumentar a produção, sem aumentar a área plantada ou cultivá-lo em áreas marginais e inaptas para a cultura. Assim, é necessário aumentar a produtividade desse cereal, visto que a demanda por alimentos crescerá 20% nos próximos dez anos e o Brasil será responsável por atender a 40% desta demanda (Peixoto, 2014). A necessidade de aumentar a produção mundial de milho é uma realidade, mas não há grandes áreas para serem utilizadas para este fim em nenhuma região do mundo, pois, além da necessidade de produzir outros alimentos, há uma grande pressão global em prol da conservação da vegetação natural.

Em 2014, o agricultor Randy Dowdy, de Valdosta, da Geórgia, Estados Unidos, estabeleceu o recorde mundial de produtividade de milho, com uma média de aproximadamente 31,57 toneladas por hectare, em condições de campo (Agrolink, 2015). Isso mostra que o potencial produtivo do milho é muito alto. Entretanto, há uma grande variação de produtividade de grãos entre países, estados e, mesmo, entre regiões dentro de estados. Os motivos para esta diferença de produtividade estão relacionados com os níveis de tecnologia adotados pelos produtores. Nessas regiões tropicais, geralmente o cultivo de milho é feito em solos com baixa fertilidade e com baixo uso de fertilizantes, principalmente o nitrogênio (N) (Monneveux et al., 2005). Para mudança desse cenário, faz-se necessário o uso de técnicas culturais mais adequadas, aliadas a cultivares mais adaptadas a cada local e eficientes no uso de água, luz e nutrientes, com destaque para uma maior eficiência no uso do N. Esse nutriente é absorvido desde os estádios iniciais de desenvolvimento até perto da maturação fisiológica da planta de milho (Ritchie et al., 2003). O N é o nutriente mais demandado e consumido pela cultura do milho, principalmente quando são almejadas altas produtividades de grãos, pois, para cada 60 kg ha⁻¹ de grãos produzidos, é necessário 1 kg ha⁻¹ de N (Vergutz e Novais, 2015). Entre as cultivares atuais, existe enorme variação na eficiência de uso de N (Worku et al., 2007). No entanto, a maior parte dos programas de melhoramento desenvolve cultivares de milho para condições ótimas de cultivo, não visando a uma seleção de cultivares mais eficientes na utilização e na absorção de N.

A eficiência no uso de N é definida como a razão entre a produtividade de grãos por unidade de N disponível à planta no solo (Moll et al., 1982). Ela é composta pela eficiência na absorção de N, que é a capacidade da planta em absorver N, e pela eficiência na utilização de N, que é a capacidade da planta de produzir grãos ou matéria seca por unidade de nutriente absorvido. Cultivares de milho mais eficientes no uso de N podem ser obtidas através do melhoramento genético para eficiência na absorção e/ou na utilização de N (Hirel et al., 2001; Gallais e Hirel, 2004; Souza et al., 2008). Segundo Moll et al. (1982), em baixa disponibilidade de N, a variação na eficiência de utilização deste nutriente contribui mais para a eficiência do uso de N do que a variação na eficiência de absorção. No entanto, verifica-se o contrário em alto N, em que a contribuição da eficiência na absorção é mais importante do que a eficiência na utilização para eficiência no uso de N (Gallais e Coque, 2005). Do Vale et al. (2012) avaliaram linhagens e híbridos de milho, em estágio de plântula (V6), para eficiência no uso de N, tendo concluído que, independentemente da disponibilidade de N, a eficiência

no uso de N foi mais influenciada pela eficiência na absorção do que pela eficiência na utilização. No entanto, estas contribuições podem variar, dependendo da fonte de nitrogênio do solo, do germoplasma e das condições ambientais. Diante disso, é muito importante estimar as contribuições da eficiência na absorção e utilização de N para eficiência no uso de N e, assim, estabelecer estratégias de melhoramento que visem ao desenvolvimento de cultivares de milho mais eficientes no uso de N.

Caracteres secundários relacionados à eficiência no uso de N têm sido estudados com o intuito de obter cultivares mais eficientes no uso do N, pois, em solos pobres em N, os ganhos com seleção direta para eficiência no uso de N são pequenos em decorrência da baixa herdabilidade para esses caracteres nesses ambientes (Banziger et al., 2004). Para um caráter ser utilizado no processo seletivo como ideal, ele deve estar correlacionado geneticamente com o caráter principal, apresentar alta herdabilidade, ter alta variabilidade genética, ser de fácil e rápida mensuração e estável durante o período de avaliação (Falconer e Mackay, 1996; O'Neill et al., 2006). Miranda et al. (2005) usaram o teor de clorofila na folha para descartar linhagens de milho ineficientes no uso de N. Abdel-Ghani et al. (2013) avaliaram 74 linhagens de milho submetidas a altas e baixas dosagens de N e encontraram correlação positiva e significativa entre os caracteres de arquitetura de planta (altura de planta e espiga) e produtividade de grãos, em ambientes de baixo e alto N. Badu-Apraku et al. (2012) avaliaram 90 linhagens de milho aos 21 dias após o plantio em estresse por seca e baixo N e encontraram que altura de planta e de espiga são caracteres confiáveis para seleção simultânea para produtividade de grãos em baixo N e seca. Abe et al. (2013) avaliaram 14 híbridos de milho tropical em condições de baixo, ótimo e não fornecimento de N por três anos consecutivos na Nigéria, tendo encontrado correlação positiva ($P < 0,001$) entre produtividade de grãos e altura de planta e espiga em todos os ambientes e anos avaliados.

Estes resultados indicam que é possível fazer avaliação de caracteres correlacionados com produtividade de grãos e, com isso, seleção precoce de linhagens de milho eficientes no uso de N sem que seja necessário obter os dados de produtividade de grãos, o que levaria muito tempo e demandaria maior alocação de recursos e mão de obra.

Atualmente, mais de 65% da área plantada com milho é composta por cultivares híbridas. O desenvolvimento de híbridos em um programa de melhoramento de milho está condicionado a cruzamentos entre linhagens contrastantes, pois a heterose

manifestada no cruzamento é função do desvio de dominância e do quadrado da diferença da frequência gênica entre as populações das quais as linhagens foram obtidas (Falconer e Mackay, 1996). Então, uma maneira de maximizar a heterose é agrupar as linhagens do programa de melhoramento em grupos divergentes. E isso pode ser feito de forma preditiva por meio de estudos de divergência genética aplicados ao conjunto de linhagens do programa. Mundim et al. (2013a) estimaram diversidade entre 25 linhagens de milho-pipoca para caracteres de raiz e eficiência na absorção de N, tendo encontrado grupos de linhagens divergentes que podem ser usadas para a geração de híbridos de milho-pipoca e populações segregantes para estudos de herança. Embora o desenvolvimento de cultivares de milho eficientes no uso de N seja importante para uma agricultura sustentável, principalmente em condições tropicais, há poucos trabalhos, em condições de campo, com fenotipagem de linhagens para eficiência no uso de N e caracteres relacionados. A maioria dos trabalhos tem sido conduzida em casa de vegetação, em que os fatores ambientais são controlados, podendo não representar muito bem as condições reais de cultivo. Em países de clima temperado, há um maior número de investigações com avaliações para eficiência no uso de N em condições de campo (Ferro et al., 2007; Wu et al., 2011; Abdel-Ghani et al., 2013), mas é importante salientar que a maioria dos trabalhos não avalia linhagens endogâmicas, que são a base principal para obtenção de híbridos de milho. Ferro et al. (2007) avaliaram 85 variedades de milho crioulo, coletadas em cinco países (França, Portugal, Alemanha, Grécia e Itália), plantadas em dois ambientes contrastantes (Itália e Grécia), com baixo e alto N, tendo encontrado alta variabilidade genética para caracteres relacionados à eficiência no uso de N, mostrando ser possível utilizar estes genótipos em programas de melhoramento para obtenção de cultivares mais eficientes no uso de N.

Diante do exposto, é nítida a necessidade de desenvolvimento de cultivares de milho tropical mais eficientes no uso de N. Com a identificação de linhagens mais eficientes no uso de N e posterior obtenção de híbridos eficientes, busca-se reduzir o custo de produção, já que os adubos nitrogenados representam, em média, 22% do custo de produção da cultura do milho (Jandrey et al., 2012). Com redução do uso de fertilizantes nitrogenados, que é produzido do petróleo, uma fonte de energia não renovável, ocorrerá, também, redução dos impactos ambientais gerados tanto na produção do adubo nitrogenado quanto na sua utilização excessiva nos solos agrícolas. Além disso, é necessário conhecer a associação entre caracteres secundários e eficiência no uso de N, com o propósito de maximizar os ganhos de seleção e obter

populações segregantes para estudos de herança de caracteres relacionados à eficiência no uso de N.

2. OBJETIVOS

Investigar a presença de variabilidade genética em linhagens de milho tropical para caracteres relacionados à eficiência no uso de N.

Identificar linhagens de milho tropical eficientes na absorção, utilização e uso de N.

Estudar a contribuição da eficiência na absorção e na utilização de N para a eficiência no uso de N em linhagens de milho tropical.

Estudar a divergência genética entre linhagens de milho tropical em condições contrastantes de N no solo.

Identificar os caracteres secundários associados à eficiência no uso de N em linhagens de milho tropical.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material genético

Para este trabalho, foram utilizadas 64 linhagens endogâmicas de milho, oriundas do banco ativo de germoplasma do programa de melhoramento de milho da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Programa Milho[®]. As 64 linhagens foram escolhidas com base em suas origens e por serem divergentes para caracteres de arquitetura de planta e alguns caracteres agrônômicos. Estas linhagens foram extraídas de diferentes fontes de germoplasma como híbridos comerciais, populações e variedades de polinização aberta e resultam de pelo menos cinco gerações de autofecundação. Assim, elas não estavam segregando para caracteres de interesse, pois a variância genética dentro de linhagens com cinco gerações de autofecundação é quase nula (Falconer e Mackay, 1996).

3.2. Avaliação das linhagens endogâmicas de milho

As 64 linhagens de milho foram avaliadas na Estação Experimental de Coimbra (20° 51' 24" S, 42° 48' 10" W, altitude de 720 m), pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFV, na safra de 2014. A semeadura das linhagens foi feita no dia 19 de fevereiro de 2014. O experimento foi composto por um fatorial 2 x 64 (dois níveis de N, alto e baixo, e 64 linhagens) em delineamento experimental de látice 8x8, com duas repetições. Cada parcela foi constituída de duas linhas de quatro metros de comprimento, espaçadas em 0,80 m entre si, com área útil de 6,4 m². Aproximadamente 25 dias após o plantio, foi feito um desbaste, sendo obtida uma população de 62.500 plantas ha⁻¹.

A adubação de plantio foi feita conforme as recomendações técnicas para cultura do milho (Vergutz e Novais, 2015) e com base na análise química do solo, exceto para adubação nitrogenada, na qual a quantidade do adubo nitrogenado variou. No ambiente de alto N, foram aplicados 30 kg ha⁻¹ de N no plantio e feita uma adubação de cobertura, no estágio de seis folhas completamente desenvolvidas (V6), na quantidade de 150 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia. Isso totalizou 180 kg ha⁻¹ de N (plantio + cobertura). No ambiente de baixo N, foram aplicados 30 kg ha⁻¹ de N no plantio, sem adubação de cobertura. O experimento foi irrigado. Todos os tratamentos culturais foram feitos, sempre que necessários, de acordo com as recomendações técnicas para a cultura do milho (Cruz et al., 2008).

