

REGINALDO ROBERTO LÜDERS

**EFEITO XÊNIA EM HÍBRIDOS COMERCIAIS DE MILHO VISANDO
AO AUMENTO DA PRODUTIVIDADE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador
Prof. Dr. João Cândido de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Lüders, Reginaldo Roberto

Efeito xênia em híbridos comerciais de milho visando ao aumento da
produtividade / Reginaldo Roberto Lüders. – Lavras: UFLA, 2006.

113 p. : il.

Orientador: João Candido de Souza.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Milho. 2. Hibridação. 3. Marcador molecular. 4. Produtividade. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.1523

REGINALDO ROBERTO LÜDERS

**EFEITO XÊNIA EM HÍBRIDOS COMERCIAIS DE MILHO VISANDO
AO AUMENTO DA PRODUTIVIDADE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 30 de outubro de 2006

Dr. Elto Eugênio Gomes e Gama	Embrapa Milho e Sorgo
Dr. João Bosco dos Santos	UFLA
Dr. Eduardo Sawazaki	IAC
Dra. Maria Elisa Ayres Guidetti Zagatto Paterniani	IAC

Prof. Dr. João Cândido de Souza
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

OFEREÇO

Aos meus pais e irmão

que, ao longo do tempo, me apoiaram em toda a minha vida acadêmica, disponibilizando parte de suas vidas para que esse sonho se tornasse realidade. São as pequenas coisas que constroem a maior parte de nossa vida.

Também a minha namorada,

que me apoiou em todos os momentos difíceis, oferecendo um ombro amigo quando eu mais precisava.

A todos aqueles

que, direta ou indiretamente, participaram da elaboração deste trabalho.

A Deus,

que esteve presente em todos os momentos.

Por tudo que fizeram por mim, pelos exemplos de amor, educação, honestidade e dedicação,

DEDICO.

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos:

Acima de tudo, a Deus e aos meus pais, João Roberto e Ida, pois, sem o seu apoio e confiança, nunca teria chegado até aqui.

Ao meu irmão, Wendel e minha avó, Lucia.

Ao meu professor e orientador, João Cândido, por toda a dedicação e preocupação e pelo convívio, que me proporcionou lições valiosas de vida.

Aos professores Magno e João Bosco, por todo o apoio, atenção e conhecimento oferecido durante os meus estudos em Lavras.

A professora Anete e sua orientada Prianda, do CBMEG/Unicamp, por terem disponibilizado os *primers* de SSR.

Ao técnico de laboratório Lamartine e a todos os estagiário do Laboratório de Biologia Molecular da UFLA.

A todos os meus amigos do GEN, em especial Marcelo, Marcio, Flávio e Alex, tanto por terem me ajudado com meus experimentos como por terem sido verdadeiros companheiros, verdadeiros irmãos de coração, tornando-se minha família em Lavras.

A toda a equipe de milho, do Departamento de Biologia, que, embora sejam poucos, são unidos até o fim, conquistando seu espaço.

Aos amigos do IAC que me ajudaram a terminar meu trabalho de tese, em especial a Dra. Luciana Benchimol, pois, com seu auxílio, o trabalho teve êxito e ao pesquisador Edson, que auxiliou durante o período de revisão do trabalho.

Aos pesquisadores do Setor de Algodão: Cia, Luiz Henrique e, em especial, ao Dr. Milton Fuzatto, que deram seu apoio durante esses anos para que este trabalho chegasse ao final, tendo alcançado seu êxito máximo.

E a você, Mônica, cujas lições de força e coragem frente aos obstáculos da vida fizeram-me acreditar no impossível.

A todos vocês, Muito Obrigado!

SUMÁRIO

	página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Biologia floral do milho.....	3
2.2 Polinização e fertilização.....	5
2.3 Enchimento do grão.....	6
2.4 O grão de milho e sua composição.....	6
2.5 O milho híbrido.....	8
2.6 Endogamia e heterose em milho.....	14
2.7 Definições de xênia e metaxênia.....	17
2.7.1 Fenômenos de xênia na cultura do milho.....	18
2.8 Marcadores morfológicos, bioquímicos e moleculares.....	23
2.8.1 Marcadores morfológicos.....	25
2.8.2 Marcadores bioquímicos.....	26
2.8.3 Marcadores moleculares.....	28
2.8.3.1 Marcadores microssatélites.....	29
2.9 Isolamento para a produção de híbridos.....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
CAPÍTULO 1 - ESTIMATIVAS DO EFEITO XÊNIA VISANDO AO AUMENTO DE PRODUTIVIDADE.....	45
RESUMO.....	46
ABSTRACT.....	47
1 INTRODUÇÃO.....	48
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	50
2.1 Material.....	50
2.1.1 Identificação dos híbridos utilizados.....	50
2.1.2 Descrição dos locais.....	51
2.2 Métodos.....	52
2.2.1 Plano experimental.....	52
2.2.2 Condução dos experimentos.....	53
2.2.3 Obtenção dos dados.....	54
2.2.4 Caracteres avaliados.....	55
2.2.5 Análise estatística dos dados.....	56
2.2.5.1 Análise da variância.....	56

2.2.5.2	Análise estatística do efeito xênia.....	57
2.2.5.3	Análise dialélica.....	57
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
3.1	Efeito xênia na produção de grãos.....	59
3.1.1	Análises individuais.....	59
3.1.2	Análises conjuntas.....	60
3.1.3	Análise dialélica.....	61
3.1.4	Influência materna no efeito xênia.....	62
3.1.5	Efeito da mistura dos três híbridos.....	63
3.2	Efeito xênia no peso de 100 grãos e densidade dos grãos.....	63
4	CONCLUSÕES.....	64
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
	CAPÍTULO 2 – DETECÇÃO DO EFEITO XÊNIA EM MILHO	
	POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES.....	84
	RESUMO.....	85
	ABSTRACT.....	86
1	INTRODUÇÃO	87
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	89
2.1	Material.....	89
2.1.1	Identificação dos híbridos utilizados.....	89
2.1.2	Descrição dos locais.....	89
2.1.3	Descrição dos primers SSR.....	90
2.2	Métodos.....	90
2.2.1	Plantio dos experimentos de campo e de polinização manual.....	90
2.2.2	Cruzamentos.....	91
2.2.3	Manejo da cultura.....	92
2.2.4	Amostragem das parcelas.....	92
2.2.5	Caracteres avaliados.....	93
2.2.6	Preparação do material vegetal e extração do DNA.....	94
2.2.7	Quantificação e diluição do DNA.....	95
2.2.8	Amplificações com microssatélites (SSR).....	96
2.2.9	Seleção dos primers de SSR.....	97
2.2.10	Análise estatística dos dados.....	97
2.2.10.1	Análise estatística do efeito xênia.....	97
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	99
3.1	Identificação dos cruzamentos com auxílio de marcadores moleculares	100
3.2	Experimentos de polinização natural.....	100
3.3	Experimentos de polinização controlada.....	101
4	CONCLUSÕES.....	104
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	112

RESUMO

LÜDERS, Reginaldo Roberto. **Efeito xênia em híbridos comerciais de milho visando ao aumento da produtividade**. Lavras: UFLA, 2006. 113p (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)^{1/}

