

Divergência genética de genótipos de milho com e sem adubação nitrogenada em cobertura

Genetic diversity in maize genotypes with and without a topdressing of nitrogen fertilizer

Karen Cristina Leite Silva^{1*}, Kamilla Pires da Silva², Edmar Vinícius de Carvalho³, Eliane Aparecida Rotili⁴, Flávio Sérgio Afférris⁵, Joenes Mucci Peluzio⁶.

Resumo: A utilização da divergência genética como base para a identificação de combinações superiores aos progenitores, apresentando maior heterozigose, faz-se importante diante da dificuldade de escolha de genótipos promissores em um programa de melhoramento. Com base no exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a divergência genética de genótipos de milho com e sem adubação nitrogenada em cobertura, utilizando características do estágio vegetativo da cultura, no sul do Estado do Tocantins, em Gurupi - TO. Foram conduzidos dois experimentos de campo, um sem e outro com adubação de N em cobertura (1 - ausência de N em cobertura; 2 - 150 kg ha⁻¹ de N). Os tratamentos foram compostos por 12 genótipos (seis populações de polinização aberta; e seis linhagens S₅). Na aplicação da técnica de agrupamento dos genótipos foi adotada a distância generalizada de Mahalanobis (D²), como medida de dissimilaridade. Com relação ao estabelecimento de grupos similares, foi aplicado o método hierárquico aglomerativo de otimização proposto por Tocher. Também foi utilizado o critério de Singh para quantificar a contribuição relativa das características avaliadas na divergência genética. As características clorofila A e clorofila Total foram as que apresentaram maior contribuição para a divergência genética na condição de ausência de adubação nitrogenada em cobertura e com uso de 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura, respectivamente. O nitrogênio em cobertura influenciou tanto no desenvolvimento vegetativo dos genótipos, como na expressão da variabilidade genética.

Palavras-chave: Adubação Nitrogenada. Análise multivariada. Dissimilaridade. Distância de Mahalanobis. *Zea mays*.

Abstract: The use of genetic diversity as a basis for identifying combinations which are superior to the parents, with a greater heterozygosity, is important in view of the difficulty when selecting promising genotypes for a breeding program. Given the above, the aim of this work was to evaluate genetic diversity in maize genotypes with and without a topdressing of nitrogen fertilizer, using characteristics of the growth stage of the crop. Two field experiments were carried out in Gurupi, in the south of the state of Tocantins, Brazil (TO), one with and another without a topdressing of N fertilizer (1 - no N topdressing, 2 - 150 kg N ha⁻¹). The treatments consisted of 12 genotypes (six open-pollinated populations, and six S₅ strains). In applying the technique of clustering to the genotypes, the Generalised Mahalanobis Distance (D²) was adopted as dissimilarity measure. To establish similar groups, the agglomerative hierarchical method of optimisation proposed by Tocher was applied. In addition, Singh's criterion was used to quantify the relative contribution to genetic divergence of the characteristics under evaluation. The characteristics, Chlorophyll-a and total chlorophyll, displayed the greatest contribution to genetic divergence, when there was no topdressing of nitrogen fertiliser and with the use of 150 kg N ha⁻¹ respectively. A topdressing of nitrogen influenced both the vegetative development of the genotypes, and the expression of their genetic variability.

Key words: Dissimilarity. Mahalanobis Distance. Multivariate analysis. Nitrogen Fertilisation. *Zea mays*.

*Autor para correspondência.

Enviado para publicação em 06/04/2014 e aprovado em 15/05/2015.

¹Aluna do curso de Agronomia, Universidade Federal do Tocantins-UFT, Avenida Rio Grande do Norte, 1430, Centro, Gurupi, TO, karencri.31@gmail.com

²Engenheira Agrônoma, UFT, Gurupi, Tocantins, Brasil, kamilla_pires1@hotmail.com

³Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, UFT, Gurupi, Tocantins, Brasil, ed.vinicius_carvalho@hotmail.com

⁴Doutoranda pela Rede Bionorte, UFT, Gurupi, Tocantins, Brasil, elianerotili@yahoo.com.br

⁵Centro de Ciências da Natureza, UFSCAR, Buri, São Paulo, Brasil, flavioafferri@gmail.com

⁶Depto. de Fitotecnia, UFT, Gurupi, Tocantins, Brasil, joenesp@uft.edu.br

INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é uma das mais importantes do Brasil, sendo produzida em quase todo o território nacional (ENGELSING *et al.*, 2012). Serve como insumo para produção de uma centena de produtos, sendo de fundamental relevância à cadeia produtiva de suínos e aves, onde são consumidos 70 a 80% do milho produzido (VENEGAS; SCUDELER, 2012).