Para as avaliações dos caracteres, foram marcadas, previamente, cinco plantas representativas da parcela com uma folha de papel, onde foram feitas todas as avaliações, exceto produtividade de grãos. Foram avaliados os seguintes caracteres: conteúdo de clorofila na folha (SPAD), que foi mensurado na folha abaixo da espiga superior, 15 dias após o florescimento feminino, usando o medidor portátil de clorofila (SPAD-502); altura de planta (AP) e espiga (AE), sendo a avaliação feita da superfície do solo até o ponto de inserção da folha bandeira e até o ponto de inserção da espiga superior, respectivamente; número de nós abaixo (NNBE) e acima (NNAE) da espiga superior, avaliado pela contagem dos números de nós abaixo e acima da espiga superior da planta. As avaliações de arquitetura de planta foram feitas por ocasião de pendramento (estádio VT).

Foram avaliados, também, o florescimento feminino (FF) e o florescimento masculino (FM). Esta avaliação foi feita em dias, contados do plantio até o florescimento, pela observação visual da liberação de estilo-estigmas (flores femininas)

e da liberação do grão de pólen no pendão (flores masculinas). Para florescimento masculino, a parcela foi considerada florescida quando 50% das plantas estavam liberando grãos de pólen em pelo menos 50% do pendão. No caso do florescimento feminino, foi considerado quando 50% das plantas estavam liberando estilo-estigma (pelo menos um cm de estilo-estigmas).

Na ocasião da colheita, foi colhida a parte aérea das cinco plantas, representativas da parcela, de onde foram obtidos os dados de matéria fresca da parte aérea total e de avaliação das espigas. Os dados relacionados à espiga foram mensurados na espiga superior de cada planta colhida. Os dados finais foram expressos em média por planta. Os caracteres avaliados foram os seguintes: peso da parte aérea fresca, feito após a retirada dos grãos, sendo feita a pesagem da parte aérea das cinco plantas representativas da parcela colhidas, sendo este peso representado por folhas + colmo + palha da espiga + pendão + sabugo; comprimento de espiga (CE), representado pela medida da base até a ponta da espiga; diâmetro de espiga (DE); número de fileira de grãos (NFE); número de grãos por espiga (NGE); peso hectolítrico (PHE), medida do peso de um litro de grãos; e peso de 1000 grãos (P1000). Esses dois últimos caracteres foram corrigidos para 14,5% de umidade.

A avaliação de produtividade de grãos (PG) foi feita pela colheita manual de todas as espigas da parcela e pela quantificação do número total de plantas de cada parcela para posterior correção para um estande de 62.500 plantas, que representou o número de plantas em um hectare. No galpão, foram feitas a debulha das espigas em debulhador elétrico e, logo após, a pesagem dos grãos e medição da umidade. Os dados foram expressos em kg ha^{-1} e corrigidos para 14,5% de umidade.

Para determinação do peso de parte aérea fresca, todo o material das 5 plantas inteiras foi triturado em triturador elétrico. Após a trituração de toda matéria fresca, foi retirada uma amostra que foi pesada, sendo mensurada a matéria fresca, e, logo após, colocada para secar em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C até atingir massa constante (72 horas). A amostra seca foi pesada e, com base no peso fresco e seco da amostra, foi calculada a porcentagem de sua matéria seca, tendo este valor sido extrapolado para calcular a matéria seca total das cinco plantas.

Os grãos também foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 70°C até atingir massa constante. Após secar, a amostra da parte aérea e os grãos foram moídos em moinho tipo Willey, e o teor de nitrogênio, determinado pelo método Kjeldahl, descrito por Bremner e Mulvaney (1982). Após determinado o teor de N dos grãos e da

parte aérea (sabugo + palha da espiga + colmo + folhas + pendão), os valores foram somados (grão + parte aérea) e utilizados para calcular a eficiência no uso de N (EUN) e seus componentes primários eficiência na absorção de N (EAbN) e eficiência na utilização de N (EUtN), conforme Moll et al. (1982):

$$EAbN = \text{Quantidade de N na planta} / \text{quantidade de N aplicado (kg kg}^{-1}\text{)};$$

$$EUtN = \text{Produtividade de grãos} / \text{Quantidade de N na planta (kg kg}^{-1}\text{)}, (\text{kg de grãos} / \text{kg de N absorvido});$$

$$EUN = EAbN \times EUtN (\text{kg kg}^{-1}\text{)}.$$

3.3. Análises genético-estatísticas

Após a coleta de todos os dados fenotípicos, eles foram submetidos à análise de variância simples e conjunta e, depois, estimadas as variâncias genotípicas e fenotípicas. Blocos, linhagens e os efeitos da interação de linhagens com níveis de nitrogênio foram considerados como efeitos aleatórios.

O modelo estatístico geral utilizado para a análise em cada ambiente, baixo e alto N, foi $Y_{ijk} = m + t_i + r_j + b_{k(j)} + e_{ijk}$, em que Y_{ijk} é o valor observado da linhagem i no bloco k , dentro da repetição j ; m é a média geral do experimento; t_i é o efeito da linhagem i , com i variando de 1 a 64; r_j é o efeito da repetição j , com j variando de 1 a 2; $b_{k(j)}$ é o efeito do bloco k , dentro da repetição j ; e e_{ijk} é o erro experimental associado ao total da parcela Y_{ijk} . Além disso, uma análise conjunta, considerando os dois níveis de N, foi feita para testar a interação doses de N x linhagens. Antes da análise conjunta, foi feito o teste de homogeneidade das variâncias pela razão entre os quadrados médios residuais individuais (Cruz et al., 2012). Como os quadrados médios residuais não ultrapassaram a relação de 7:1, os dois ambientes de alto e baixo N foram reunidos e feita a análise de variância conjunta. O modelo estatístico geral utilizado para a análise conjunta da interação entre os dois níveis de N com as linhagens foi $Y_{ijkl} = m + l_1 + r_{j(l)} + b_{k(jl)} + tl_{il} + t_i + e_{ijk}$, em que Y_{ijkl} é o valor observado da linhagem i no bloco k , dentro da repetição j no ambiente l ; m é a média geral do experimento; l_1 é o efeito do ambiente l , sendo baixo ou alto nível de N; $r_{j(l)}$ é o efeito da repetição j dentro do ambiente l ; $b_{k(jl)}$ é o efeito do bloco k , dentro da repetição j no ambiente l ; tl_{il} é o efeito da interação ambiente l x linhagem i ; t_i é o efeito da linhagem i ; e e_{ijk} é o erro experimental associado ao total da parcela Y_{ijkl} .

A herdabilidade no sentido amplo foi estimada, em alto e baixo N, como razão entre as estimativas de variância genotípica e variância fenotípica (Fehr, 1991). Para medir a precisão e qualidade experimental dos experimentos, a acurácia seletiva foi estimada conforme a expressão $\hat{r}_{gg} = (1 - 1/F)^{0,5}$ (Resende et al., 2007).

Para identificar as linhagens eficientes e não eficientes no uso de N, o intervalo de confiança (IC) a 99% de probabilidade foi estimado em alto e baixo N, através da

equação $IC(\mu)_{99\%} = \bar{X} \pm t_{(1\%, 49)} \sqrt{\frac{QMR}{r}}$, em que \bar{X} é a média das linhagens em cada ambiente para EUN, t é tabelado, QMR é o quadrado médio do resíduo e r é o número de repetições (Mundim et al., 2013). Linhagens com médias superiores ao limite superior do intervalo de confiança para a média foram classificadas como eficientes no uso de N, linhagens com médias inferiores ao limite inferior do intervalo de confiança para a média foram classificadas como ineficientes no uso de N e linhagens com médias dentro do intervalo de confiança para a média foram classificadas como linhagens intermediárias no uso de N. Além disso, um gráfico de dispersão com as médias estimadas para eficiência na absorção e na utilização de N, em que o eixo das abcissas corta a média das estimativas de EUtN e o das ordenadas, a média das estimativas de EAbN, foi construído para cada nível de N.

Para estimar a diversidade genética entre as linhagens de milho tropical, em alto e baixo N, a distância generalizada de Mahalanobis (D^2) entre as linhagens foi calculada, e as linhagens foram agrupadas pelo método da ligação média entre grupos (UPGMA). A matriz de distância D^2 foi utilizada para identificar as linhagens mais próximas e os pares mais divergentes. O critério proposto por Singh (1981) foi utilizado para quantificar a contribuição relativa dos caracteres para diversidade genética.

O cálculo da proporção de contribuição da eficiência na absorção de N e eficiência na utilização de N para a eficiência no uso de N foi feito segundo Moll et al. (1982). Os logaritmos da EUN, EAbN e EUtN foram obtidos das médias das linhagens para essas caracteres e, depois disso, foi obtida a correlação entre estes valores, multiplicados pela razão do desvio padrão do caráter componente (S_{xi}), neste caso EAbN e EUtN, pela característica resultante EUN (S_{yi}). A seguinte fórmula foi utilizada:

$$\text{Contribuição da caráter } I = (ry_{xi}(S_{xi}/S_{yi})) \times 100.$$

Em alto e baixo N, os coeficientes de correlação entre todas as médias ajustadas de todos os caracteres avaliados foram estimados e testados a 5% de probabilidade pelo teste F. Depois disso, com intuito de identificar caracteres com efeito direto sobre os componentes da eficiência no uso de N, as estimativas de correlações entre caracteres agronômicos e EUN foram desdobradas em efeitos diretos e indiretos por meio de análise de trilha (Wright, 1921). A EUN foi considerada o caráter principal e os demais, caracteres agronômicos, com exceção de PG, que tem correlação direta com EUN, EAbN e EUtN, foram considerados caracteres explicativos. A análise de trilha foi feita após o diagnóstico de multicolinearidade na matriz de correlações entre os caracteres explicativos (Montgomery e Peck, 1981). As análises genético-estatísticas foram feitas com auxílio dos pacotes “agricolae”, “ade4” e “adegenet”, implementados no programa R (TEAM, 2001).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Componentes de variância, médias, herdabilidade e acurácia estatística

Houve efeito significativo ($P < 0,01$) para a fonte de variação linhagens avaliadas para quase todos os caracteres, em alto e baixo N, exceto para EUtN, em baixo N, em que o efeito constatado foi ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F (Tabela 1). Considerando estes resultados, é possível observar alta variabilidade genética entre as linhagens de milho tropical para os caracteres agronômicos e componentes da eficiência no uso do N. Assim, é possível selecionar linhagens de milho eficientes na absorção, na utilização e, principalmente, no uso de N entre as 64 linhagens avaliadas. Variabilidade genética para EUN e caracteres agronômicos em linhagens de milho, em baixo e alto N, são relatados por Abdel-Ghani et al. (2013) e Badu-Apraku et al. (2012), confirmando a possibilidade de seleção de linhagens mais eficientes no uso do N em milho.