O efeito xênia em componentes da produção do milho foi estudado em cinco experimentos de campo realizados em dois municípios mineiros, Lavras e Ribeirão Vermelho, nas safras agrícolas de 2004/05 e 2005/06. Com vistas à possibilidade de utilização prática desse efeito em cultivos comerciais, em quatro desses experimentos, as condições foram as mais próximas possíveis das que ocorrem nas lavouras, sobretudo com respeito à polinização natural e ao emprego de genótipos utilizados pelos produtores. Para tanto, foram utilizados no estudo três híbridos simples comerciais (P 30F90, A 2555 e DKB 333 B), realizando-se todos os cruzamentos possíveis entre eles, incluídos os recíprocos. O quinto experimento, envolvendo os mesmos híbridos, compreendia a realização de polinização controlada manual, com 100% e 50% de pólen estranho e a utilização de marcadores moleculares (microsatélites) para diferenciação de grãos autopolinizados e cruzados. O delineamento experimental constou de esquemas sistemáticos, com parcelas de 50 m de comprimento, coletando-se os dados mediante amostras casualizadas, em subparcelas de 3 m de comprimento, nos experimentos com polinização livre e em conjuntos de 3 plantas em que se realizou polinização controlada. Com base nos dados obtidos, por meio das análises dialélicas, análises de variância segundo o modelo “entre e dentro”, com testes de contrastes com 1 grau de liberdade e o teste “t”, para médias de dados não emparelhados, foi estimado o efeito xênia sobre a produção de espigas, produção de grãos, peso de 100 grãos, peso de grãos individuais e densidade de grãos, conforme o experimento. Embora tenha sido observado em todos os possíveis cruzamentos entre os três híbridos utilizados, o efeito xênia variou em magnitude, conforme combinações específicas entre híbridos e a situação de receptor/polinizador do genótipo envolvido. Influência materna foi observada em em 71% dos casos em que a manifestação de xênia foi estatisticamente significativa. Efeitos pronunciados do ambiente, tanto de locais como de anos e interações desses fatores com os genótipos indicaram falta de consistência e repetibilidade de alguns efeitos observados, impedindo generalizações sobre o fenômeno. Nos resultados mais consistentes, envolvendo cruzamentos específicos, em polinização livre, o efeito xênia médio chegou a 17,8%, promovendo aumento de 1.302 kg ha⁻¹ de grãos. Nessas condições, um efeito médio de 12,6% (variando de 7,4% a 16,5%) foi observado também para

^{1/} Orientador: João Candido de Souza – Universidade Federal de Lavras (UFLA).

peso de grãos individuais. Nos cruzamentos controlados, com 100% de pólen estranho, o efeito xênia médio foi de 13,1% no peso de 100 grãos e de 8,7% no peso de grãos individuais, tendo ocorrido, todavia, aumentos de 15,4% e 16,6%, respectivamente, nessas características, nos cruzamentos mais favoráveis. Cruzamentos envolvendo 100% de pólen estranho promoveram, em média, aumentos da ordem de 7,3% no peso de 100 grãos, quando comparados com a mistura com apenas 50%, demonstrando a influência da maior pressão de pólen estranho no incremento dessa característica. Não foram observados efeitos consistentes na densidade de grãos.

ABSTRACT

LÜDERS, Reginaldo Roberto. **Xenia effect in commercial maize hybrids aiming at increased yields**. 2006. 113p Thesis (Doctoral Genetics and Plant Breeding) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.^{1/}

The xenia effect in maize yield components was investigated in five field experiments conducted in two counties within the state of Minas Gerais, Lavras and Ribeirão Vermelho, in the growing seasons 2004/05 and 2005/06. Aiming at a possible practical use of this effect in commercial cultivation, four experiments were conducted as close as possible to those on commercial fields, especially regarding natural pollination and the genotypes commonly used by farmers. Three single cross commercial hybrids were used (P 30F90, A 2555 and DKB 333 B), which allowed all possible crosses among them, including the reciprocals. In the fifth experiment controlled pollination was manually performed with the same hybrids, with 100% and 50% foreign pollen. The self-pollinated were differentiated from crossed grains through molecular markers (microsatellites). The experimental design consisted of systematic schemes with 50 m long row plots. In the experiments with open pollination, data were collected as randomized samples in 3 m long subplots, and from sets of 3 plants where controlled pollination had been performed. The xenia effect on ear yield, grain yield, weight of 100 grains, individual grain weight, and grain density was estimated according to the experiment through diallel analyses, analyses of variance according to the model “among and within”, contrast tests with one degree of freedom, and the “t” test for unpaired data means. Xenia effects were observed in all possible crosses involving the three hybrids, but they varied in magnitude, according to the specific hybrid combinations and the situation of receptor/pollinator of the genotype involved. Maternal effect was observed in 71% of the cases in which xenia effect was statistically significant. Marked effects of the environment (site and year) and interactions of these factors with the genotypes indicated lack of consistence and repeatability of some of the observed effects, which impairs any extrapolation of the phenomenon. In the most systematic and consistent cases of specific open-pollinated crosses, the mean xenia effect reached 17.8%, resulting in a grain increase of 1.302 kg ha⁻¹. Under these conditions, a mean effect of 12.6% (varying from 7.4 to 16.5%) was also observed for individual grain weight. In the controlled crosses with 100% foreign pollen the mean xenia effect on the weight of 100 grains was 13.1% and 8.7% on the individual grain weight, although increments of 15.4% and 16.6%, respectively, were observed in these traits in the most favorable crosses. Crosses

^{1/} Advisor: João Candido de Souza – Universidade Federal de Lavras (UFLA).

based on 100% foreign pollen led to mean increments of around 7.3% in the weight of 100 grains, compared with the mixture with only 50% foreign pollen, demonstrating the influence of a greater pressure of foreign pollen in the increase of this trait. No consistent effects were observed on grain density.

1 INTRODUÇÃO

O melhoramento genético de plantas, ao proporcionar a obtenção de cultivares mais produtivas e adaptadas aos diversos tipos de ambientes, com maior eficiência fisiológica e resistência a doenças, foi um dos principais fatores para os avanços obtidos na agricultura atual. A esse respeito, o desenvolvimento de cultivares de milho híbrido constituiu uma das maiores conquistas da ciência agrícola, proporcionando acréscimos notáveis na produtividade dessa cultura (Paterniani, 2001). Segundo Duvick (1999), cultivares híbridas são utilizadas em 65% da área plantada com milho no mundo.

Embora a cultivar seja fator decisivo – além, é claro, de condições edafoclimáticas favoráveis – para o sucesso da cultura, outros elementos, como fertilizantes, defensivos e técnicas culturais, empregados em quantidades adequadas, são também necessários para a obtenção de elevada produtividade. O emprego de tais insumos e manejos, todavia, promove aumento nos custos de produção e, dependendo da relação de preços vigentes, pode colocar em risco as margens de lucro nas lavouras. Em tal situação, pequenos aumentos de produtividade, que não impliquem em acréscimos nos custos, podem ser determinantes no êxito econômico dessa cultura. Dentre as técnicas que cumpririam tal finalidade, tem sido cogitada a indução e o aproveitamento, nas lavouras, do efeito de xênia, visando a um aumento de produtividade.