No Brasil, existe enorme variação de condições de plantio e cultivo, devido a ampla variedade de ambientes existentes. O estudo dos resultados de produção obtidos nesses diferentes ambientes é de grande importância para que materiais adequados a tais condições sejam recomendados (BARROS *et al.*, 2012). Genótipos avaliados em diferentes ambientes podem apresentar comportamento diferenciado frente às condições ambientais distintas, caracterizando a interação entre genótipo e ambiente (MARTINELLI, 2013). Este comportamento pode ser visualizado por meio do efeito de ambientes distintos na divergência genética de genótipos de milho, conforme observado por Rios *et al.* (2010).

O genótipo pode ser considerado como o conjunto de genes, e o fenótipo a expressão de características no organismo decorrente da relação entre seus genes e o ambiente (JUSTINA *et al.*, 2012). O emprego de linhagens em programas de melhoramento de milho está associado à busca do vigor de híbrido, ou heterose, fenômeno que proporciona grande produtividade em híbridos provenientes do cruzamento de parentais que exibem alta divergência entre si (PATERNIANI *et al.*, 2008). As populações, apesar de serem menos produtivas que as cultivares modernas, apresentam uma complexa estrutura genética e, por isso, são importantes fontes de variabilidade na busca por genes responsáveis pela tolerância ou resistência a determinados fatores bióticos e abióticos (COIMBRA *et al.*, 2010).

Uma das maiores dificuldades encontradas nos programas de melhoramento consiste na escolha de genótipos a serem utilizados (RIBEIRO, 2012). Surge, então, a utilização da divergência genética como base para a identificação de combinações superiores aos progenitores, apresentando maior heterozigose.

Existem duas maneiras de se inferir sobre a divergência genética: de forma quantitativa e de forma preditiva. Entre as de natureza quantitativa, citam-se as análises dialélicas, nas quais são necessários cruzamentos entre genitores e sua posterior avaliação. As de natureza preditiva têm por base as diferenças morfológicas, de qualidade nutricional, fisiológicas ou moleculares, quantificadas em alguma medida de dissimilaridade que possa expressar o grau de diversidade genética entre os genitores (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

Diversas medidas de dissimilaridade têm sido propostas para a quantificação das distâncias entre genótipos, sendo,

contudo, a distância generalizada de Mahalanobis a mais amplamente utilizada quando se dispõem de experimentos com repetições (SIMON *et al.*, 2012). Esta se diferencia das demais técnicas por levar em consideração as correlações entre os caracteres avaliados (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

A identificação precoce de genótipos divergentes, utilizando características do estágio vegetativo, leva à economia de tempo e otimização de recursos para pesquisa, facilitando os trabalhos em um programa de melhoramento genético da cultura em questão. Portanto, objetivou-se com esse trabalho avaliar a divergência genética de genótipos de milho no Sul do estado do Tocantins, em dois ambientes distintos de fornecimento de nitrogênio, utilizando características do estágio vegetativo.

MATERIAL E MÉTODOS

Na safra 2013/2014, foram conduzidos dois experimentos de campo, no município de Gurupi-TO (11°43'45"S; 49°04'07"W; 280 m), em Latossolo Vermelho Amarelo, com clima do tipo B1wA'a' úmido com moderada deficiência hídrica, segundo a classificação de Köppen (1948). A semeadura foi realizada no dia 2 de dezembro de 2013, sob sistema de cultivo convencional. A análise do solo da área em estudo na camada de 0-0,20 cm apresentou os seguintes resultados: pH (CaCl₂) = 5,30; P (método Mehlich-1) = 4,70 mg dm⁻³; Ca+Mg (método KCl 1 mol L⁻¹), H+Al (método Ca(OAc)₂ 0,5 mol L⁻¹), K (método Mehlich-1) = 3,00; 2,70; 0,22 cmol_c dm⁻³, respectivamente; CTC = 5,94 cmol_c dm⁻³; V = 54,50%; MO (método Walkley e Black) = 16,00 g dm⁻³; Areia, Silte e Argila = 620, 80 e 300 g kg⁻¹. Os dados meteorológicos (Umidade relativa, Temperatura, Precipitação pluviométrica) durante o período de condução dos experimentos estão representados na Figura 1.

O delineamento estatístico de cada experimento foi em blocos ao acaso com doze tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram compostos por doze genótipos, sendo seis populações de polinização aberta (1 a 6), desenvolvidas por top crosses de linhagens com testador de base genética ampla, e seis linhagens S₅ (7 a 12).

A parcela foi composta por uma linha de 2 metros, com espaçamento de 0,75 m entre linhas, deixando-se, após desbaste realizado aos 15 dias após o plantio, entre três e quatro plantas por metro linear, que correspondeu à densidade de 50.000 plantas por hectare. Em torno da área experimental foram semeadas três linhas de bordadura.