Na interação linhagens x níveis de N, houve alteração no comportamento relativo das linhagens frente às diferenças de disponibilidade de N no solo para os caracteres avaliados (Tabela 1). Os caracteres EUN, EAbN, P1000, NFE e CE foram altamente significativos para a interação ($P < 0,01$), e o caráter FF foi significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. Além desses, os caracteres SPAD, AP e AE foram significativos a 10% de probabilidade. Não houve interação linhagens x níveis de N para os caracteres FM, PHE, NNBE, NNAE, DE, NGE e EUtN ($P > 0,10$). O conhecimento sobre a significância da interação linhagens x níveis de N é muito

importante no melhoramento de milho, pois essas informações podem nortear o melhorista na avaliação de linhagens nos dois níveis de N ou em apenas um. Como EUN, EAbN, P1000, NFE e CE foram altamente significativos para a interação ($P < 0,01$), a seleção de linhagens com base nesses caracteres deve ser feita em ambientes separados, pois os alelos que controlam a expressão do caráter em baixo fornecimento de N são, pelo menos em parte, diferentes dos alelos que controlam o mesmo caráter em condição ideal de N (Gallais et al., 2008; Souza et al., 2008). Para os caracteres FM, PHE, NNBE, NNAE, DE, NGE e EUtN, que não foram significativos para interação linhagens x níveis de N, a seleção pode ser feita em apenas um ambiente ou a sua análise pode ser feita com base nas médias dos dois ambientes em estudo. Um fato interessante foi que a EUtN não apresentou interação com os níveis de N no solo. Já a EAbN e EUN foram altamente significativos para a interação ($P < 0,01$). Resultados semelhantes foram encontrados por Do Vale et al. (2012), que, trabalhando com combinações híbridas em níveis contrastantes de N, encontraram interação significativa para EAbN e não significativas para EUtN. Segundo estes autores, a EAbN é o componente mais importante para a EUN. Se a EAbN for o componente mais importante para a EUN e apresentar alta interação com os níveis de N aplicado no solo ($P < 0,01$), é necessário que se faça a seleção de genótipos em ambientes diferentes para encontrar linhagens com alta EUN nos dois ambientes de estudo.

Pelo fato de não ter havido interação linhagens x níveis de N com todos os caracteres avaliados, as correlações de Spearman entre os mesmos caracteres avaliados, em alto e baixo N, foram significativas ($P < 0,01$) para a maioria dos caracteres, exceto para EAbN (Tabela 3). As correlações significativas foram positivas, variando de 0,91 (FM) a 0,49 (EUtN). A correlação da EUN entre os ambientes de baixo e alto N foi de 0,70. Nesse trabalho, é possível observar, com base nos resultados, tendência de as linhagens apresentarem respostas semelhantes nos dois ambientes para caracteres de alta herdabilidade, que não são muito influenciados por mudanças ambientais. Já para características de baixa herdabilidade, por serem influenciadas pelo ambiente, pelo fato de as correlações terem sido significativas, houve diminuição da sua intensidade entre os dois ambientes avaliados. A ausência de correlação significativas entre a EAbN nos dois ambientes reforça a ideia de que a seleção com base neste caráter deve ser feita em ambientes distintos, pois a absorção de N é diferente em cada ambiente.

As médias dos caracteres avaliados não variaram muito nos dois ambientes, mas foram em geral maiores em alto N, com exceção de PHE (Tabela 1). Atenção especial

deve ser dada para SPAD e PG, visto ter ocorrido redução de 25% nos valores de ambos em ambiente com baixo suprimento de N. Os valores médios de SPAD foram 47,67 e 35,44, em alto e baixo nível de N, respectivamente. E os de PG foram 2.505,01 e 1.867,74 kg ha⁻¹, em alto e baixo N, respectivamente. Estes resultados sinalizam que os dois caracteres devem ser utilizados diretamente ou por meio de caracteres com alta correlação com eles no melhoramento para EUN quando se deseja selecionar genótipos eficientes para os diferentes níveis de N. Wu et al. (2011) avaliaram 189 linhagens de milho provenientes de germoplasma tropical e temperado em níveis contrastantes de N e observaram redução de 40% na produtividade de grãos em ambiente com baixo suprimento de N, quando comparado ao alto N. A diferença na redução da produtividade entre esses dois trabalhos, em que no presente trabalho houve menor redução, pode ser devida ao fato de o estresse no trabalho de Wu et al. (2011) ter sido maior que o presente trabalho, já que no trabalho de Wu et al. (2011) houve depleção de N na área de baixo suprimento deste nutriente, pois antes de se implantar o experimento foi plantado milho sem adubação nitrogenada com o intuito de exaurir o N presente no solo.

A média de PHE em baixo N foi maior em comparação com a média do mesmo caráter em alto N. Os valores de PHE foram 800,97 e 806,11 g L⁻¹, em alto e baixo N, respectivamente. Cancellier et al. (2011) avaliaram populações de milho tropical em alto e baixo N e encontraram PHE menor em ambiente de alto N em comparação com baixo N. Coelho et al. (1998) e Trindade et al. (2006) observaram este mesmo efeito em avaliações de linhagens de trigo. Mallmann et al. (1993) trabalharam com populações segregantes de trigo e atribuíram tal fato à diminuição do tamanho de grãos em ambiente de baixo N. Grãos menores se ajustam melhor ao cilindro, evitando espaços vazios e possibilitando melhor acomodação dos grãos no momento da aferição do PHE, proporcionando maior peso.

Em relação à precisão do experimento, é possível observar, pelas altas estimativas de acurácia, que o experimento teve boa precisão experimental para todos os caracteres em estudo (Tabela 1). Para a maioria dos caracteres, as estimativas de herdabilidade (h^2), no geral, não variaram entre os ambientes, sendo relativamente maiores em ambiente de alto N (Tabela 1). Segundo Coque e Gallais (2006), em condições de estresse abiótico, há redução da variabilidade genética e, conseqüentemente, da herdabilidade. Atenção especial deve ser dada para PHE e EAbN, em que as acurácias e

herdabilidades foram maiores em baixo N. Isso significa que estes caracteres são importantes para a seleção de genótipos eficientes no uso de N em ambiente de baixo N.

Tabela 1. Estimativas de componentes de variância e herdabilidade no sentido amplo (h^2), médias e acurácia estatística (Ac) para caracteres relacionados com a eficiência do uso de nitrogênio, avaliados em 64 linhagens de milho tropical, em dois níveis contrastantes de nitrogênio

Caractere	Conjunta		Alto N			Baixo N				
	Lin	Lin x N	Lin	h^2	Média	Ac	Lin	h^2	Média	Ac
FM	28,36***	0,12 ^{ns}	15,74***	90,95	68,55	95,37	12,53***	92,65	68,02	96,25
FF	33,13**	0,55**	17,46***	91,86	69,87	95,85	16,90***	88,93	69,38	94,31
PHE	2261,60***	51,23 ^{ns}	1215,50***	52,22	800,97	72,22	1160,50***	61,47	806,11	78,35
SPAD	36,75***	2,05*	14,51***	66,57	47,67	81,58	18,97***	64,11	35,44	80,10
AP	664,64***	5,41*	347,85***	92,35	153,17	96,10	293,25***	91,31	150,66	95,56
AE	332,36***	3,02*	164,09***	91,07	76,50	95,43	152,48***	90,21	76,01	94,98
NNBE	1,20***	0,0122 ^{ns}	0,5422***	75,69	7,30	86,99	0,5877***	86,87	7,20	93,20
NNAE	0,77***	0,00 ^{ns}	0,2730***	79,80	6,13	89,33	0,2618***	83,18	6,31	91,19
DE	0,21***	0,00 ^{ns}	0,1090***	83,87	3,81	91,58	0,0899***	75,65	3,67	86,99
CE	2,43***	0,1653**	1,48***	79,18	12,59	88,98	1,1384***	66,37	11,65	81,44
NFE	4,58***	0,1210***	2,55***	88,57	13,60	94,11	2,1642***	88,56	13,52	94,11
NGE	3475,00***	0,00 ^{ns}	1944***	69,69	258,77	83,48	1544,65***	61,65	234,30	78,54
PG	523384,00***	17942,75*	355500***	83,73	2505,01	91,51	178291***	72,00	1867,74	84,85
P1000	0,0033***	0,0001***	0,00234***	85,65	0,273	92,55	0,0012***	86,56	0,214	93,04
EAbN	0,0630***	0,0290***	0,00288***	47,77	0,4945	69,02	0,0988***	57,14	2,11	75,55
EUtN	67,49***	0,00 ^{ns}	42,76***	75,88	28,84	87,09	31,03**	46,98	30,36	68,62
EUN	165,00***	37,50***	10,98***	83,72	13,92	91,50	198,12***	72,00	62,26	84,85

FM, florescimento masculino (dias); FF, florescimento feminino (dias); PHE, peso hectolitro (g); SPAD, teor de clorofila 15 dias após o FF; AP, altura de planta (cm); AE, altura de espiga (cm); NNBE, número de nós abaixo da espiga superior; NNAE, número de nós acima da espiga superior; DE, diâmetro de espiga (cm); CE, comprimento de espiga (cm); NFE, número de fileiras de grãos na espiga; NGE, número de grãos na espiga; PG, produtividade de grãos (kg ha^{-1}); P1000, peso de mil grãos (kg); EAbN, eficiência na absorção de N (kg kg^{-1}); EUtN, eficiência na utilização de N (kg kg^{-1}); EUN, eficiência no uso de N (kg kg^{-1}).ns, não-significativo; *, ** e *** significativo em $P < 0,1$, $P < 0,05$ e $P < 0,01$ de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

O intervalo de confiança de 99%, calculado para a média das linhagens para EUN em cada nível de N possibilitou a identificação de linhagens eficientes, intermediárias e ineficientes no uso de N. Em baixo N, as linhagens L21, L27, L28, L38, L43 e L63 e, em alto N, as linhagens L6, L10, L16, L17, L21, L28, L40, L50 e L60 tiveram as maiores médias para EUN e foram classificadas como eficientes no uso de N. Em contraste, as linhagens L11, L25, L33, L47, L56 e L61 e as linhagens L1, L3, L7, L8, L22, L25, L37, L42, L47, L50, L61 e L64 tiveram as menores médias em baixo e alto N, respectivamente, tendo sido classificadas como ineficientes no uso de N. As linhagens restantes foram classificadas como intermediárias na EUN. As linhagens que foram eficientes no uso de N em ambientes de baixo nitrogênio podem ser importantes para pequenos produtores que não fazem adubação nitrogenada na quantidade adequada recomendada para a cultura do milho. Em alto N, nove linhagens foram classificadas como eficientes e 12, como ineficientes no uso de N. Estes valores são maiores que em baixo N, em que seis linhagens foram classificadas como eficientes e seis como ineficientes no uso de N. Diante disso, podemos constatar que houve maior variabilidade genética entre as linhagens de milho em ambiente de alto N. Estes resultados são contrários aos relatados por Mundin et al. (2013a), que avaliaram 25 linhagens de milho-pipoca, em baixo e alto N, e encontraram maior variabilidade genética em baixo N. No entanto, segundo Coque e Gallais (2006), o estresse de N tende a reduzir a variabilidade genética das plantas, observado no presente trabalho. As linhagens L21 e L28 se destacaram por serem eficientes no uso de N em ambos os ambientes, alto e baixo N. Estas duas linhagens constituem uma importante fonte de genes para caracteres relacionados à EUN e são promissoras para a produção de híbridos eficientes no uso de N, pois elas tiveram resposta positiva nos dois ambientes avaliados. As linhagens pertencentes a grupos contrastantes podem ser inter cruzadas para geração de população segregante para mapeamento de locos que expressam para caracteres quantitativos (QTL) e estudos de herança de caracteres relacionados à eficiência no uso de N.