Esse fenômeno tem sido discutido por diversos autores (Bullant et al., 2000; Mercer, 2002) e, em síntese, constitui o efeito provocado no fruto, por pólen proveniente de genótipo diferente da planta materna. No caso do milho, o fruto (grão) é produto de dupla fertilização, em que um dos núcleos do grão de pólen envolvido une-se à oosfera, originando o embrião e o outro se une aos núcleos polares, dando origem ao endosperma. Portanto, tanto o endosperma

como o embrião podem apresentar o efeito xênia. Segundo Bullant & Gallais (1998), esse efeito pode provocar aumento de até 13% na produtividade.

Do ponto de vista prático, a técnica para aproveitamento desse efeito coincidiria com a adotada no sistema de combinação de híbridos hoje existente. Como se sabe, tal sistema consiste em associar, no plantio, híbridos que supram mutuamente suas eventuais deficiências, garantindo, no conjunto, níveis adequados de produtividade, precocidade e resistência a doenças. Tal sistema poderia ter a eficiência aumentada se, na escolha dos híbridos participantes, fosse considerado o efeito xênia que pode ocorrer entre eles.

O presente trabalho teve por objetivo averiguar e quantificar o efeito xênia em híbridos comerciais de milho, com vistas ao aproveitamento desse fenômeno para o aumento de produtividade da cultura. Para avaliar a viabilidade prática dessa possível técnica, foi necessário realizar o estudo em condições mais próximas possíveis das que prevalecem nas culturas comerciais, principalmente com respeito ao processo natural de polinização. Isso demandou que os resultados fossem ser confirmados pro meio de marcadores genéticos apropriados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Biologia floral do milho

O milho é uma planta monóica, pois apresenta os dois sexos na mesma planta, porém, separados. O pendão é a estrutura masculina que dá origem ao pólen. Ele ocorre por diferenciação do meristema apical, que se inicia poucos dias após a emergência e continua seu desenvolvimento no interior do colmo até seu surgimento na extremidade da planta.

O pólen é produzido em células especializadas, localizadas no pendão, e que recebem o nome de microsporócitos. Esses microsporócitos surgem a partir duas divisões meióticas da célula-mãe do grão de pólen e, posteriormente, após divisão mitótica, dão origem aos micrósporos. Os micrósporos, que estão localizados no interior das anteras, após sofrerem diferenciação celular, darão origem aos grãos de pólen. Essa etapa envolve duas divisões mitóticas: na primeira, serão produzidos dois núcleos, um vegetativo e outro generativo; a segunda divisão, que envolve apenas o núcleo generativo, dará origem a dois novos núcleos, generativos ou espermáticos. A estrutura resultante será uma célula especializada constituída de três núcleos, um vegetativo e dois generativos (Chang & Neuffer, 1992).

No período de florescimento, as anteras sofrem uma ruptura de uma de suas extremidades, liberando, assim, os grãos de pólen. Cada antera produz, em média, 400 grãos de pólen, existindo, em um pendão, milhares de anteras. Por isso, uma planta de milho é capaz de produzir milhões de grãos de pólen, sendo esta quantidade muitas vezes superior à necessária (Viana et al., 1999).

Já a inflorescência feminina, ou espiga, ocorre por diferenciação das gemas existentes nas axilas foliares do colmo. Em uma espiga aparecem centenas de flores femininas, ou espiguetas, dispostas em fileiras duplas. Cada

uma dessas flores tem, na sua constituição, um ovário ou megasporângio, situado na parte basal do estilete. O estilete faz a conexão entre o estigma e o ovário. Esse conjunto formado pelo estilete e estigma é denominado de cabelo ou barba da espiga (Dumas & Mongensen, 1993). Os estiletos e estigmas tornam-se receptivos logo após sua emergência, permanecendo assim por cerca de 14 dias. A secreção liberada pelo estigma estimula a germinação do grão de pólen e este, por sua vez, estimula as sucessivas divisões mitóticas da célula vegetativa, desenvolvendo progressivamente o tubo polínico no interior do estilete.

O ovário, situado na posição basal da flor, é constituído pela parede do ovário e pelo óvulo. O óvulo, por sua vez, tem, em sua constituição, funículo, integumentos, micrópila, nucela e saco embrionário. O saco embrionário origina-se a partir da célula-mãe, denominada megasporócito. Este sofre uma divisão meiótica que dará origem a duas células; uma delas irá degenerar e formará o corpúsculo polar, a outra formará o megasporócito primário. A segunda divisão dará origem a quatro células com metade do número de cromossomos, mas apenas uma será viável e as demais irão se degenerar.

A única célula viável, ou megásporo, irá sofrer três endomitoses, isto é, três divisões mitóticas consecutivas, sem a ocorrência da citocinese; ao final, será obtida uma célula com oito núcleos. Um dos três núcleos presentes na região micropilar crescerá e se tornará o núcleo da oosfera, enquanto os demais irão se transformar nas sinérgides. O saco embrionário continua seu crescimento até ocorrer a fertilização. Nas proximidades do centro encontram-se dois núcleos polares; na outra extremidade, um grupo de três antípodas, muitas das quais possuem mais de um núcleo. Neste estágio, o saco embrionário permanece aguardando a fertilização, provavelmente por um período de duas semanas.

2.2 Polinização e fertilização

A polinização se inicia a partir da liberação do pólen pelas inflorescências masculinas; esse pólen é carregado pelo vento até atingir o estigma-estilete de outra planta. A deiscência do pólen ocorre 2 a 3 dias antes da emergência do estilete-estigma, o que favorece a polinização cruzada, embora ainda ocorra uma certa taxa de autofecundação nas plantas. A dispersão do pólen pode ocorrer por até 14 dias em situações favoráveis, mas o usual é que ela ocorra por 5 a 8 dias (Viana et al., 1999).

O pólen que cai sobre o estigma adere aos pêlos do estigma e a uma substância viscosa existente. Posteriormente, ele penetra no interior do estigma, atingindo o estilete, percorrendo toda a sua extensão até atingir a micrópila, no óvulo. Durante esse processo, o tubo polínico cresce, estando os dois núcleos generativos na sua extremidade.

O tubo polínico, ao atingir a micrópila, continua seu crescimento até penetrar no saco embrionário, onde sua extremidade é rompida, liberando os dois núcleos generativos ou espermáticos. Um deles irá se fundir à oosfera para formar o zigoto, restaurando, desse modo, o número diplóide de cromossomos próprio das células somáticas da espécie ($2n=20$). O outro núcleo espermático funde-se aos dois núcleos polares. Posteriormente, essa estrutura triplóide formará o endosperma.

Portanto, a dupla fertilização terá como resultado a formação do zigoto e do endosperma. O zigoto dará origem ao híbrido que contém 50% da informação dos cromossomos de origem paterna e 50% de origem materna. Já no endosperma, 66,66% dos cromossomos são de origem materna e apenas 33,33%, paterna (Veit et al., 1993).

2.3 Enchimento do grão

O endosperma forma-se com maior rapidez que o embrião, que sofre várias divisões celulares e um processo de diferenciação, transformando-se em um pré-embrião com as características da espécie e continua seu crescimento até a maturação da semente.

A dupla fertilização faz com que a estrutura formada na fusão dos três núcleos primários do endosperma sofra inúmeros ciclos de divisão, ampliando o número de núcleos livres, sem citocinese. Todo esse processo ocorre na região periférica da célula original (óvulo). Posteriormente, ocorre a citocinese e, então, eles migram, por meio de um grande vacúolo central, para diferentes regiões, até que o endosperma passe a ser constituído de inúmeras células mononucleares (Guimarães, 1997).