Os experimentos foram representados por duas situações de adubação nitrogenada em cobertura. No primeiro experimento, com ausência de N em cobertura, e o segundo com o uso de 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura, tendo como fonte sulfato de amônio. No segundo experimento o N foi aplicado em dose única quando as plantas estavam entre os estágios

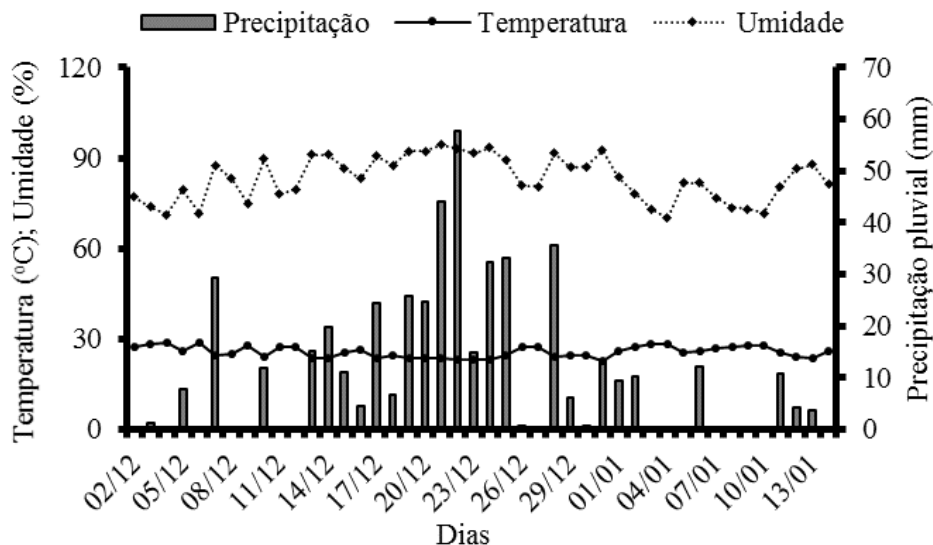


Figura 1 - Variação diária da temperatura, precipitação pluvial e umidade relativa de 2/12/2013 a 14/01/2014. Dados obtidos em Gurupi (TO), 2015.

Figure 1 -. Daily variation in temperature, rainfall and relative humidity, from 12/02/2013 to 14/01/2014. Data obtained in Gurupi (TO), 2015..

de quatro a seis folhas expandidas (V4-V6). A adubação de cobertura foi realizada no dia 18 de dezembro de 2013.

A adubação de plantio para os dois experimentos foi realizada com a formulação N-P-K (5-25-15) + 0,5% de Zn, no sulco de plantio, na dose de 500 kg ha⁻¹. Foi realizado irrigação suplementar, por meio de aspersão convencional, após a semeadura, com a intenção de proporcionar condições ideais para a germinação/emergência. Os experimentos foram conduzidos até o estágio de dez folhas totalmente expandidas (V10), com os demais tratamentos culturais, necessários até essa fase, efetuados assim que se fizeram necessários, seguindo as recomendações técnicas da cultura do milho de acordo com Fancelli e Dourado Neto (2000).

Entre os estágios V6-V8 (seis e oito folhas totalmente expandidas) foram realizadas leituras do teor de clorofila nas folhas, por meio do clorofilômetro ClorofiLOG 1030® (Falker Automação Agrícola, 2008). Foram coletadas leituras de duas plantas por parcela utilizando a última folha completamente expandida. As leituras obtidas foram do índice de clorofila Total (CT), índice de clorofila A (CA) e índice clorofila B (CB) em ICF (índice de clorofila Falker).

Entre os estágios V7-V8 e V9-V10 foram mensuradas as alturas de plantas (AP1 e AP2, respectivamente), por meio de réguas graduadas, tomando a distância do nível do solo até a parte mais alta de planta (ápice do cartucho), em cada estágio, em quatro plantas aleatorizadas na área útil da parcela. Os valores obtidos foram expressos em centímetros.

Após serem tabulados, os dados foram submetidos ao teste de normalidade. Para o estudo do efeito do nitrogênio em cobertura e das diferenças entre os genótipos, foi

realizada a análise de variância conjunta seguindo o critério da homogeneidade dos quadrados médios residuais dos experimentos (ausência e uso do nitrogênio em cobertura). Foi aplicado o teste de média Scott-Knott, para a comparação dos genótipos, a 5% de probabilidade, quando detectado diferença significativa pela primeira análise.

Foi realizado, ainda, a análise de variância individual de cada experimento para procedimento da análise da divergência genética. Na aplicação da técnica de agrupamento dos genótipos, foi adotada a distância generalizada de Mahalanobis (D²), como medida de dissimilaridade, levando em consideração o grau de dependência entre as variáveis estudadas. Com relação ao estabelecimento de grupos similares, foi aplicado o método hierárquico aglomerativo de otimização proposto por Tocher (RAO, 1952), cujos cálculos foram igualmente embasados na distância generalizada de Mahalanobis. Também foi utilizado o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa das características avaliadas na divergência genética.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os genótipos 1, 3, 4 e 6 mostraram-se superiores aos demais nas cinco características avaliadas (Tabela 1), o que pode demonstrar a superioridade das populações em relação às linhagens. As populações, por apresentarem ampla estrutura genética, possuem alto grau de heterozigosidade, o que pode levar à expressão de alelos favoráveis para que sejam superiores.