Os gráficos de dispersão das estimativas de médias das linhagens das figuras estão divididos em quatro quadrantes (Figuras 1 e 2). No quadrante I, estão as linhagens com médias de EUtN e EAbN acima da média geral; no quadrante II, as linhagens com EUtN acima e EAbN abaixo da média; no quadrante III, as linhagens com valores de

EUtN e EAbN abaixo da média; e no quadrante IV, estão as linhagens com valores de EUtN abaixo e EAbN acima da média. O que se percebe é que as linhagens consideradas eficientes no uso de N citadas acima estão concentradas no quadrante I, estando acima da média para EAbN e EUtN, mostrando que a análise gráfica foi eficiente para detectar as potenciais linhagens em EUN e que as linhagens pertencentes ao quadrante I devem ser selecionadas. No entanto, as linhagens L38 e L50 só estão acima da média em EUtN e a linhagem L27 está acima da média apenas para EAbN. Isto indica que estas linhagens são eficientes no uso de N com alta contribuição de apenas um componente primário da EUN.

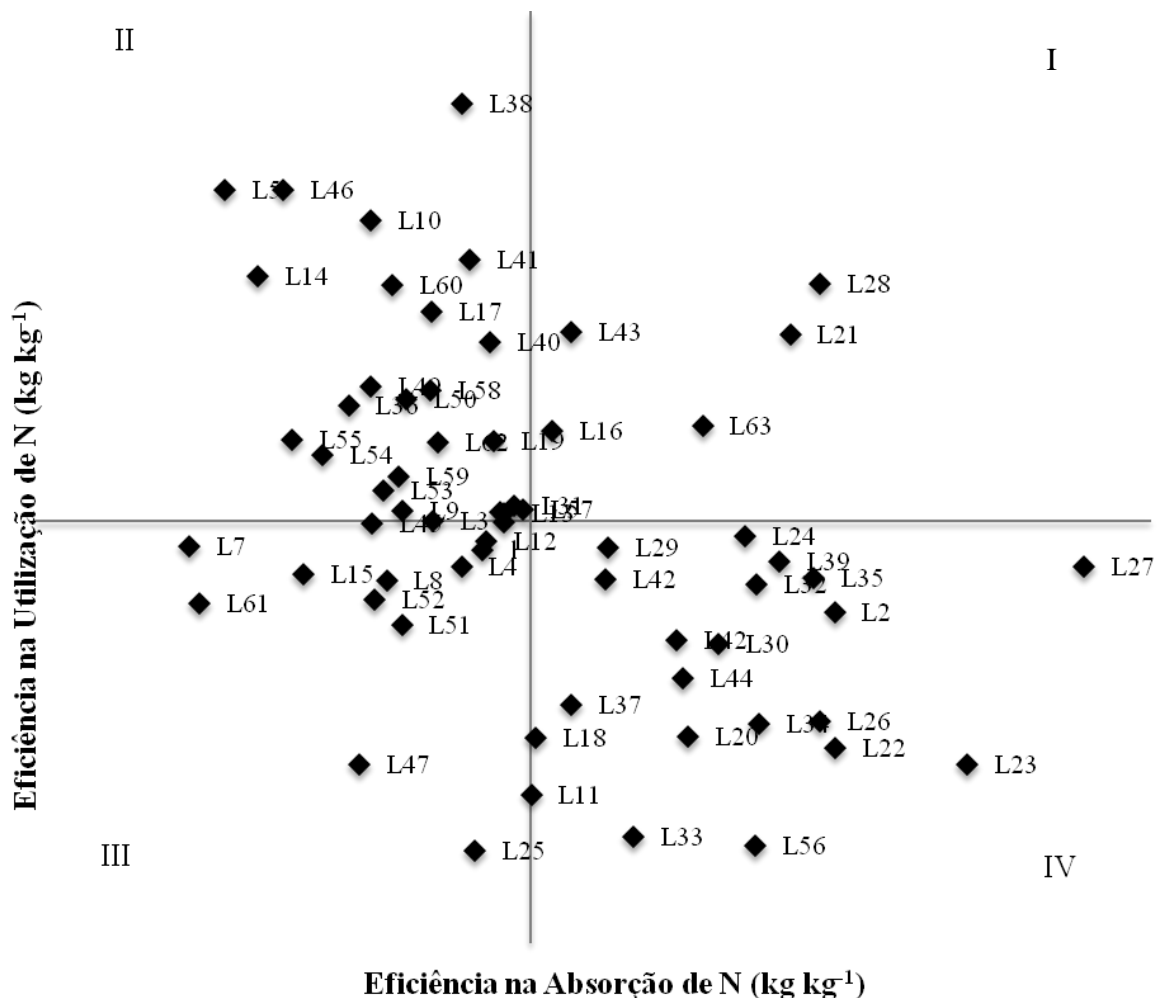


Figura 1. Estimativas de médias das 64 linhagens de milho tropical para eficiência de absorção e utilização de N em baixo N.

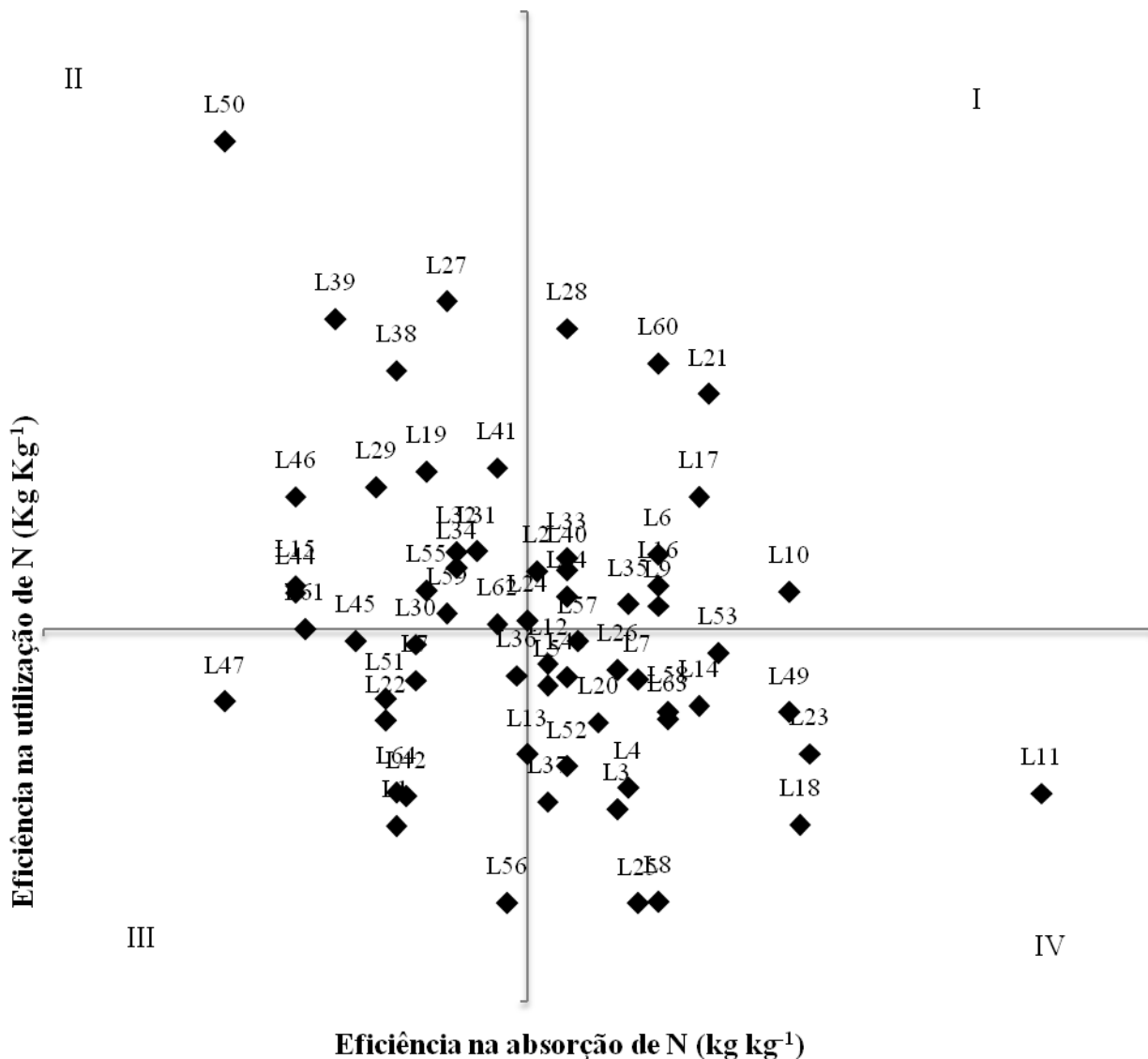


Figura 2. Estimativas de médias das 64 linhagens de milho tropical para eficiência de absorção e utilização de N em alto N.

4.2. Diversidade genética

As 64 linhagens de milho tropical foram avaliadas em relação a 16 caracteres agrônômicos associados com a EUN para diversidade genética. Em cada nível de N, a matriz de distância generalizada de Mahalanobis foi estimada com base nos 16 caracteres avaliados, tendo sido as linhagens agrupadas pelo método de UPGMA. Assim, em cada nível de N, um dendograma foi criado e os grupos de linhagens mais similares, definidos de acordo método de Mojena (1977). Esses autores sugeriram que o dendograma deve ser cortado em função do valor médio de distâncias dos níveis de

fusão e do desvio padrão desses valores de distância. Assim, o dendograma com as linhagens avaliadas em baixo N foi cortado no valor de D^2 de 114,47, o que resultou em oito grupos distintos (Figura 3). A média dos valores de distância genética foi 136,83, variando de 20,92 a 423,99. A maior distância genética foi obtida entre as linhagens L58 e L61, enquanto as linhagens mais similares foram L10 e L17. A linhagem L58 foi classificada como intermediária e a L61, como ineficiente no uso de N por meio das estimativas de médias no intervalo de confiança a 99%.

Em alto N, o dendograma com as linhagens foi cortado no valor de D^2 de 121,82 e resultou na presença de oito grupos distintos de linhagens. A média das distâncias foi 130,29, variando de 15,40 a 475,10. As linhagens mais divergentes foram L7 e L41, enquanto a menor distância foi entre as linhagens L36 e L37. A linhagem L7 foi classificada como ineficiente e a L41, como eficiente no uso de N. Em alto N, houve maior variabilidade genética, pois, apesar de os dois dendogramas apresentarem oito grupos distintos, a amplitude de distância foi maior do que em baixo N. Estes resultados eram esperados, pois, segundo Coque e Gallais (2006), condições de estresse abiótico promovem redução da variabilidade genética. Mesmo com uma significativa redução da variabilidade genética nas linhagens em baixo N, é possível perceber que houve variabilidade razoável neste ambiente, o que é importante para a seleção de linhagens eficientes no uso de N. Mundin et al. (2013b), trabalhando com linhagens de milho-pipoca, avaliadas em alto e baixo P, mostraram que o estresse nutricional reduziu a diversidade genética entre as linhagens. A interpretação dos resultados das médias com base no intervalo de confiança calculado para eficiência no uso de N, em que ocorre a identificação das linhagens eficientes e ineficientes no uso de N, juntamente com os resultados do dendograma gerado pela análise de diversidade genética, é muito útil para o melhoramento de plantas. Com a identificação das linhagens eficientes e as suas respectivas distâncias genéticas, é possível prever cruzamentos com maiores chances de sucesso para obtenção de híbridos de milho mais eficientes no uso de N. A avaliação das linhagens com base no seu comportamento em combinações híbridas é uma das etapas mais importantes e dispendiosas de um programa de melhoramento (Hallauer et al., 1988). Esses resultados são muito importantes na orientação da formação de dialelos no intuito de formação de híbridos mais eficientes no uso de N.