Entre 10 e 20 dias após a polinização, ocorre um expressivo aumento na quantidade de DNA do endosperma, que passa de 3C para até 690C em alguns casos. A razão deste aumento ainda não é bem conhecida, mas uma das hipóteses é a de que o processo possibilitaria o armazenamento de nucleotídeos, visando atender à demanda dos “seedlings” em desenvolvimento. Essa ampliação também poderia ser uma estratégia para aumentar os produtos resultantes da expressão dos genes envolvidos na biossíntese de enzimas, promovendo o aumento de proteínas de reserva e carboidratos, com reflexos tanto no vigor das sementes como na produtividade de grãos por planta (Lopes & Larkins, 1993).

2.4 O grão de milho e sua composição

Os produtos da fertilização se encontram no interior do grão (embrião e endosperma). Ao mesmo tempo em que o embrião e o endosperma se

desenvolvem, ocorre também o crescimento das paredes que revestirão a semente, isto é, o pericarpo, que contribui com 5% do peso final do grão. No entanto, este tecido independe da fertilização, pois é de origem materna.

Já a camada de aleurona é parte integrante do endosperma, que representa 80% do peso total do grão. No caso do milho, ela é composta por uma ou mais camadas de células que circundam o endosperma amídico, exceto na área adjacente ao embrião. A aleurona tem grande concentração de proteínas solúveis que, atualmente, são utilizadas para diversos estudos que envolvem a regulação de antocianinas (Jayaram & Peterson, 1992). Essa camada do endosperma continua viável mesmo após o processo de dessecação da semente, pois pode diferenciar-se em um tecido digestivo especializado na secreção das enzimas mobilizadoras de reservas do endosperma durante a fase de germinação, isto é, ela é responsável pela nutrição do embrião durante a fase de germinação.

O embrião é um dos produtos da dupla fertilização e responsável por, em média, 10% do peso total do grão. Nesse embrião, encontram-se as estruturas que originarão uma nova planta e que serão ativadas durante o processo de germinação.

A composição química do grão de milho pode ser vista na Tabela 1.

TABELA 1. Composição química média do grão maduro de milho e de seus componentes (Adaptado por Paterniani & Viégas, citados em Malavolta & Dantas, 1987).

Componentes do grão	Grão (%)	Amido (%)	Proteína (%)	Lipídeos (%)	Açúcares (%)	Cinza (%)
Grão inteiro	-	71,5	10,3	4,8	2,0	1,4
Endosperma	82,3	86,4	9,4	0,8	0,6	0,3
Embrião	11,5	8,2	18,8	34,5	10,8	10,1
Pericarpo	5,3	7,3	3,7	1,0	0,3	0,8
Ponta	0,8	5,3	9,1	3,8	1,6	1,6

2.5 O milho híbrido

Shull (1909) e East (1909) foram os primeiros a utilizar a endogamia seguida de cruzamentos em milho. Shull (1909) estudou a variabilidade dentro de uma população de milho e concluiu que uma população de polinização livre inclui vários genótipos e, pelo processo de endogamia, pode-se ter uma série de linhagens puras. Intercruzando as linhagens puras, observou que o vigor era restaurado nos cruzamentos (híbridos simples).

Em 1909, Shull, com base nos seus estudos e convencido de que o método tinha potencial para melhorar a produtividade do milho, sugeriu o seguinte procedimento: autofecundar dentro de uma população heterozigótica para obter as linhagens puras, posteriormente realizar os cruzamentos entre as linhagens e avaliar os híbridos para determinar os mais produtivos. Entretanto, nesse mesmo período, o método foi criticado, pois, questionava-se se essa semente híbrida poderia ser produzida a um custo acessível aos agricultores, considerando-se a baixa produtividade das linhagens utilizadas para tal procedimento.

O uso comercial de sementes de milho híbrido só foi aceito quando Jones (1918) sugeriu o uso de híbridos duplos, resultantes do cruzamento de dois híbridos simples, o que superou as desvantagens da produção de sementes de híbridos simples. Entre os anos de 1950 e 1960, o desempenho dessas cultivares foi tão convincente que o Corn Belt americano, foi quase totalmente plantado com híbridos duplos de milho (Hallauer, 1990). Os primeiros híbridos simples (HS) começaram a surgir no mercado no início da década de 1960 e eram mais produtivos e uniformes que os híbridos duplos, embora o custo da semente fosse maior.

Paterniani (1978) cita algumas vantagens da utilização do híbrido (vigor de híbrido ou heterose, como é mais conhecida): (1) associar características de

genitores distintos no menor espaço de tempo possível; (2) obter genótipos superiores em um prazo relativamente curto; (3) utilizar interações gênicas na geração híbrida; (4) produzir genótipos uniformes; (5) conseguir menor interação com o ambiente na geração F_1 e (6) produzir sementes de milho híbrido comercialmente, com reflexos favoráveis sobre a economia da região.

Atualmente, os tipos de híbridos que podem ser sintetizados segundo Miranda Filho & Viégas (1987) são:

1) híbrido *Top cross*: é o resultado do cruzamento entre linhagens parcialmente endogâmicas (S_2 , ..., S_4) com um testador. O conceito original sugeria que o testador deveria ser uma variedade de base genética ampla, mas, atualmente, são utilizados híbridos simples ou linhagens-elite, dependendo da fase em que se encontra o programa. Esse tipo de híbrido tem grande importância nos programas de melhoramento, sendo amplamente utilizado na avaliação da capacidade combinatória das progênes (ou linhagens) e na seleção de novas linhagens em fases iniciais de obtenção;

2) híbrido simples: é resultante do cruzamento de duas linhagens endogâmicas (A x B). Geralmente, é mais produtivo do que outros tipos de híbridos, apresentando grande uniformidade de plantas e espigas. As sementes têm elevado custo de produção porque a fêmea de um híbrido simples é uma linhagem que possui baixa produtividade. Atualmente, os híbridos simples representam 100% das cultivares plantadas nos EUA. No Brasil, o plantio desse tipo de híbrido tem aumentado ano a ano (Troyer, 1999);

3) híbrido simples modificado: utiliza como genitor feminino o híbrido formado pelo cruzamento de duas linhagens aparentadas (A x A') e, como genitor masculino, uma linhagem B, dando origem ao híbrido simples modificado [(A x A') x B]. O custo de produção de sementes deste híbrido é menor se comparado ao do híbrido simples, em função do maior vigor gerado no

genitor feminino. Este aumento no vigor também causa um incremento na reprodutibilidade do híbrido, que reflete no custo final;

4) híbrido triplo: é obtido pelo cruzamento de um híbrido simples (A x B) com uma terceira linhagem (C), dando origem ao híbrido triplo [(A x B) x C]. A linhagem polinizadora (C) deve ser suficientemente vigorosa para fornecer grande quantidade de pólen, suficiente para garantir uma boa polinização e produção de grãos no híbrido simples. O híbrido triplo também pode ser obtido na forma de híbrido modificado, isto é (A x B) x (C x C'), em que C e C' são duas linhagens aparentadas. O híbrido triplo apresenta uniformidade e estabilidade intermediárias quando comparado a um híbrido simples;

5) híbrido duplo: é resultante do cruzamento de dois híbridos simples [(A x B) x (C x D)], isto é, proveniente do cruzamento entre quatro linhagens. Apesar de esse híbrido ter tornado economicamente viável a produção comercial de sementes híbridas no início do século passado, exige muito trabalho e elevado custo para a manutenção das quatro linhagens e cruzamento entre elas, para a obtenção dos híbridos simples que, posteriormente, serão novamente cruzados para a obtenção do híbrido duplo. Este híbrido apresenta menor uniformidade de plantas, espigas e produtividade, no entanto, possui alta estabilidade;

6) híbrido de F₂ e intervarietais: obtido a partir do cruzamento de variedades, estes híbridos apresentam a vantagem de serem de fácil obtenção, além de exibirem uma maior capacidade de adaptação, devido à maior variabilidade genética em relação aos híbridos de linhagens. Apresentam grande desuniformidade quanto aos caracteres agronômicos, sendo, por isso, pouco utilizados. Por permitirem o aproveitamento da heterose, sem a necessidade de obtenção de linhagens, suas gerações avançadas podem ser utilizadas como populações base para o melhoramento interpopulacional. A partir destas populações podem ser extraídas linhagens superiores que darão origem a novos híbridos.