Tabela 1 - Médias dos índices de clorofila A, B e Total (CA, CB e CT, respectivamente, em ICF) e das alturas de plantas (AP1 e AP2, em cm) de 12 genótipos de milho avaliados em dois experimentos de fornecimento contrastante de nitrogênio. Gurupi-TO, safra 2013/2014

Table 1 - Mean values for the chlorophyll indices a, b and Total (CA, CB and CT respectively, in ICF) and for plant height (AP1 and AP2, in cm) in 12 maize genotypes evaluated in two experiments with contrasting supplies of nitrogen. Gurupi, TO, 2013/2014

Características	CA ¹	CB ¹	CT ¹	AP1 ²	AP2 ³
Genótipos					
1	33,98 A	12,75 A	46,73 A	70,38 A	92,96 A
2	32,66 A	12,18 A	44,84 A	68,81 A	87,61 B
3	32,39 A	11,78 A	44,17 A	76,50 A	96,08 A
4	30,74 A	10,28 A	41,02 A	81,13 A	105,21 A
5	30,54 A	10,23 A	40,78 A	65,71 A	87,46 B
6	30,70 A	10,38 A	41,08 A	73,63 A	93,25 A
7	25,78 A	8,25 B	34,03 B	46,96 B	52,00 D
8	32,63 A	10,84 A	43,47 A	58,13 B	71,88 C
9	28,93 A	9,26 B	38,18 B	58,79 B	79,04 B
10	30,71 A	10,15 A	40,86 A	47,17 B	54,67 D
11	29,41 A	9,07 B	38,48 B	54,00 B	67,04 C
12	27,93 A	7,73 B	35,66 B	54,17 B	69,75 C
Nitrogênio em cobertura (kg ha⁻¹)					
0	27,48 B	7,87 B	35,35 B	54,80 B	66,14 B
150	33,59 A	12,61 A	46,20 A	71,09 A	93,35 A
QM Genótipo	31,4 ^{ns}	13,8 ^{**}	84,3 [*]	778,6 ^{**}	1699,6 ^{**}
QM Nitrogênio	671,3 ^{**}	405,4 ^{**}	2120,0 ^{**}	4776,2 ^{**}	13334,2 ^{**}
QM Interação	15,9 ^{ns}	3,7 ^{ns}	29,5 ^{ns}	107,5 ^{ns}	214,2 ^{ns}
Média	30,53	10,24	40,77	62,95	79,75
CV (%)	12,95	19,87	14,11	18,38	14,08

¹Avaliação entre os estágios V6 e V8; ²Avaliação entre os estágios V7 e V8; ³Avaliação entre os estágios V9 e V10; Médias seguidas de mesmas letras, na coluna, não apresentam diferença significativa a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott. **, * significativo pelo teste F a 1 e 5%, respectivamente; ^{ns} - não significativo pelo teste F a 5%.

¹Evaluation between the V6 and V8 stages; ²Evaluation between the V7 and V8 stages; ³Evaluation between the V9 and V10 stages; Mean values followed by the same letters in a column, show no significant difference at 5% by Scott-Knott test. **, * Significant by F-test at 1 and 5% respectively; ^{ns} - not significant by F-test at 5%.

Quanto ao nível de nitrogênio, percebe-se que a ausência de adubação nitrogenada em cobertura foi desfavorável para o alcance de médias maiores em todas as características avaliadas (Tabela 1). A deficiência de N é capaz de afetar negativamente o desenvolvimento das plantas, uma vez que atua como constituinte de moléculas de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos e citocromos, além de sua importante função como integrante da molécula de clorofila (VON PINHO *et al.*, 2008).

As altas médias na condição do uso de 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura podem ser explicadas, também, pela

quantidade de dias entre a adubação de cobertura (estágio V4 e V6) e o início das avaliações (16 dias após a adubação de cobertura – V6 e V8). A cultura pode absorver N durante todo o ciclo, mas tal absorção pode se intensificar no período entre 40 e 60 dias após a germinação. Apesar de as exigências nutricionais serem menores nos estágios iniciais de crescimento, pesquisas indicam que altas concentrações de N na zona radicular são benéficas para promover o rápido crescimento inicial da planta (MEIRA *et al.*, 2009).

As medidas de dissimilaridade genética estimadas pela distância generalizada de Mahalanobis (D²) entre os

genótipos avaliados apontaram os genótipos 2 e 3 como a combinação mais similar e os genótipos 4 e 10 como a mais dissimilar, para a condição de uso do N em cobertura. Já para a condição de ausência do N em cobertura, a combinação mais similar foi entre os genótipos 2 e 8 e a mais dissimilar entre 1 e 10 (Tabela 2).

As amplitudes dos valores das estimativas de dissimilaridade de Mahalanobis observadas sugerem haver ampla variabilidade genética, viabilizando desta forma, a escolha de genitores contrastantes para extração de linhagens endogâmicas ou utilização direta das mesmas (SIMON *et al.*, 2012). A variabilidade genética faz-se importante uma vez que, através dela, se faz possível a adaptação das espécies a diversos ambientes de cultivo (PATERNIANI *et al.*, 2000).