Em baixo N, as seis linhagens identificadas como eficientes no uso de N pertencem a três grupos diferentes, mostrando ocorrência de linhagens divergentes e

eficientes no uso de N, que podem exibir alta heterose quando cruzadas. O que também é válido em alto N, em que as nove linhagens identificadas como eficientes pertencem a quatro grupos diferentes.

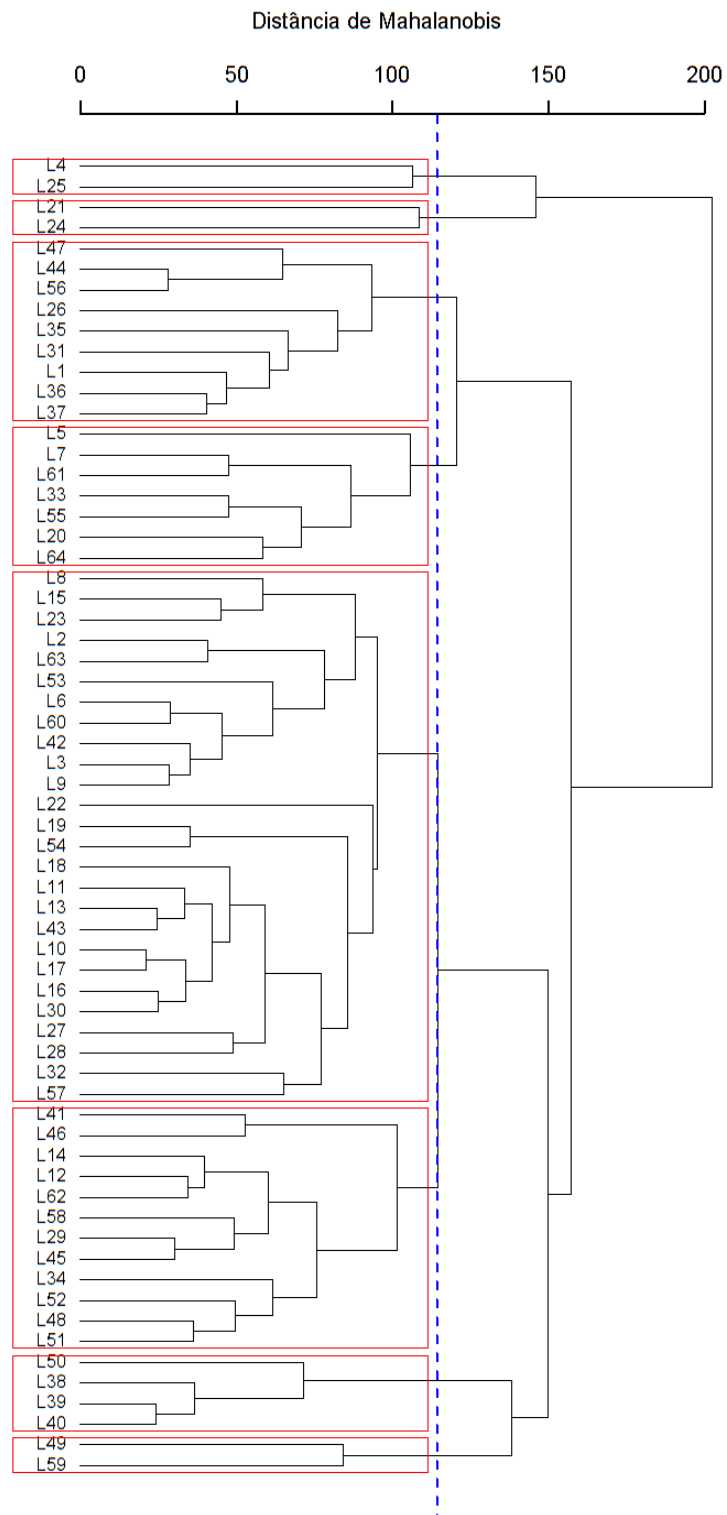


Figura 3. Dendrograma de diversidade genética gerado com base em 16 caracteres agrônômicos avaliados em 64 linhagens de milho tropical em baixo N.

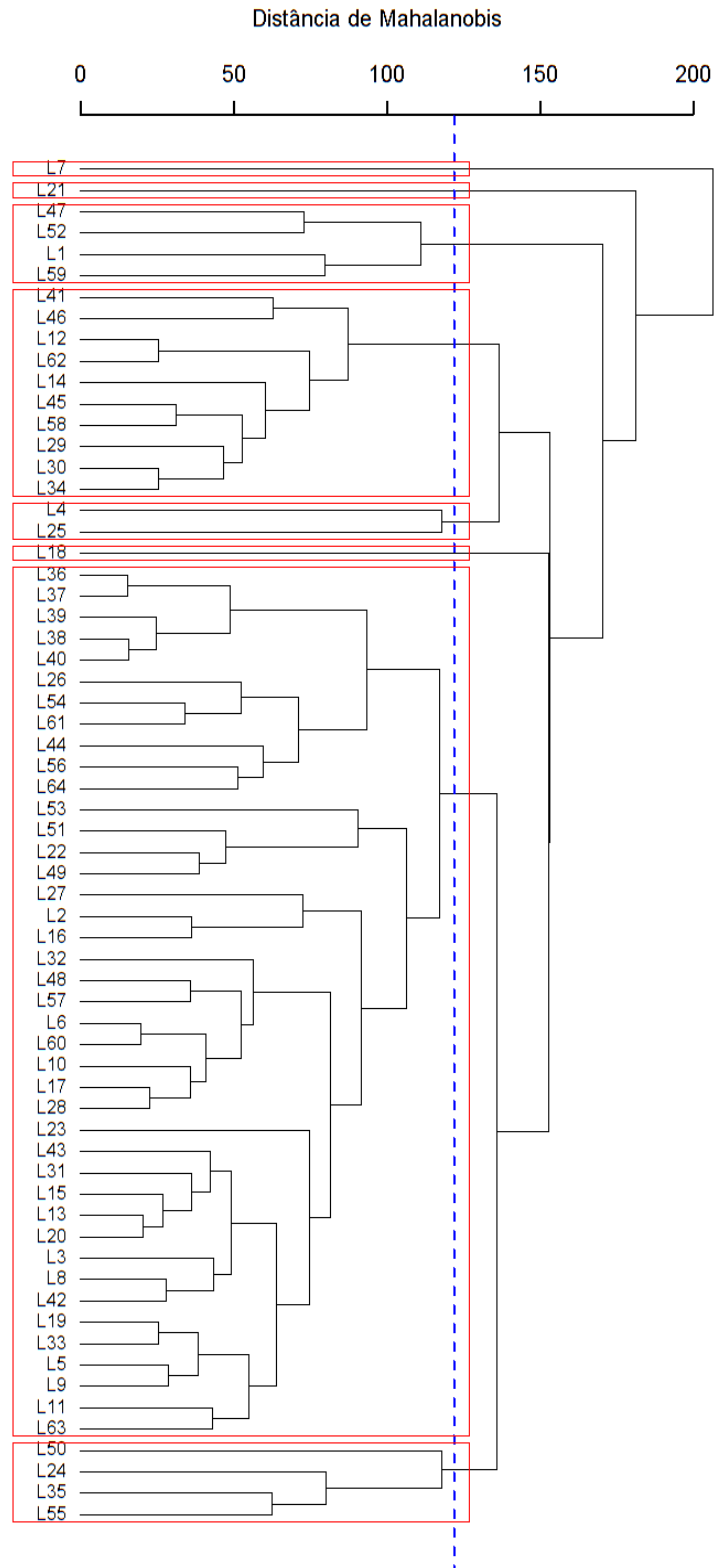


Figura 4. Dendrograma de diversidade genética gerado com base em 16 caracteres agrônômicos avaliados em 64 linhagens de milho tropical em alto N.

A Figura 5 mostra a contribuição relativa de cada caráter para a diversidade genética em baixo e alto N, respectivamente. Em baixo N, os caracteres que mais contribuíram para a diversidade genética foram AP (16,81%) e FM (13,14%) e os caracteres que menos contribuíram foram EUtN de N (1,12%) e EAbN (2,29%). Já em alto N, os caracteres que mais contribuíram com a diversidade genética foram AP (16,72%) e FF (7,79%) e os caracteres que menos contribuíram foram EAbN (1,76%) e PG (1,97). Estes resultados mostram que, nos dois ambientes, AP e o florescimento da planta (FM e FF) foram fatores importantes para a variabilidade genética das linhagens, sendo os caracteres que mais se diferenciaram. Já os caracteres que tiveram menor contribuição para a diversidade genética foram as eficiências de N (EAbN e EUtN) e PG. Estes resultados reforçam a importância de caracteres secundários significativamente correlacionados com as produtividades de grãos e eficiências na absorção e utilização de N para a seleção de linhagens mais EUN e produtivas, já que variaram pouco, dificultando, dessa forma, a seleção das melhores linhagens. Estes dados diferem dos encontrados por Rotilli et al. (2012), que determinaram a diversidade genética entre populações de milho e obtiveram maior contribuição de PG (21,8%) e menor contribuição do comprimento de espiga (6,9%) para diversidade genética. Paixão et al. (2008) avaliaram populações de milho no estado de Alagoas e concluíram que a PG foi o caráter que menos contribuiu para a divergência genética. Rigon et al. (2015) estudaram a divergência genética entre 25 híbridos comerciais de milho e encontraram que AP (38%) foi o caráter que teve maior contribuição relativa para a divergência genética. Os resultados dos trabalhos citados acima foram obtidos em ambientes normais de cultivo, ou seja, sem a presença de estresse. Apesar de PG não ter contribuído significativamente para a diversidade genética, a maior contribuição relativa deste caráter é importante em estudos de populações, em função da escolha das mais divergentes, mas que apresentem elevada produtividade, sendo, na maioria das vezes, o caráter principal para o melhoramento de milho.