Para a safra de 2005/06, foram disponibilizadas, para comercialização, 237 cultivares de milho no Brasil (Cruz et al., 2005), sendo nove de milhos especiais (seis cultivares de milho pipoca, uma de milho doce, uma de milho ceroso e uma para utilização de canjica).

TABELA 2. Tipos de híbridos disponibilizados para a safra 2005/06, no Brasil.

TIPOS DE HÍBRIDOS	% OFERTADA NA SAFRA 2005/2006
HS (híbrido simples)	41,7
HT (híbrido triplo)	25,2
HD (híbrido duplo)	29,0
Variedades	4,1

Fonte: APPS (Associação Paulista dos Produtores de sementes) – 15/09/2005

Verifica-se um crescente aumento no número de híbridos simples, modificados ou não, que representam, hoje, 41,7% das opções de mercado (Tabela 2). Os híbridos simples e triplos, modificados ou não, representam hoje 66,9% das opções para os produtores. Do total de cultivares disponíveis, aproximadamente 55% são consideradas precoces, para as quais há uma crescente procura, na medida em que vários agricultores começaram a adotar uma segunda safra na propriedade.

Duvick & Cassman (1999) relatam que há uma tendência, na agricultura brasileira, de aprimorar os sistemas de produção, para melhor explorar o potencial genético dessas sementes, pois a produção média dos países desenvolvidos é de 8,0 t ha⁻¹, enquanto que a produção média brasileira gira em torno de 3,0 t ha⁻¹. Também, Pingali & Pandey (2001) citam que essa grande diferença é atribuída não somente ao material genético utilizado na produção de híbridos, mas também às variações climáticas (tropical versus temperado) e às tecnologias empregadas em ambos os grupos de países (desenvolvidos versus países em desenvolvimento).

No Brasil, a utilização de híbridos está associada ao tamanho da propriedade, à renda *per capita* do produtor, à infra-estrutura e ao investimento na pesquisa; o uso reduzido de híbridos está associado, basicamente, ao custo elevado das sementes (Rosinha, 2000). No entanto, segundo o mesmo autor, as perspectivas do mercado de sementes brasileiro indicam que, a médio e longo prazos, a agricultura deve evoluir, passando a utilizar somente híbridos simples em vez de híbridos duplos e triplos, assim como ocorreu no restante do mundo.

Já as empresas do setor de produção de sementes híbridas de milho caracterizam a existência de quatro grandes segmentos de agricultores no Brasil (Rosinha, 2000):

- 1) segmento de altíssima tecnologia (20% do mercado);
- 2) segmento de alta tecnologia (32% do mercado);
- 3) segmento de média tecnologia (48% do mercado);
- 4) segmento de baixa tecnologia.

Os agricultores que pertencem ao primeiro segmento são aqueles que têm o controle quase que total de todos os detalhes que interferem no sistema produtivo da fazenda e que empregam os mais modernos insumos e práticas agrícolas (calagem, plantio direto, herbicidas, inseticidas, irrigação, colheita mecanizada), além de utilizarem a agricultura de precisão em seu benefício. Além disso, têm grandes preocupações com a qualidade e, normalmente, estão capitalizados; representam 20% do mercado e exigem das empresas híbridos simples, simples modificados e triplos, que melhor atendam as suas expectativas de desempenho e qualidade ao longo das safras.

O segundo segmento, de alta tecnologia, abrange 32% do mercado, compreendendo agricultores que se diferenciam daqueles do primeiro segmento, por serem menos capitalizados. Utilizam híbridos triplos e duplos de alta produtividade, visando sempre um equilíbrio entre desempenho no campo e custo de semente, reduzindo, assim, o nível de tecnologia empregado na lavoura.

Responsável por 48% do mercado, o terceiro segmento é constituído por agricultores que, na grande maioria, adotam sistemas precários de controle de suas atividades. Em função da baixa capacidade de investimento, utilizam os híbridos duplos, considerando o menor nível de tecnologia a ser empregado.

O quarto segmento, que nem sempre é mencionado pelas empresas, abrange os agricultores que fazem uso das variedades de polinização aberta. Além destes, há ainda os que utilizam suas próprias sementes (sementes de “paiol”) para o plantio, mas, por não adquirirem sementes das empresas, não são considerados como segmento de mercado.

Silva & Ferreira (2003), ao compararem o desempenho agrônomico e econômico de diferentes tipos de cultivares de milho, sob diferentes condições de manejo, verificaram que, para os níveis de manejo baixo e médio, não houve diferença estatística entre tipos de cultivares (variedades, híbridos simples, triplos e duplos), quanto ao rendimento de grãos. Esses resultados corroboram a idéia de que o uso de cultivares híbridas, por produtores que adotam baixo nível tecnológico, não se justifica, pois, sob tais condições, não conseguem expressar o potencial produtivo e apresentam desempenho semelhante ao de cultivares de polinização aberta, de custo muito inferior. Paralelamente, Sangoi et al. (2006) fizeram uma análise técnico-econômica de diferentes níveis de manejo na cultura do milho e observaram rendimentos médios de grãos, que variaram de 3 t ha^{-1} no baixo nível de manejo a $15,9 \text{ t ha}^{-1}$, no manejo potencial (alta tecnologia). Comparando-se esses resultados com os rendimentos médios de grãos observados no Brasil, entre 3 e 4 t ha^{-1} (Conab, 2005), verifica-se que a maioria dos produtores de milho no Brasil adota sistemas de manejo de baixa tecnologia.

Em muitos casos, o maior custo de semente destes híbridos de alta produtividade poderia ser compensado pelo incremento obtido na produtividade de grãos. Como mais de 50% dos produtores de milho trabalha com média/alta

tecnologia, utilizando híbridos de alta produtividade (10 t ha^{-1}), qualquer incremento na produtividade justifica o uso destas sementes.

2.6 Endogamia e heterose em milho

O termo endogamia pode ser definido como sendo o excesso de homozigotos em uma população em equilíbrio, devido ao cruzamento entre indivíduos aparentados. O fenômeno da endogamia em milho leva a uma redução no vigor, na produtividade e ao retardamento no florescimento. Segundo Hallauer (1990), em média, a altura da planta pode ser reduzida em 25%, o número de dias para o florescimento pode aumentar em 6,8% e a produtividade de grãos pode ser reduzida em até 68%, comparando-se linhagens endogâmicas com não endogâmicas.