Na escolha de genitores para cruzamentos deve-se considerar se estes apresentam bom rendimento na característica que se deseja melhorar. Assim, as combinações híbridas recomendadas para uso em programas de melhoramento devem envolver, na medida do possível, genitores dissimilares e com desempenho superior (SILVA *et al.*, 2012). Assim, os genótipos 1, 3, 4 e 6, por apresentarem características desejáveis e dissimilaridade genética, podem proporcionar efeito heterótico elevado após hibridações, mesmo para a condição de ausência

de cobertura nitrogenada. Segundo Oliboni *et al.* (2012) a divergência genética está relacionada com o grau de distância entre as populações no conjunto de caracteres genéticos que diferem entre as populações. Em que, na maioria dos casos a distância genética é positivamente correlacionada com a heterose.

Ao se utilizar o método de otimização de Tocher (RAO, 1952), baseado na dissimilaridade obtida por meio da distância de Mahalanobis, foi possível observar a distribuição dos genótipos avaliados em cinco grupos distintos, para a condição de uso de cobertura nitrogenada, e seis grupos para a condição de ausência de cobertura (Tabela 3).

Para a o uso de 150 kg ha⁻¹ de N em cobertura, os grupos I e III apresentaram três genótipos, e os demais grupos apresentaram dois genótipos. A formação desses grupos é importante para a escolha de genitores dentro dos programas de melhoramento, pois os novos materiais a serem obtidos devem ser embasados na magnitude de suas dissimilaridades e no potencial “per se” dos genitores (MARTINS *et al.*, 2012).

Já na condição de ausência de cobertura nitrogenada, os grupos I e II apresentaram três genótipos, os grupos III e IV apresentaram dois, e os grupos V e VI apresentaram somente um genótipo. Grupos formados por apenas um indivíduo apontam na direção de que tal indivíduo seja mais

Tabela 2 - Estimativas de dissimilaridade de 12 genótipos de milho baseadas em cinco características do estágio vegetativo, em dois experimentos de fornecimento contrastante de nitrogênio. Gurupi-TO, safra 2013/2014

Table 2 - Estimations of dissimilarity in 12 maize genotypes based on five characteristics of growth stage, in two experiments with contrasting supplies of nitrogen. Gurupi, TO, 2013/2014

Genótipos	Com N				Sem N			
	Distância D ² entre os genótipos							
	Menores		Maiores		Menores		Maiores	
1	1,88	(5)	22,83	(10)	4,94	(8)	25,31	(10)
2	0,22	(3)	22,52	(10)	0,09	(8)	12,69	(7)
3	0,22	(2)	25,36	(10)	0,54	(6)	20,56	(7)
4	1,64	(6)	42,53	(10)	0,67	(3)	24,32	(7)
5	1,88	(1)	15,61	(10)	0,40	(9)	18,33	(7)
6	1,64	(4)	28,95	(10)	0,54	(3)	15,42	(7)
7	0,77	(8)	28,02	(4)	6,11	(10)	24,32	(4)
8	0,77	(7)	31,65	(4)	0,09	(2)	14,39	(7)
9	1,69	(11)	13,60	(4)	0,40	(5)	20,18	(1)
10	1,56	(8)	42,53	(4)	1,33	(11)	25,31	(1)
11	1,69	(9)	21,09	(4)	1,33	(10)	16,12	(1)
12	1,65	(7)	25,76	(4)	1,29	(9)	23,59	(1)
Menor distância geral			0,22	(2 e 3)	Menor distância geral		0,09	(2 e 8)
Maior distância geral			42,53	(4 e 10)	Maior distância geral		25,31	(1 e 10)

Entre parênteses estão representados o(s) genótipo(s).

Genotype(s) shown in parentheses.

Tabela 3 - Agrupamento de doze genótipos de milho pelo método de Tocher (RAO, 1952), com base na dissimilaridade expressa pela distância generalizada de Mahalanobis e suas distâncias médias, em dois experimentos de fornecimento contrastante de nitrogênio. Gurupi – TO, safra 2013/2014

Table 3 - Grouping of twelve maize genotypes by the Tocher method (RAO, 1952), based on the dissimilarity expressed by the generalised Mahalanobis distance, with the mean distances, in two experiments with contrasting supplies of nitrogen. Gurupi, TO, 2013/2014

Com N			Sem N		
Grupo	Genótipos	Distâncias médias	Grupo	Genótipos	Distâncias médias
I	1 8 2	12,15	I	5 8 6	2,34
II	4 11	21,09	II	9 12 10	5,06
III	9 12 10	6,31	III	3 7	20,56
IV	3 7	16,4	IV	1 2	5,2
V	5 6	2,23	V	4	0
VI	-	-	VI	11	0

divergente em relação aos demais. Isto facilita a projeção dos trabalhos de melhoramento, encontrando-se genótipos distintos para futuros cruzamentos (ROTILI *et al.*, 2012).