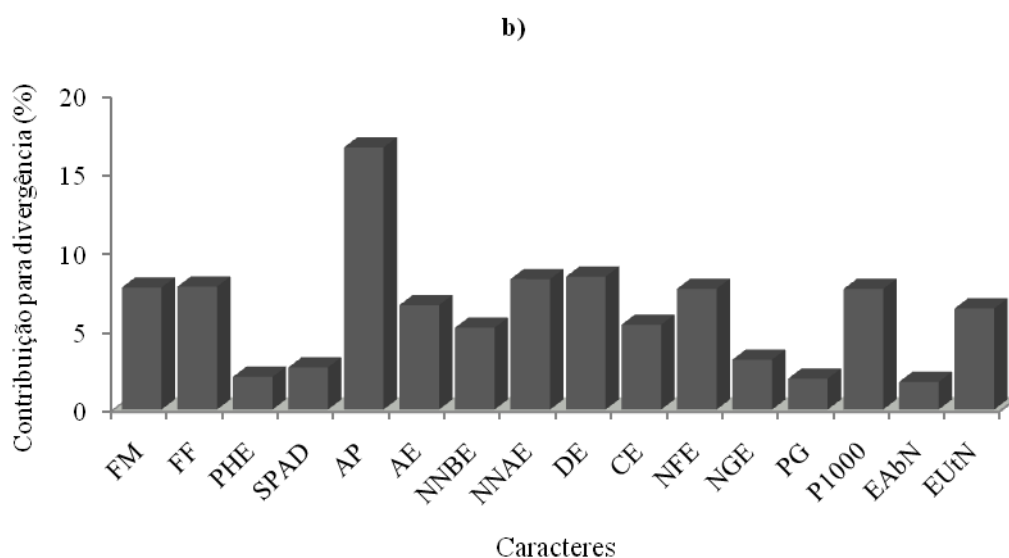
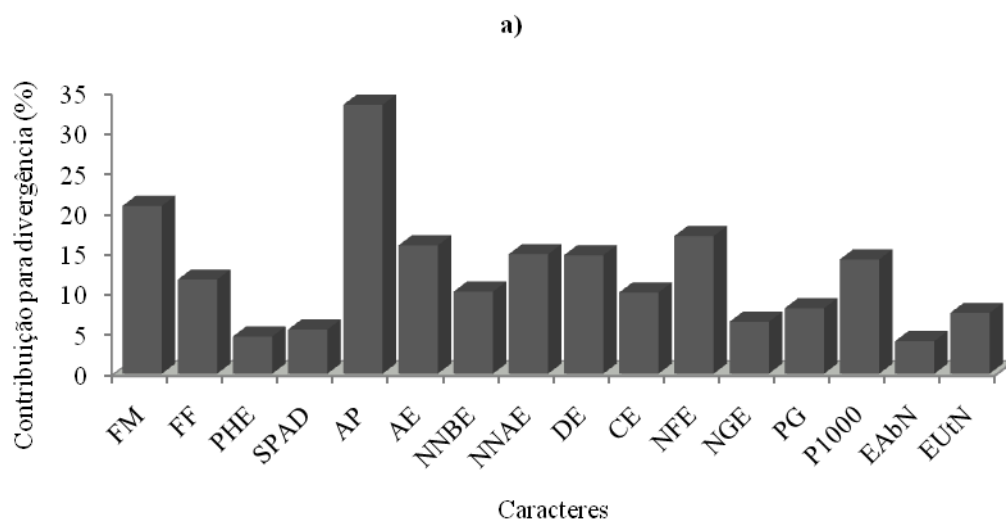


Figura 5. Contribuição relativa (%) dos 16 caracteres para a diversidade genética avaliados em 64 linhagens de milho tropical. a) Baixo nitrogênio e b) Alto nitrogênio.

4.3. Contribuições dos caracteres EAbN e EUtN para EUN

Como foi observada variabilidade genética para a EUN e para os seus componentes primários EAbN e EUtN, em alto e baixo N, as contribuições da EAbN e EUtN para EUN foram estimadas com o emprego de propriedades de logaritmo (Tabela 2). Com base nos resultados, podemos concluir que as proporções de contribuições (%) da EUtN e EAbN para a EUN não se alteram em função das diferentes níveis de N no solo. Entretanto, a proporção de contribuição da EUtN foi maior que a contribuição da EAbN para a EUN, nos dois

ambientes avaliados. A contribuição da EAbN para a EUN, em alto e baixo N, foi de 18,82% e de 20,79%, respectivamente. Já a contribuição da EUtN para a EUN, em alto e baixo N, foi de 78,35% e de 75,87%, respectivamente. Deste modo, a variabilidade genética para EUN, verificada para os dois ambientes, foi maior em decorrência da proporção da contribuição da EUtN do que da EAbN. Os resultados em ambiente de baixo N estão consonantes com aqueles encontrados por Moll et al. (1982), que mostraram que, em ambiente com estresse por falta de N, a contribuição da EUtN foi maior que a da EAbN para a EUN. Segundo Gallais e Hirel (2004), em baixa disponibilidade de N no solo, o enchimento dos grãos depende mais da remobilização do N de outras partes da planta para os grãos, gerando maior contribuição relativa da EUtN em relação à EAbN. Em alto N, os resultados foram contrários aos encontrados por Moll et al. (1982), que mostraram que, em alta disponibilidade de N no solo, a contribuição da EAbN é maior em do que a da EUtN para a EUN. As possíveis explicações para esta diferença nos resultados encontrados podem estar nas diferenças nos genótipos avaliados nos dois experimentos quanto à eficiência na absorção e utilização de N, tipos de solo e épocas de aplicação diferentes.

Tabela 2. Proporção da contribuição dos caracteres eficiência na absorção (EAbN) e da eficiência na utilização de N (EUtN) na eficiência no uso de N (EUN) em alto e baixo N

Caractere	Logaritmo	Dose de N	RyXi	S _{xi} /S _{yi}	Contribuição (%)
EUN	Y				
EUtN	X ₁	AN	0,7948	0,9858	78,35
		BN	0,7417	1,0229	75,87
EAbN	X ₂	AN	0,3222	0,5843	18,82
		BN	0,3041	0,7166	21,79

ryxi: coeficiente de correlação entre Y e Xi; S_{xi}, S_{yi}: desvio padrão para Xi e Yi, respectivamente.

4.4. Correlações fenotípicas e análise de trilha

Em baixo N, houve correlações significativas ($P < 0,1$) entre EUN e FF, FM, PHE, SPAD, AP, DE, CE, NGE, EAbN e EUtN (Tabela 3). Já em alto N, as correlações entre EUN foram significativas ($P < 0,1$) com FM, FF, SPAD, AP, AE, NNBE, CE, NGE, EUtN e EAbN. Nos dois ambientes, as únicas correlações negativas e significativas ($P < 0,01$) com a EUN foram FM e FF, que variaram de -0,42 a -0,54. As correlações dos caracteres secundários com a EUN, que foram significativas ($P < 0,1$) somente em um ambiente, alto ou baixo N, foram PHE e DE, em baixo N, e AE e NNBE, em alto N. Os resultados de correlação são importantes para o melhoramento, visto que, pela avaliação

e seleção de plantas por caracteres correlacionados com a EUN, podemos selecionar indiretamente plantas mais eficientes no uso de N, sem necessidade de fazer quantificações de N na planta e no grão. Isso pode acelerar os ganhos com melhoramento.

Atenção especial deve ser dada às correlações entre a EUN e os florescimentos (FF e FM). Percebe-se que linhagens mais precoces foram mais eficientes no uso de N. Como os híbridos atuais são precoces, os genes para melhor EUN podem ser selecionados juntamente com precocidade. Com isso, genótipos mais precoces podem ser ótimas fontes de genes favoráveis à EUN. Outro fato interessante é que a seleção indireta com base no PHE e DE só pode ser feita para EUN em baixo N. Em contraste, a seleção com base na AE e NNBE somente é aconselhável, com base nos resultados encontrados, em ambientes de alto N, pois nesses ambientes houve correlações significativas.

Observou-se correlação negativa significativa ($P < 0,05$) entre a EAbN e a EUtN nos dois níveis de N (Tabela 3). Segundo Do Vale et al. (2012), as plantas de milho nos estádios iniciais de desenvolvimento provavelmente absorvem melhor os nutrientes que utilizam, o que torna a EAbN o componente mais importante nesses estádios. Entretanto, com o decorrer do desenvolvimento, o componente da utilização tem sua eficiência aumentada em detrimento da absorção. Assim, tanto em estágios iniciais como nos mais avançados, os componentes primários de uso de nutrientes não apresentam proporcionalidade. Gallais e Hirel (2004) encontraram resultados parecidos em milho e comentaram que este fenômeno pode ser devido a três fatores: atividades dos transportadores e das enzimas envolvidas na assimilação de N, que ocorrem em proporções diferentes; degradação de proteínas na folha, que contribuem, adicionalmente, para a produção; e maior utilização de N quando a absorção é menor ou nula. No presente trabalho, foi constatado que, em razão da elevada correlação entre a EUN e EUtN nas duas disponibilidades de N (0,78 e 0,70 em alto e baixo N, respectivamente), as diferenças genéticas quanto à EUN foram decorrentes, em sua maior parte, da EUtN.

Com exceção do componente primário da EUN, a EUtN, a mais alta correlação encontrada entre os caracteres secundários e a EUN foram com NGE. As correlações foram 0,60 e 0,47, em baixo e alto N, respectivamente (Tabela 3). Estes resultados são muito importantes, pois, segundo Echart et al. (2013), o componente que mais se

correlaciona positivamente com PG é NGE. Como na cultura do milho o mais importante são altas produtividades de grãos, é muito importante a identificação de caracteres que, além de se correlacionarem com a EUN, também se correlacionem positivamente com PG.

Tabela 3. Estimativas de correlações fenotípicas entre caracteres relacionados à eficiência de uso de nitrogênio, avaliados em 64 linhagens de milho tropical em alto (acima da diagonal) e baixo N (abaixo da diagonal). Estimativas de correlações de Spearman entre os mesmos caracteres avaliados em alto e baixo N são apresentadas na diagonal

Caracteres	FM	FF	PHE	SAPAD	AP	AE	NNBE	NNAE	DE	CE	NFE	NGE	PG	P1000	EAbN	EUtN	EUN
FM	0,91***	0,90***	-0,17**	-0,09 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,21*	-0,13 ^{ns}	-0,25**	0,02 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,21*	-0,43***	-0,12 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-0,36***	-0,43***
FF	0,90***	0,84***	-0,19 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,25**	-0,54***	-0,10 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,50***	-0,54***
PHE	-0,13 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	0,51***	-0,02 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,06 ^{ns}
SPAD	0,01 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,62***	0,18 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,22*	-0,06 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,22*
AP	-0,03 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,89***	0,78***	0,43***	0,27**	0,21*	0,35***	0,00 ^{ns}	0,27**	0,38***	0,12 ^{ns}	0,31**	0,22*	0,38***
AE	0,14 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,76***	0,88***	0,76***	-0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,29**	0,29**	-0,06 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,29**
NNBE	0,20 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	0,38***	0,71***	0,79***	-0,06 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,24*	0,23*	-0,02 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,23***
NNAE	-0,29**	-0,14 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,32**	0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,87***	0,16 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,12 ^{ns}
DE	-0,26**	-0,18 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	0,23*	0,01 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,81***	0,20 ^{ns}	0,42***	0,24*	0,18 ^{ns}	0,57***	0,50***	-0,13 ^{ns}	0,18 ^{ns}
CE	-0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,21*	0,22*	0,03 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,59***	-0,01 ^{ns}	0,29**	0,35***	0,18 ^{ns}	0,42***	0,05 ^{ns}	0,35***
NFE	-0,22*	-0,14 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,25**	0,19 ^{ns}	0,46***	-0,16 ^{ns}	0,80***	0,49***	0,03 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,03 ^{ns}
NGE	-0,40***	-0,37***	0,17 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,29**	0,28**	0,18 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,30**	0,32**	0,47***	0,60***	0,47***	-0,34***	0,32***	0,28**	0,47***
PG	-0,42***	-0,45***	0,25**	0,33***	0,26**	0,16 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,32***	0,20 ^{ns}	0,60***	0,70***	0,14 ^{ns}	0,32**	0,78***	1,00***
P1000	-0,11 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,70**	-0,25**	0,00 ^{ns}	0,55***	0,21*	-0,14 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,78***	0,24*	-0,05 ^{ns}	0,14 ^{ns}
EAbN	-0,05 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,45***	0,10 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,48***	-0,10 ^{ns}	0,22*	0,34***	0,33***	0,08^{ns}	-0,31**	0,32**
EUtN	-0,37***	-0,43***	0,34***	-0,03 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,27**	0,42***	0,70***	-0,11 ^{ns}	-0,40***	0,49***	0,78***
EUN	-0,42***	-0,45***	0,25**	0,33***	0,26**	0,16 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,21*	0,32***	0,20 ^{ns}	0,60***	1,00***	0,15 ^{ns}	0,34***	0,70***	0,70***

FM, florescimento masculino (dias); FF, florescimento feminino (dias); PHE, peso hectolitro (g); SPAD, teor de clorofila 15 dias após o FF; AP, altura de planta (cm); AE, altura de espiga (cm); NNBE, número de nós abaixo da espiga superior; NNAE, número de nós acima da espiga superior; DE, diâmetro de espiga (cm); CE, comprimento de espiga (cm); NFE, número de fileiras de grãos na espiga; NGE, número de grãos na espiga; PG, produtividade de grãos (kg ha⁻¹); P1000, peso de mil grãos (kg); EAbN, eficiência de absorção de N (kg kg⁻¹); EUtN, eficiência de utilização de N (kg kg⁻¹); EUN, eficiência de uso de N (kg kg⁻¹). ns, não-significativo; *, ** e *** significativo em P< 0,1, P<0,05 e P<0,01 de probabilidade, respectivamente.