A depressão por endogamia pode ser quantificada pela redução na média da população que ocorre devido a efeitos não aditivos, isto é, o incremento dos homozigotos ou o decréscimo dos heterozigotos leva à endogamia, chegando a seu máximo durante o processo de autofecundação (Miranda Filho, 1999).

Na literatura, são encontrados vários trabalhos que citam as estimativas de depressão por endogamia para várias características, empregando diferentes populações de milho.

Hallauer & Sears (1973) encontraram modificações ocorridas nas características agrônômicas das plantas durante um período de sete gerações de autofecundação da população *Iowa Stiff Stalk Synthetic* (BSSS), em que a produtividade foi reduzida em torno de 4.490 kg ha^{-1} entre as gerações S_0 e S_7 .

Good & Hallauer (1977) observaram valores semelhantes de depressão por endogamia em linhagens selecionadas da população BSSS, entretanto, utilizaram diferentes tipos de sistema de acasalamento: autofecundação,

progênies de irmãos completos e a combinação de ambos. A redução na produtividade foi de 4.600 kg ha⁻¹ entre as gerações S₀ e S₇.

Alguns trabalhos, como o de Araújo & Gerage (2002), comprovam que quanto menos melhorada a população que está sendo trabalhada, maior será a depressão por endogamia que ela sofrerá. Em seu experimento, eles utilizaram nove híbridos comerciais e quatro populações para estimar a depressão por endogamia. Usando um esquema dialélico, 13 genitores foram cruzados e foram obtidos 78 híbridos que foram avaliados. Além disso, os treze genótipos foram autofecundados para a obtenção da geração S₁, que também foi avaliada. Os valores de depressão por endogamia variaram entre 20% e 66% para os híbridos e entre 42% a 62% entre as populações. De maneira geral, as populações atingiram valores altos de endogamia, possivelmente devido à baixa seleção feita dentro destas populações, visando melhorar sua produtividade.

Outros pesquisadores, como Lima et al. (1984), Nass & Miranda Filho (1995), Vasal et al. (1995) e Viana et al. (1982), também encontraram resultados semelhantes para depressão por endogamia em seus programas de melhoramento, sendo o valor encontrado variável conforme o grau de parentesco e o tipo de população utilizada.

A endogamia está intimamente correlacionada com a obtenção de linhagens para a exploração na forma de cruzamentos que darão origem a híbridos elite, nos programas de melhoramento de milho. A heterose a ser explorada por esses cruzamentos é a fonte de sucesso dos programas de híbridos de milho no mundo.

Já a heterose é o oposto da endogamia, pois está associada ao vigor observado em cruzamentos entre genótipos divergentes, resultando no vigor dos híbridos em relação aos pais (Suresh & Khanna, 1975). Shull (1909) propôs usar o termo heterose, pois representa a superioridade do híbrido F₁ em relação à média dos pais.

Existem, basicamente, três hipóteses para explicar a heterose: a hipótese da dominância, em que existe superioridade do heterozigoto devido ao fato de que o alelo deletério recessivo estar encoberto pelo alelo dominante; a hipótese da sobredominância pressupõe-se que o heterozigoto é superior a qualquer dos homozigotos e a terceira hipótese refere-se a interações epistáticas como fonte da heterose. Segundo Falconer (1981), a heterose pode ser explicada pela divergência genética e também pelos efeitos de dominância dos alelos que controlam o caráter em questão.

Visando maximizar a heterose, os programas de melhoramento procuram fazer os cruzamentos entre linhagens e populações de grupos heteróticos distintos, alcançando, então, máximo desempenho dos híbridos advindos destes cruzamentos.

Para Falconer & MacKay (1997), a heterose só se manifesta quando as populações são divergentes geneticamente e quando o caráter tiver alto nível de dominância direcional. Nesse caso, os cruzamentos podem ser direcionados a capitalizar a heterose nos híbridos e, conseqüentemente, os híbridos oriundos de grupos heteróticos distintos apresentarão desempenho superior em relação àqueles formados por cruzamentos entre linhagens do mesmo grupo heterótico (Hallauer & Miranda Filho, 1988). Os grupos heteróticos podem ser identificados com o auxílio de cruzamento dialélicos, nos quais uma série de genótipos é cruzada entre si, em todas as combinações possíveis. Estes cruzamentos permitem que sejam feitas as estimativas da capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) das linhagens.

Os conceitos de CGC e CEC são úteis na discriminação das linhagens nos grupos heteróticos. Segundo Cruz & Regazzi (1994), a magnitude do quadrado médio da CGC e do quadrado médio da CEC pode evidenciar a importância de efeitos aditivos e não aditivos no controle do caráter, tendo os

efeitos da CGC (g_i) proporcionado informações sobre a concentração de alelos predominantemente aditivos, indicando genitores a serem utilizados em programas de melhoramento intrapopulacional. Já os efeitos da CEC (s_{ij}) evidenciam a importância dos genes que exibem efeitos não aditivos (dominância e epistasia).

Além dos cruzamentos dialélicos, uma ferramenta que tem sido muito utilizada por melhoristas para alocar as linhagens em grupos heteróticos distintos são os marcadores moleculares. No entanto, existe certo número de pesquisadores que utiliza essa nova tecnologia para montar seus grupos heteróticos, embora pequeno, comparado ao dos que utilizam cruzamentos dialélicos.

2.7 Definições de xênia e metaxênia

O termo xênia é originário do grego *xenos*, que significa “um estranho ou hóspede” e o prefixo “meta” indica superioridade ou pode, ainda, indicar mudança ou transformação como metamorfose (Denney, 1992).

De acordo com Denney (1992), o efeito xênia é ocasionado pela ação direta do pólen no embrião e no endosperma, alterando a cor, a textura e o peso das sementes de frutíferas e grãos, enquanto metaxênia indica que o pólen tem ação direta nos tecidos maternos da planta-mãe.

Segundo Brink & Cooper (1947), foi Focke, em 1881, quem criou o termo xênia para todas as mudanças da forma ou da cor, em muitas partes da planta, atribuídas à ação do pólen estranho. Essa definição não foi muito bem aceita e, posteriormente, surgiram várias outras. De acordo com Denney (1992), uma das definições mais antigas foi idealizada por Winburne, em 1962, que definiu xênia como sendo o efeito imediato do pólen sobre o endosperma, devido à dupla fertilização, afetando, assim, o aspecto da semente. Já metaxênia

foi definido como sendo o efeito direto do pólen em partes da semente e do fruto, mudando externamente o embrião e o endosperma. Em 1989, Westwood definiu xênia e metaxênia como sendo o efeito do pólen estranho em tecidos maternos dos frutos.

Para Mercer (2001), o fenômeno de xênia pode ser definido como o resultado do cruzamento que se manifesta na geração da planta-mãe. Este fenômeno tem grande importância, uma vez que é possível verificar seu efeito na geração do cruzamento, ganhando-se tempo.

2.7.1 Fenômenos de xênia na cultura do milho

Vários experimentos envolvendo diversos tipos de híbridos têm apontado que o efeito do pólen estranho altera o desenvolvimento de grãos de milho, geralmente promovendo diferenças no peso e na qualidade de sementes autofecundadas e de fertilização cruzada. Sabe-se que esse efeito do grão de pólen pode ocorrer tanto no embrião como no endosperma ou em ambos, pois, devido à dupla fertilização, a fêmea contribui com metade dos gametas femininos para formar o embrião e $2/3$ para formar o endosperma, e o macho contribui com metade dos gametas masculinos para o embrião e $1/3$ para o endosperma.