Quanto à distância entre os grupos, na condição de uso do N em cobertura, as maiores médias foram observadas entre os grupos I e II (12,22), II e III (15,92), e III e V (13,27). Na condição de ausência do N em cobertura, as maiores médias foram obtidas entre os grupos II e IV (15,19), III e IV (11,88) e III e V (12,50) (Tabela 4). Estas informações confirmam quais genótipos são, realmente, mais divergentes. Genótipos em grupos distintos são divergentes (Tabela 2), assim os grupos que apresentam maior média entre si devem conter genótipos mais divergentes.

A maior distância observada, no uso de cobertura nitrogenada, foi entre os grupos II e III, onde estão os genótipos 4 e 10, que apresentaram a maior distância D^2 (Tabela 2). Já na condição de ausência de cobertura nitrogenada, a maior distância foi entre os grupos II e IV, grupos onde estão os genótipos 1 e 10, que apresentaram maior distância D^2 (Tabela 2).

No uso de cobertura nitrogenada, analisando-se as médias obtidas da análise das cinco características avaliadas, os genótipos 1 e 4 podem ser utilizados em possíveis cruzamentos, pois foram os genótipos classificados dentro do grupo estatístico superior em todas as características avaliadas. Cruzamentos entre os genótipos 8 e 10, também, são possíveis. Apesar de não terem sido classificados no grupo estatístico superior para todas as características avaliadas foram classificados junto às populações, quanto aos níveis de clorofila, capaz de influenciar positivamente na produção de grãos.

Segundo Bernini *et al.* (2013), populações geneticamente divergentes podem ser utilizadas como base para o desenvolvimento de linhagens a serem utilizadas em cruzamentos híbridos. Assim, as populações 1 e 4 poderiam ser utilizadas para a obtenção de linhagens, originando materiais que posteriormente poderiam ser cruzados com a linhagem 10.

Já na ausência de cobertura nitrogenada, combinações entre as populações 1 e 3, 1 e 4 e 3 e 4, podem ser utilizadas em possíveis cruzamentos, pois são genótipos que foram classificados dentro do grupo estatístico superior em todas as características avaliadas. Assim como na condição de uso de cobertura nitrogenada, a combinação entre as linhagens 8 e 10 também é possível.

Gallais e Hirel (2004) constataram que os alelos responsáveis para o controle genético da eficiência de N são expressos de acordo com o grau de disponibilidade do mesmo. Bueno *et al.* (2009), avaliando o controle

Tabela 4 - Distâncias médias entre grupos formados pela análise de divergência genética em doze genótipos de milho, avaliados em dois experimentos de fornecimento contrastante de nitrogênio. Gurupi – TO, safra 2013/2014

Table 4 - Mean distances between groups formed by analysis of genetic divergence in twelve maize genotypes evaluated in two experiments with contrasting supplies of nitrogen. Gurupi, TO, 2013/2014

Grupos	I	II	III	IV	V	VI
I	-	12,22	11,11	8,87	6,83	-
II	6,12	-	15,92	11,78	7,55	-
III	8,72	9,98	-	9,46	13,27	-
IV	6,65	15,19	11,88	-	7,84	-
V	2,54	9,41	12,50	10,41	-	-
VI	5,90	3,38	7,75	10,09	11,77	-

Diagonal acima: grupos formados no uso do nitrogênio em cobertura (150 kg ha⁻¹); Diagonal abaixo: grupos formados na ausência do nitrogênio em cobertura.

Above the diagonal: groups formed with the use of nitrogen topdressing (150 kg ha⁻¹); Below the diagonal: groups formed in the absence of nitrogen topdressing.

genético do teor de proteínas nos grãos e de caracteres agrônômicos de milho, cultivado com diferentes níveis de adubação nitrogenada, concluíram que a produção de grãos de milho apresenta controle genético variável, de acordo com a disponibilidade de nitrogênio. O nitrogênio exerce importante função nos processos bioquímicos da planta, como constituinte de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos, fitocromos e clorofila (FARINELLI; LEMOS, 2012). Portanto, a diferença entre as combinações promissoras ocorreu em virtude da disponibilidade de nitrogênio, que permitiu a expressão, ou não, de alelos favoráveis à melhor absorção e aproveitamento do N fornecido direcionado às características avaliadas no estágio vegetativo da cultura.

Das cinco características avaliadas, a que mais contribuiu para a divergência foi a CA (49,21%) e a que apresentou uma menor contribuição foi a AP2 (0,93%), com o uso da adubação nitrogenada de cobertura. Enquanto que na ausência de adubação de cobertura, a característica que mais contribuiu para a divergência foi a CT (50%), e AP1 e AP2 (0%) foram as que menos contribuíram (Tabela 5).