Os coeficientes de correlação, apesar de serem de grande utilidade na quantificação da magnitude e direção das influências de fatores na determinação de caracteres complexos, não dão a exata importância dos efeitos diretos e indiretos destes fatores. Estes estudos sobre o desdobramento das correlações são feitos pela análise de trilha, que consiste no estudo dos efeitos diretos e indiretos de caracteres sobre um caráter principal, cujas estimativas são obtidas por meio de equações de regressão (Wright, 1921). Diante disso, foi feita uma análise de trilha com uma cadeia para cada nível de N. Nesta análise, o caráter principal foi EUN, e outros 13 caracteres agrônômicos foram considerados caracteres explicativos (Tabelas 4 e 5). Nos dois ambientes, é perceptível que há muita diferença entre correlação total do caráter em estudo com EUN e o seu efeito direto sobre o caráter principal. A principal vantagem da análise de trilha é a decomposição dos coeficientes de correlação fenotípicos em efeitos diretos e indiretos, evidenciando a relação de causa e efeito entre os caracteres (Mundim et al., 2013a). FM teve correlação de -0,42 e -0,43, em baixo e alto N, respectivamente. No entanto, os efeitos diretos de FM foram de 0,20 em ambos os ambientes. Houve uma inversão dos efeitos, pois mesmo FM sendo correlacionado negativamente com EUN, o seu efeito direto foi positivo. O caráter que mais contribuiu indiretamente para a EUN via FM foi FF: -0,435 e -0,584, em baixo e alto N, respectivamente. Assim, para selecionar linhagens via FM, é importante que se tenha atenção no FF como caráter de seleção, mesmo porque FF também teve correlação alta e negativa: -0,45 e -0,54, em baixo e alto N, respectivamente.

Diferentemente do FM, o FF teve um alto e negativo efeito direto. Os valores foram -0,483 e -0,649, em baixo e alto N, respectivamente. O efeito indireto de FM via FF para a EUN foi de 0,180, em ambos os ambientes. Em baixo N, SPAD teve correlação de 0,330 com EUN, e o seu efeito direto foi 0,271. Em contraste, em alto N, SPAD teve correlação de 0,220 com EUN, e o seu efeito direto foi de 0,090. Esses resultados mostram que a seleção pelo SPAD só será eficiente para obter genótipos com maiores EUN em baixo N, pois em alto N o efeito direto de SPAD na EUN é muito baixo. WU et al. (2011) avaliaram 189 linhagens de milho, em alto e baixo N, e encontraram efeitos diretos de SPAD sobre EUN de alta magnitude, em ambiente de baixo N.

Os coeficientes de determinação nos dois ambientes tiveram valores razoáveis para as variáveis em estudo. Os valores foram de 0,597 e 0,651, para baixo e alto N, respectivamente. Nos dois ambientes, o caráter que teve a maior correlação positiva

com EUN foi NGE: 0,6 e 0,47, em baixo e alto N, respectivamente. Além de ter alta correlação total, NGE também teve alto efeito direto com EUN: 0,418 e 0,447, em baixo e alto N, respectivamente. Estes resultados estão consonantes com Wu et al. (2011), que encontraram, por meio da análise de trilha, que NGE tem o maior efeito direto positivo na EUN. Echart et al. (2013), em uma revisão sobre os caracteres envolvidos na determinação de produtividade de grãos em milho, chegaram à conclusão que NGE é o principal componente de produtividade de grãos em milho e está fortemente associado com a EUN. No melhoramento de milho para EUN, é necessário, também, que se pense na produtividade de grãos. No fim de um programa de melhoramento de milho, é preciso que se desenvolvam cultivares produtivas, pois o principal objetivo é a produtividade, que, de fato, levará a ganho econômico.

Tabela 4. Efeitos diretos e indiretos estimados envolvendo a variável dependente eficiência de uso de nitrogênio (EUN, kg kg⁻¹) e 13 caracteres agrônômicos como variáveis explicativas, avaliados em 64 linhagens de milho tropical em baixo nível de nitrogênio.

Caráter principal	Efeito de associação	Caracteres explicativos												
		FM	FF	PHE	SPAD	AP	AE	NNBE	NNAE	DE	CE	NFE	NGE	P1000
EUN	Direto	0,201	-0,484	0,127	0,271	0,212	-0,084	0,034	-0,031	-0,236	0,101	0,123	0,418	0,300
	Indireto via FM		0,180	-0,026	0,002	-0,006	0,028	0,040	-0,058	-0,052	-0,006	-0,044	-0,080	-0,022
	Indireto via FF	-0,436		0,068	-0,019	0,005	-0,044	-0,087	0,068	0,087	-0,005	0,068	0,179	0,019
	Indireto via PHE	-0,017	-0,018		-0,001	0,004	0,018	0,011	-0,0013	-0,018	-0,020	0,020	0,022	-0,009
	Indireto via SPAD	0,003	0,011	-0,003		-0,024	-0,030	-0,052	-0,011	0,062	0,057	0,019	0,049	0,038
	Indireto via AP	-0,007	-0,002	0,006	-0,019		0,161	0,080	0,068	0,002	0,047	-0,013	0,061	-0,002
	Indireto via AE	-0,012	-0,008	-0,012	0,009	-0,064		-0,059	-0,001	0,014	-0,003	-0,005	-0,023	0,023
	Indireto via NNBE	0,007	0,007	0,003	-0,007	0,013	0,024		0,001	-0,004	-0,006	0,009	0,006	-0,009
	Indireto via NNAE	0,010	0,004	0,000	0,001	-0,010	0,000	-0,001		-0,005	0,005	-0,006	-0,006	0,000
	Indireto via DE	0,062	0,043	0,033	-0,054	-0,002	0,040	0,028	-0,035		-0,028	-0,109	-0,071	-0,130
	Indireto via CE	-0,003	0,001	-0,016	0,021	0,022	0,003	-0,016	-0,017	0,012		-0,016	0,033	0,021
	Indireto via NFE	-0,027	-0,017	0,020	0,009	-0,007	0,007	0,031	0,023	0,056	-0,020		0,058	-0,017
	Indireto via NGE	-0,167	-0,155	0,071	0,075	0,121	0,117	0,075	0,075	0,125	0,134	0,197		-0,063
	Indireto via P1000	-0,033	-0,012	-0,021	0,042	-0,003	-0,081	-0,075	0,000	0,165	0,063	-0,042	-0,045	
	Total		-0,420	-0,450	0,250	0,330	0,260	0,160	0,010	0,080	0,210	0,320	0,200	0,600
	Coefficiente de determinação													0,597
	Efeito da variável residual													0,635

FM, florescimento masculino (dias); FF, florescimento feminino (dias); PHE, peso hectolitro (g); SPAD, teor de clorofila 15 dias após o FF; AP, altura de planta (cm); AE, altura de espiga (cm); NNBE, número de nós abaixo da espiga superior; NNAE, número de nós acima da espiga superior; DE, diâmetro de espiga (cm); CE, comprimento de espiga (cm); NFE, número de fileiras de grãos na espiga; NGE, número de grãos na espiga; P1000, peso de mil grãos (kg).

Tabela 5. Efeitos diretos e indiretos estimados envolvendo o caráter dependente eficiência de uso de nitrogênio (EUN, kg kg⁻¹) e 13 caracteres agronômicos como caracteres explicativos, avaliados em 64 linhagens de milho tropical em alto nível de nitrogênio

Caráter principal	Efeito de associação	Caracteres Explicativos												
		FM	FF	PHE	SPAD	AP	AE	NNBE	NNAE	DE	CE	NFE	NGE	P1000
EUN	Direto	0,203	-0,649	0,111	0,090	0,170	-0,200	0,309	0,030	-0,320	0,213	-0,028	0,448	0,381
	Indireto via FM		0,183	-0,035	-0,018	-0,002	0,026	0,043	-0,026	-0,051	0,004	-0,004	-0,043	-0,024
	Indireto via FF	-0,584		0,123	0,104	0,039	-0,033	-0,117	0,058	0,130	-0,052	-0,039	0,162	0,065
	Indireto via PHE	-0,019	-0,021		-0,002	-0,002	-0,003	-0,017	0,002	-0,016	-0,019	-0,019	-0,022	-0,006
	Indireto via SPAD	-0,008	-0,015	-0,002		0,016	0,016	0,012	0,006	0,010	-0,005	0,002	0,0163	-0,005
	Indireto via AP	-0,002	-0,010	-0,003	0,031		0,132	0,073	0,046	0,036	0,059	0,000	0,046	0,020
	Indireto via AE	-0,026	-0,010	0,006	-0,036	-0,156		-0,152	0,016	-0,016	-0,036	-0,016	-0,058	0,012
	Indireto via NNBE	0,065	0,056	-0,046	0,040	0,133	0,235		-0,019	0,046	0,050	0,062	0,074	-0,006
	Indireto via NNAE	-0,004	-0,003	0,001	0,002	0,008	-0,0024	-0,002		0,005	0,002	0,004	0,005	-0,002
	Indireto via DE	0,080	0,064	0,045	-0,035	-0,067	-0,026	-0,048	-0,051		-0,064	-0,134	-0,077	-0,182
	Indireto via CE	0,004	0,017	-0,036	-0,013	0,074	0,038	0,034	0,013	0,043		-0,002	0,062	0,038
	Indireto via NFE	0,001	-0,002	0,005	-0,001	0,000	-0,002	-0,006	-0,004	-0,012	0,000		-0,014	0,001
	Indireto via NGE	-0,094	-0,112	-0,090	0,081	0,121	0,130	0,107	0,072	0,107	0,130	0,219		-0,152
	Indireto via P1000	-0,046	-0,038	-0,019	-0,023	0,046	-0,023	-0,008	-0,023	0,217	0,069	-0,015	-0,130	
	Total		-0,430	-0,540	0,060	0,220	0,380	0,290	0,230	0,120	0,180	0,350	0,030	0,470
Coeficiente de determinação														0,651
Efeito da variável residual														0,5907

FM, florescimento masculino (dias); FF, florescimento feminino (dias); PHE, peso hectolitro (g); SPAD, teor de clorofila 15 dias após o FF; AP, altura de planta (cm); AE, altura de espiga (cm); NNBE, número de nós abaixo da espiga superior; NNAE, número de nós acima da espiga superior; DE, diâmetro de espiga (cm); CE, comprimento de espiga (cm); NFE, número de fileiras de grãos na espiga; NGE, número de grãos na espiga; P1000, peso de mil grãos (kg).