Kiesselbach (1926) relatou que, ao polinizar espigas de milho doce com milho dentado, o aumento de produtividade foi de 35%, em relação ao cruzamento doce x doce.

Tsai & Tsai (1990) observaram que o endosperma do híbrido P 3732 foi modificado quando polinizado com pólen do híbrido B 73 X Mo 17, apresentando um aumento significativo no peso do grão e no conteúdo de proteína. No entanto, não houve o mesmo efeito quando B 73 X Mo 17 foi

polinizado com o pólen de P 3732. Resultados semelhantes foram observados por Bullant & Gallais (1998).

Weiland (1992) observou que o pólen de um híbrido tardio (LH 146 X LH 82) aumentou o rendimento de um híbrido precoce (B73 x LH 156) em alguns casos, aumentando o período de enchimento de grãos, o que também nem sempre foi observado no cruzamento recíproco. Portanto, o efeito de alelos de origem materna influencia o período de enchimento dos grãos e alelos de ambos os parentais controlam a taxa de crescimento dos mesmos (Poneleit & Egli, 1983).

Bulant & Gallais (1998) utilizaram linhagens e híbridos de grãos brancos como fêmea e várias linhagens de grãos amarelos como macho em seu experimento. Verificaram que, quando as linhagens fêmeas foram polinizadas com a mistura de polens estranhos (alopólen) e delas próprias (autopólen), houve um aumento no peso médio dos grãos variando entre 11% e 13%, em três anos de estudo. Também foi possível averiguar, em seu experimento, que, quando se utilizou um bom genótipo como doador de pólen, o dreno na espiga foi maior, pois o enchimento dos grãos autofecundados (brancos) foi estimulado devido à presença de grãos cruzados (amarelos) na mesma espiga. Portanto, esses resultados mostram que, se em uma lavoura for possível cultivar mais de um híbrido, será possível obter um aumento no rendimento, desde que os pares de híbridos em cruzamento apresentem uma combinação específica.

Utilizando híbridos com tamanhos de grãos contrastantes, Pinter et al. (1987) verificaram que houve efeito significativo para aumento do tamanho e peso de grão, ao polinizarem um híbrido de sementes pequenas (fêmea) com um híbrido com semente 30% a 39% maior (macho), em dois anos consecutivos de experimento. No entanto, para os genótipos Scze Sc369 (semidentado) e P 3901 (dentado), o efeito da polinização cruzada foi não significativo, com a diferença

entre o tamanho dos grãos sendo de apenas 12,3% e 15,4%, em dois anos de estudo.

Mais recentemente, Seka et al. (1995 b), trabalhando com tamanho de grãos variável, utilizaram híbridos simples com genótipos de grãos grandes e pequenos, identificados com um marcador morfológico *R-nj* (que codifica para cor na aleurona) e verificaram que houve um aumento de 34,6% no peso da espiga.

Segundo Denny (1992), os resultados de xênia podem ser interpretados como uma manifestação precoce da heterose, a qual aumenta a habilidade do endosperma, modificado geneticamente pela polinização cruzada, em acumular os fotoassimilados, determinando, assim, o peso final do grão. Quanto maior for a divergência entre a planta receptora e a planta doadora de pólen, maiores são as chances desse fenômeno ocorrer.

Mercer (2001), também trabalhando com linhagens de milho branco (B203, B204 e B207) e amarelo (A20, A33 e A47), verificaram que houve um expressivo aumento na produtividade (7,9%), quando se polinizou a linhagem branca com a amarela em relação à polinização da linhagem branca x branca, mostrando que o efeito xênia contribui com o incremento no peso dos grãos e, conseqüentemente, na produtividade média da planta. Foi possível concluir também que o efeito xênia variou, como em outros experimentos, com a linhagem polinizadora e receptora, o que é um indicativo de que esse fenômeno não pode ser generalizado para todos os casos.

Weingartner et al. (2002) verificaram que o cruzamento entre híbridos com macho esterilidade (CMS 1, 2 e 3) e híbridos normais (H1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8), em campos de produção, apresentou um aumento de produtividade de 21,4%, comparado ao mesmo cruzamento envolvendo uma linhagem isogênica que não apresentava a macho esterilidade. Concluiu, em seu trabalho, que o efeito de xênia, associado com a macho esterilidade, pode trazer um significativo aumento

na produtividade de híbridos europeus, além de esse sistema não requerer maiores investimentos do que os que já existem.

Andrade & Pereira (2005) testaram 6 cultivares de milho para produtividade e teor de proteína e óleo. Nesse experimento, em que foram avaliados cruzamentos entre híbridos simples, duplos e triplos, verificou-se que houve efeito xênia muito pronunciado para peso de grãos em alguns cruzamentos, chegando a aumentar a produtividade em 20%. Para teor de óleo, houve uma redução de 9,0% para o cruzamento entre DKB 333B e Tork, enquanto que os conteúdos de óleo do AG 8080 e Tork, quando polinizados pelo DKB 333B, aumentaram em 15%. No entanto, verificou-se inconsistência dos dados quando o experimento foi colocado na safrinha, o que pode ser explicado pela forte interação genótipos x ambientes. Segundo esses autores, quando houver coincidência entre os florescimentos das cultivares e o cruzamento for entre parentais contrastantes, há grande possibilidade de se encontrar efeito xênia e este ser bastante pronunciado. Como a mistura de cultivares pelo agricultor não requer custo algum, essa técnica pode ser empregada sempre que houver interesse.

No caso do milho, além da produtividade, outros caracteres também são importantes: teor de óleo, proteína, amido e outras substâncias químicas que tornam o grão de melhor qualidade e mais atrativo para mercados específicos. Esses caracteres também podem sofrer o efeito de xênia. A empresa Dupont licenciou, em 1997, o sistema Top Cross® para a produção de milho com maior teor de óleo. Este sistema consiste na utilização de um híbrido macho-estéril com baixo teor de óleo e com alto rendimento (plantio em 90% a 95% da área da lavoura), e uma população com alto teor de óleo, utilizada como polinizadora (plantio em 5% a 10% da área da lavoura). Devido ao efeito xênia, metade do conteúdo de óleo da população polinizadora é transferida para o híbrido estéril, possibilitando alto rendimento de grãos e alto teor de óleo. Com auxílio deste

sistema, foi possível reunir as duas características (alto teor de óleo e alto rendimento) no mesmo genótipo de milho, o que seria mais difícil de ser conseguido por meio dos métodos convencionais de melhoramento, pelo fato dos caracteres serem correlacionados negativamente, como comprovado pelo trabalho de Rosulj et al. (2002). Estes autores estudaram as populações sintéticas DS7u e YuSSSu e observaram que, após nove ciclos de seleção massal, as populações mostraram um aumento no conteúdo de óleo de 16,1% e 12,8% por ciclo, respectivamente. No entanto, para rendimento de grãos houve um decréscimo de 1,41% por ciclo na população DS7u e 1,24% na população YuSSSu. Se o mesmo experimento tivesse sido esquematizado com o auxílio do método da DuPont, onde se utiliza o efeito xênia, este problema poderia ser resolvido.