Segundo Zebarth *et al.* (2002) existe correlação positiva entre teor de clorofila e teor de N na planta. Esta relação deve-se ao fato de 50 a 70% do N total das folhas serem integrantes de enzimas que estão associadas ao cloroplasto (MAIA *et al.*, 2013). Como a característica CA, com uso da adubação nitrogenada de cobertura, se mostrou importante na divergência, a capacidade que os genótipos tiveram em fazer bom uso do nitrogênio em cobertura que lhes foi fornecido para transformar em moléculas de clorofila A pode ser utilizada na seleção dos mais contrastantes.

O teor de clorofila total é uma característica importante, pois indica a eficiência na absorção de radiação solar pelas folhas e, em consequência, maior taxa fotossintética resultando, por sua vez, em maiores produtividades de grãos (BASTOS *et al.*, 2012).

O grande interesse na avaliação da importância relativa dos caracteres reside na possibilidade de se descartarem características que contribuem pouco para a discriminação do material avaliado, reduzindo dessa forma, mão-de-obra, tempo e custos despendidos na experimentação (ROTILI

et al., 2012). Portanto, as características AP1 e AP2 podem ser descartadas, já que apresentaram menor contribuição para a divergência.

Tabela 5 - Contribuição relativa dos caracteres para diversidade pelo método de Singh (1981) baseada na distância generalizada de Mahalanobis, de doze genótipos de milho avaliados em dois experimentos de fornecimento contrastante de nitrogênio. Gurupi - TO, safra 2013/2014

Table 5 - Relative contribution of the characteristics for diversity by Singh's method (1981), based on the generalized Mahalanobis distance, in twelve maize genotypes evaluated in two experiments with contrasting supplies of nitrogen. Gurupi, TO, 2013/2014

Caract.	Com N	Sem N
	——— (%) ———	
CA ¹	49,21	29,25
CB ¹	11,94	20,75
CT ¹	36,91	50,00
AP1 [*]	1,01	0,00
AP2 ^{**}	0,93	0,00

¹Avaliação entre os estágios V6 e V8; ^{*} Avaliação entre os estágios V7 e V8; ^{**} Avaliação entre os estágios V9 e V10; índices de clorofila A, B e Total (CA, CB e CT, respectivamente) e das alturas de plantas (AP1 e AP2).

¹Evaluation between the V6 and V8 stages; ^{*} Evaluation between the V7 and V8 stages; ^{**} Evaluation between the V9 and V10 stages; Indices for chlorophyll a, b and Total (CA, CB and CT respectively) and for plant height (AP1 and AP2).

CONCLUSÕES

O nitrogênio em cobertura influenciou tanto no desenvolvimento vegetativo dos genótipos, como na expressão da variabilidade genética;

As combinações promissoras para recombinação são: 8 e 10 (em ambas condições de fornecimento de N em cobertura); 3 e 4 (na condição de ausência de N) e; 1 e 4 (na condição de uso de N em cobertura).

LITERATURA CIENTÍFICA CITADA

BARROS, H. B.; FIDELIS, R. R.; MELO, A. V.; CAPONE, A.; SEDIYAMA, T. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de soja por meio de métodos uni e multivariado. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 3, n. 2, p. 49-58, 2012.

BASTOS, E. A.; CARDOSO, M. J.; ANDRADE JÚNIOR, A. S.; RAMOS, H. M. M.; NASCIMENTO, F. N. Parâmetros fisiológicos e produtividade de grãos verdes do feijão-caupi sob déficit hídrico. *Water Resources and Irrigation Management*, v. 1, n. 1, p. 31-37, 2012.