5. CONCLUSÕES

Há variabilidade genética entre as linhagens de milho tropical para caracteres relacionados à EUN.

As linhagens eficientes no uso de N em alto N são L6, L10, L16, L17, L21, L28, L40, L50 e L60. As linhagens eficientes em baixo N são L21, L27, L28, L38, L43 e L63. As linhagens 21 e 28 se destacam por serem eficientes em ambos os níveis de N.

A eficiência de utilização de N contribui com mais de 75% da variação para EUN, independentemente do nível de N.

A diferença de disponibilidade de N no solo influencia o padrão de agrupamento das linhagens de milho pela divergência genética.

O caráter número de grãos por espiga está fortemente associado com EUN e pode ser utilizado como um caráter secundário na seleção de linhagens de milho eficientes no uso de N.

6. REFERÊNCIAS

Abdel-Ghani, A.H.; Kumar, B.; Reyes-Matamoros, J.; Gonzalez-Portilha, P.J.; Jansen, C.; Martin, J.P.S.; Lee, M.; Lübberstedt, T. (2013) Genotypic variation and relationships between seedlings and adult plant traits in maize (*Zea mays* L.) inbred lines grown under contrasting nitrogen levels. *Euphytica* 189: 123-133.

Abe, A.; Odetimirin, V.O.; Menkir, A.; Moose, S.P.; Olaniyan, A.B. (2013) Performance of tropical maize hybrids under conditions of low and optimum levels of nitrogen fertilizer application grain yield, biomass production and nitrogen accumulation. *Maydica*, 58:141-150.

Agricultor que plantou milho da Dekalb bate recorde mundial de produtividade.

Agrolink. Disponível em: http://www.agrolink.com.br/noticias/agricultor-que-plantou-milho-da-dekalb-bate-recorde-mundial-de-produtividade_211778.html.

Acessado dia 09 de setembro de 2015.

Badu-Apraku, B.; Akinwale, R.O.; Franco, J.; Oyekunle, M. (2012) Assessment of Reliability of Secondary Traits in Selecting for Improved Grain Yield in Drought and Low-Nitrogen Environments. *Crop Science*, 52:2050-2062.

- Banziger, M.; Setimela, P. S.; Hodson, D.; Vivek, B. (2004) Breeding for improved drought tolerance in maize adapted to southern Africa. *in* "New directions for a diverse planet". Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, 26 Sep – 1 Oct, Brisbane, Australia. Published on CDROM.
- Beadle, G.W. (1978) Teosinte and the origin of maize. In: Walden, D.B (ed.) *Maize breeding and genetics*. New York, Jhon Wiley and Sons, 8:113-141.
- Bremner, J.M.; Mulvaney, C.S. (2005) Nitrogen total. In: PAGE. A.L. (Ed.). *Methods of soil analysis*. 2. ed. Madison: Soil Science Society of America, Part 2, p. 595-624. 1982.
- Cancellier, L.L.; Afféri, F.S.; Carvalho, E.V.; Dotto, M.A.; Leão, F.F. (2011) Eficiência de uso de nitrogênio e correlação fenotípica em populações tropicais de milho no Tocantins. *Revista Ciência Agronômica*, v.42, n.1, p.139-148, jan-mar.
- Coelho, M.A.O.; Souza, M.A.; Sedyama, T.; RIBEIRO, A.C.; Sedyama, C.S. (1998) Resposta da produtividade de grãos e outras características agronômicas do trigo embrapa-22 irrigado ao nitrogênio em cobertura. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, v.22, p.55-561.
- Coque, M.; Gallais, A. (2006) Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 1205-1220.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos: V.1, safra 2013/2014, N.10 décimo levantamento. Brasília, DF, Julho 2014. 89 p.
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J.; Carneiro, P.C.S. (2001) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Editora UFV, V.2, Viçosa-MG, 390p.
- Cruz, J.C.; Karam, D.; Monteiro, M.A.R.; Magalhães, P.C. (2008) A cultura do milho. *Embrapa Milho e Sorgo*, Sete Lagoas- MG. 517p.
- Dovale, J.C.; Fritsche-Neto, R.; Bermudez, F.; Miranda, G.V. (2012) Efeitos gênicos de caracteres associados à eficiência no uso de nitrogênio em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.47, n.3, p.385-392, março.

- Echart, L.; Nagore, L.; Matteo, J.; Cambareri, M.; Robles, M.; Maggiora, A.D. (2013) Grain yield determination and resource use efficiency in maize hybrids released in different decades. *Agricultural Chemistry*. Intech, Chapter 2, p. 19-36.
- Falconer, D.S.; Mackay, T.F.C. (1996) *Introduction to quantitative genetics*. 4th Ed. Longman Hallow, London.
- Ferro, R.A.; Brichette, I.; Evgenidis, G.; Karamaligkas, C.; Moreno-Gonzalez, J. (2007) Variability in European maize (*Zea mays* L.) landraces under high and low nitrogen inputs. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54: 295-308.
- Gallais, A.; Coque, M.; Bertin, P. (2008) Response to selection of a maize population for adaptation to high or low nitrogen fertilization. *Maydica*, 53:21-18.
- Gallais, A.; Coque, M. (2005) Genetic variation and selection for nitrogen use efficiency in maize: a synthesis. *Maydica*, 50:531-547.
- Gallais, A.; Hirel, B. (2004) Na approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Experimental Botany*, v.55, p.295-306.
- Hirel, B.; Bertin, P.; Quilleré, I.; Bourdoncle, W.; Attagnant, C.; Dellay, C.; Gouy, A.; Cadiou, S.; Retailiau, C.; Falque, M.; Gallais, A. (2001) Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. *Plant Physiology*, 125(3):1258-70.
- Hallauer, A.R.; Miranda Filho, J.B. (1988) *Quantitative genetics in maize breeding*. Ames. Iowa State University Press. 2 ed, 468p.
- Jandrey, W.F.; Artuzo, F.D.; Corassa, G.M.; Silva, V.R.; Panno, F. (2012) Viabilidade econômica de diferentes fontes de nitrogênio aplicadas em cobertura na cultura do milho. *Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia*, v.8, N.14; p. 947-956.
- Mallmann, I.L.; Neto, J.F.B.; Carvalho, F.I.F.; Federizzi, L.C. (1994) Mecanismos de seleção aplicados sobre o caráter tamanho de grãos em populações segregantes de trigo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.29, n.03, p.427-437.

- Miranda, G.V.; Godoy, C.L.; Galvão, J.C.C.; Santos, I.C.; Eckert, F.R.; Souza, L.V. (2005) Selection of discrepant maize genotypes for nitrogen use efficiency by a chlorophyll meter. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 5:451-459.
- MOJENA, R. (1977) Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. *The Computer Journal* 20: 359-363
- Moll, R. H.; Kamprath, E. J.; Jackson, W. A. (1982) Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. *Agronomy Journal*, v. 74, n. 03, p. 562-564.
- Monneveux, P.; Zaidi, P.H.; Sanches, C. (2011) Population Density and Low Nitrogen affects yield – Associated traits in tropical Maize. *Crop Science*, 45:535-545.
- Montgomery, D.C.; Peck, E.A. (1981) Introduction to linear regression analysis. New York : J. Wiley, 504p.
- Mundim, G.B.; Viana, J.M.S.; Maia, C. (2013b) Early evaluation of popcorn inbred lines for phosphorus use efficiency. *Plant Breeding*, 132, 613-619.
- Mundim, G.B.; Viana, J.M.S.; Maia, C.; Paes, G.P.; Delima, R.O. (2013a) Genetic diversity and path analysis for nitrogen use efficiency in popcorn inbred lines. *Euphytica*, 191:291-299.
- Oliveira, L.R.; Miranda, G.V.; Delima, R.O.; Fritsche-Neto, R.; Galvão, J.C.C. (2013) Eficiência de absorção e utilização de nitrogênio e atividade enzimática em genótipos de milho. *Revista Ciência Agronômica*, v.44, n.3, p.614-621, jul-set.
- O'Neill, P.M.; Shanahan, J.F.; Schepers, J.D. (2006) Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water condition. *Crop Science*, v.46, p. 681-687.
- Paes, M.C.D. (2008) Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. In: “A cultura do milho”. Embrapa, Sete Lagoas, p.47-60.
- Paixão, S.L.; Cavalcante, M.; Ferreira, P.V.; Madalena, J.A.S.; Pereira, R.G. (2008) Divergência genética e avaliação de populações de milho em diferentes ambientes no estado de Alagoas. *Revista Caatinga*, v.21, n.04, p.191-195.

- Peixoto, M.C. (2014) O milho no Brasil, sua importância e evolução. Artigos Pioner. Acessado dia 03/01/2015 em: <http://www.pioneersementes.com.br>.
- Resende, M.D.V.; Duarte, J.B. (2007) Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. *Pesquisa Agropecuária Tropical*,37(2): 182-194, setembro.
- Ritchie, S.W.; Hanway, J.J.; Benson, G.O. (2003) Como a planta de milho se desenvolve. *Arquivo do agrônomo - nº 15, informações agrônomicas nº 103 – setembro*.
- Rigon, J.P.G.; Capuani, S.; Rigon, C.A.G. (2015) Genetic variation and selection for nitrogen use efficiency in maize: a synthesis. *Bragantia*, Campinas, v. 74, n. 2, p.156-160.
- Rotili, E.A.; Cancellier, L.L.; Dotto, M.A.; Peluzio, J.M.; Carvalho, E.V. (2012) Divergência genética em genótipos de milho, no Estado do Tocantins. *Revista Ciência Agronômica*, v.43, n.3, p.516-521, jul-set.
- Safra Mundial de Milho 2014/15 – 10º Levantamento do USDA.
- Singh, Y.P.; Kumar, A.; Chauhan, B.P.S. (1981) Genetic divergence in pearl millet. *The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding*, v.41, n.1.
- Souza, L.V.; Miranda, G.V.; Galvão, J.C.C.; Eckert, F.R.; Mantovani, E.E.; DeLima, R.O.; Guimarães, L.J.M. (2008) Genetic control of grain yield and nitrogen efficiency in use in tropical maize. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.43, p.1413-1424.
- Trindade, M.G.; Stone, L.F.; Heinemann, A.B.; Canóvas, A.D.; Moreira, J.A.A. (2006) Nitrogênio e água como fatores de produtividade do trigo no cerrado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.10, n.01, p.24-29.
- Vergutz, L.; Novais, R.F (2015) Recomendação de corretivos e adubação. In: *Milho “do plantio a colheita”*. Editora UFV, Viçosa, p.108-136.
- Worku, M.; Banziger, M.; Erley, G.S.; Friesen, D.; Diallo, A.O.; Horst, W.J. (2007) Nitrogen Uptake and Utilization in Contrasting Nitrogen Efficient Tropical Maize Hybrids. *Cropps Science*, 47:519-528.

Wu, Y.; Liu, W.; Li, X.; Li, M.; Zhang, D.; Hao, Z.; Weng, J.; Xu, Y.; Zhang, S.; Xie, C. (2011) Low-nitrogen stress tolerance and nitrogen agronomic efficiency among maize inbreds: comparison of multiple indices and evaluation of genetic variation. *Euphytica*, 180: 281-290.

Wright, S. (1921) Correlation and causation. *Journal of Agricultural Research* 20: 557-585.