- BERNINI, C. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; GUIMARÃES, P. S.; ROVARIS, S. R. S.; DUARTE, A. P.; GALLO, P. B. Depressão endogâmica e heterose de híbridos de populações F₂ de milho no estado de São Paulo. *Bragantia*, v. 72, n. 3, p. 217-223, 2013.
- BUENO, L. G.; CHAVES, L. J.; OLIVEIRA, J. P. de; BRASIL, E. M.; REIS, A. J. S.; ASSUNÇÃO, A.; PEREIRA, A. F.; RAMOS, M. R. Controle genético do teor proteico nos grãos e de caracteres agrônômicos em milho cultivado com diferentes níveis de adubação nitrogenada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, n. 6, p. 590-598, 2009.
- COIMBRA, R. R.; MIRANDA, G. C.; CRUZ, C. D.; MELO, A. V.; ECKERT, F. R. Caracterização e divergência genética de populações de milho resgatadas do Sudeste de Minas Gerais. *Revista Ciência Agronômica*, v. 41, n. 1, p. 159-166, 2010.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 4 ed. Viçosa, MG: UFV, 2012. 514 p.
- ENGELSING, M. J.; COIMBRA, J. L. M.; VALE, N. M.; BARILI, L. D.; STINGHEN, J. C.; GUIDOLIN, A. F.; BERTOLDO, J. G. Adaptabilidade e estabilidade em milho: rendimento de grãos x severidade de cercosporiose. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 11, n. 2, p. 106-117, 2012.
- FALKER, automação agrícola. Manual do medidor eletrônico de teor clorofila (ClorofiLOG/CFL 1030). Porto Alegre, 2008. 33p. Disponível em: <http://www.falker.com.br/produto_download.php?id=4>. Acesso em: 28 abr. 2014.
- FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. Produção de milho. 2. ed. Guaíba: Agropecuária, 2000. 360 p.
- FARINELLI, R.; LEMOS, L. B. Nitrogênio em cobertura na cultura do milho em preparo convencional e plantio direto consolidados. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 42, n. 1, p. 63-70, 2012.
- GALLAIS, A.; HIREL, B. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Experimental Botany*, v. 55, n. 396, p. 295-306, 2004.
- JUSTINA, L. A. D.; MEGLHIORATTI, F. A.; CALDEIRA, A. M. A. A (re)construção de conceitos biológicos na formação inicial de professores e proposição de um modelo explicativo para a relação genótipo e fenótipo. *Revista Ensaio*, v. 14, n. 3, p. 65-84, 2012.
- KÖPPEN, W. Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra. México: Fondo de Cultura Económica, 1948. 466p.
- MAIA, S. C. M.; SORATTO, R. P.; BIAZOTTO, F. O.; ALMEIDA, A. Q. Estimativa da necessidade de nitrogênio em cobertura no feijoeiro IAC Alvorada com clorofilômetro portátil. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, n. 5, p. 2229-2238, 2013.
- MARTINELLI, A. P. Métodos AMMI, GGE Biplot, REML/BLUP e análise de fatores na estabilidade e estratificação de ambientes de safrinha para seleção de híbridos de milho. 2013. 69 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.
- MARTINS, E. C. A.; PELUZIO, J. M.; COIMBRA, R. R.; JUNIOR, W. P. O. Variabilidade fenotípica e divergência genética em clones de batata doce no estado do Tocantins. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, n. 4, p. 691-697, 2012.
- MEIRA, F. A.; BUZZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; DE SÁ, M. E.; ANDRADE, J. A. C. Fontes e épocas de aplicação do nitrogênio na cultura do milho irrigado. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 30, n. 2, p. 275-284, 2009.
- OLIBONI, R.; FARIA, M. V.; NEUMANN, M.; BATTISTELLI, G. M.; TEGONI, R. G.; RESENDE, J. T. V. Genetic divergence among maize hybrids and correlations with heterosis and combining ability. *Acta Scientiarum*, v. 34, n. 1, p. 37-44, 2012.
- PATERNIANI, E.; NASS, L. L.; SANTOS, M. X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil: uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. In: UDRY, C.W.; DUARTE, W. (Org.) Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos. Brasília: Paralelo 15, 2000. p. 11-41.
- PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; GUIMARÃES, P. S.; LÜDERS, R. R.; GALLO, P. B.; SOUZA, A. P.; LABORDA, P. R.; OLIVEIRA, K. M. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. *Bragantia*, v. 67, n. 3, p. 639-648, 2008.
- RAO, C.R. Advanced statistical methods in biometric research. New York: John Wiley & Sons, 1952. 390 p.
- RIBEIRO, G. R. S. Características agrônômicas e divergência genética de cultivares de soja sob diferentes condições de fósforo. 2012. 49 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2012.
- RIOS, S. A.; BORÉM, A.; GUIMARÃES, P. E. O.; PAES, M. C. D. Divergência genética entre genótipos de milho quanto ao teor de carotenoides nos grãos. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 9, n. 3, p. 277-286, 2010.

ROTILI, E. A.; CANCELLIER, L. L.; DOTTO, M. A.; CARVALHO, E. V.; PELUZIO, J. M. Divergência genética em genótipos de milho, no Estado do Tocantins. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, n. 3, p. 516-521, 2012.

SILVA, J. F.; BERTINI, C. H. C. M.; BLEICHER, E.; MORAES, J. G. L. Divergência genética de genótipos de feijão-de-corda quanto à resistência ao pulgão-preto. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 47, n. 7, p. 948-954, 2012.

SIMON, G. A.; KAMADA, T.; MOITEIRO, M. Divergência genética em milho de primeira e segunda safra. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. 2, p. 449-458, 2012.

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

VENEGAS, F.; SCUDELER, F. Diferentes coberturas vegetais na produção de milho (*Zea mays* L.). *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, v. 16, n. 2, p. 9-20, 2012.

VON PINHO, R. G.; GROSS, M. R.; STEOLA, A. G.; MENDES, M. C. Adubação nitrogenada, densidade e espaçamento de híbridos de milho em sistema plantio direto na região sudeste do Tocantins. *Bragantia*, v. 67, n. 3, p. 733-739, 2008.

ZEBARTH, B.J.; YOUNIE, M.; PAUL, J.W.; BITTMAN, S. Evaluation of leaf chlorophyll index for making fertilizer nitrogen recommendations for silage corn in a high fertility environment. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 33, p. 665-684, 2002.