Batista & Tosello (1982), analisando o efeito do pólen sobre a porcentagem de óleo no grão de milho oriundo de espigas autofecundadas e de polinização livre, ambas obtidas na mesma planta para evitar os efeitos do citoplasma e do genoma materno, obtiveram resultados que revelaram uma depressão endogâmica de 4%, indicando a participação direta da fonte polinizadora no germoplasma estudado. Embora a fonte polinizadora tenha influenciado o conteúdo de óleo dos grãos, o efeito principal foi o da fonte materna, como demonstrou a elevada correlação linear entre os dois tipos de progênies avaliadas ($r=0,67^{**}$).

Letchworth & Lambert (1998) observaram que maior concentração de óleo foi obtida em grãos de polinização livre, comparados aos de autofecundação. Essa diferença foi observada em cinco dos doze híbridos estudados. Os dados mostraram que os híbridos com baixo teor de óleo apresentaram significativamente maior concentração de óleo quando sofreram polinização cruzada do que quando foram autofecundados. Essas observações mostraram que, em híbridos de alto teor de óleo, foi reduzida a concentração

dessa substancia, quando houve polinização livre, ao contrário de híbridos com baixo teor, nos quais, pela polinização livre, a concentração de óleo se elevou. No mesmo estudo, observou-se o efeito do pólen na concentração de proteína no grão dos híbridos que apresentavam alto teor e baixo teor dessa substância. Nesse caso, tanto para cruzamento como para autofecundação, não foram encontradas diferenças significativas. Estes resultados indicam que o pólen não afetou a concentração de proteínas no grão, ou seja, para esse caráter, houve efeito materno ou, simplesmente, os híbridos não apresentaram uma capacidade específica de combinação suficiente para mostrar efeito xênia.

Scapim et al. (2002) efetuaram o cruzamento entre 9 populações de milho pipoca e encontraram efeitos de xênia para capacidade de expansão e produtividade, recomendando que essa técnica fosse aplicada a outras populações.

2.8 Marcadores morfológicos, bioquímicos e moleculares

Marcadores genéticos são caracteres de herança simples e visível capazes de diferenciar dois ou mais indivíduos ou organismos. Os primeiros marcadores genéticos utilizados foram os morfológicos, como a coloração de flores ou formato de frutos. Apesar de úteis em alguns casos, o número disponível desses marcadores é limitado, o que pode dificultar sua utilização em estudos de genética e melhoramento.

O uso de marcadores genéticos foi acelerado nas décadas de 1960 e 1970, com o advento dos marcadores bioquímicos e moleculares. Enquanto os marcadores bioquímicos representam um produto da expressão do DNA, como proteínas, os marcadores moleculares resultam diretamente do polimorfismo do DNA. Apesar de passadas várias décadas desde sua descoberta, os marcadores bioquímicos continuam a ser empregados em estudos de populações naturais

como nos trabalhos de Ribas (2003) e Sebbenn (2001), em que o intuito foi estudar populações de jequitibá-rosa e embaúba, respectivamente.

Com o surgimento da técnica de *Polymerase Chain Reaction* (PCR), na década de 1980, concomitantemente à descoberta de novos marcadores de DNA, vieram à tona novas possibilidades de uso, tendo em vista a maior facilidade de geração de dados devido ao aumento do número de locos e do número de indivíduos amostrados. Os esforços para integrar as técnicas de biologia molecular aos procedimentos convencionais de melhoramento de plantas têm como objetivo a otimização da eficiência da seleção.

No melhoramento de plantas, os marcadores genéticos podem ser utilizados para diversos fins. Entre eles, o agrupamento de genótipos em grupos heteróticos distintos (Coart et al., 2002; Drinic et al., 2002), estudos sobre diversidade genética entre acessos de germoplasma (Benchimol et al., 2000; Wadt et al., 2004), auxílio nos programas de retrocruzamento (Openshaw et al., 1994), estudos sobre a base genética de um determinado caráter quantitativo (Ming et al., 2002), detecção de *Quantitative Trait Loci* (QTL) relacionados a caracteres de interesse agrônomo (Sibov et al., 2003) e para diferenciar e caracterizar genitores (Von Pinho et al., 1997).

Atualmente, a valorização da qualidade das sementes foi intensificada com a aprovação da Lei de Sementes, nº10.711, de 05 de agosto de 2003, que fortaleceu a fiscalização da produção e a comercialização desse insumo no país. No entanto, para garantir a qualidade das sementes, é necessário uma atenção especial à sua pureza genética, pois esta irá garantir que as características de interesse acrescentadas aos materiais comerciais sejam mantidas e expressas nos cultivos subsequentes (Craig, 1977; Stuber et al., 1988). Como, na cultura do milho, a grande maioria das cultivares comercializadas é híbrida, obtidas a partir de cruzamentos entre linhagens, faz-se necessária a utilização desses

marcadores, sejam eles morfológicos, bioquímicos ou moleculares, com o intuito de garantir a pureza genética.

A avaliação da pureza genética tem sido realizada, na maioria dos casos, por meio de marcadores morfológicos baseados em características das sementes, plântulas, plantas em desenvolvimento e espigas. Esta técnica ainda é utilizada por muitos melhoristas por ser simples, fácil e barata.

Johnson & Miller (1939) relataram que a expressão de xênia, em sementes de milho, pode ser utilizada na estimativa da pureza genética. Assim, dependendo dos genótipos envolvidos, contaminações resultantes de pólen estranho poderão ser identificadas nas sementes, sem a necessidade de avaliação das características das plântulas.

2.8.1 Marcadores morfológicos

Até meados da década de 1960, os marcadores utilizados em estudos de genética e melhoramento eram controlados por genes associados a caracteres morfológicos. Em geral, características fenotípicas de variação discreta e fácil identificação visual são utilizadas como marcadores morfológicos desde os tempos de Mendel, tais como deficiência clorofílica, cor de pétala, morfologia foliar, cores da base do mesocótilo e das raízes, altura da planta, ocorrência de perfilho, data de emissão do estilete-estigma, grau de macho esterilidade, características da palha da espiga, dos grãos e espigas na maturidade (Pauksens, 1978; Pauksens & Dhesi, 1978; Cardy & Kannenberg, 1982).

Existe um número variável de marcadores morfológicos para as diferentes espécies de plantas, contudo, ainda são insuficientes para mapeamento genético ou outras aplicações. Além disso, esses marcadores, freqüentemente, são afetados pela ação gênica de dominância, pleiotropia e epistasia, além da interação com o ambiente (Ditmer, 1979; Schmidt, 1979; Smith & Smith, 1989).

O número reduzido e a natureza dos marcadores morfológicos restringiram os estudos dos caracteres quantitativos às espécies onde havia sido alcançada uma caracterização genética substancial. Sax (1923) verificou, em feijão, que as diferenças nas médias do peso de grãos estavam associadas à cor das sementes. Foi a primeira tentativa de caracterização individual dos locos (QTL) envolvidos na expressão de um caráter quantitativo (QT), com auxílio de marcadores morfológicos.

Marcadores morfológicos têm como vantagem a rapidez na aplicação e o baixo custo. No entanto, apresentam a desvantagem de serem somente identificados, em sua maioria, no nível de planta inteira ou adulta. Por outro lado, marcadores bioquímicos ou fragmentos de DNA podem ser utilizados a partir de amostras de células ou de tecidos de partes da planta (folhas, embriões, cotilédones, pólen) e também em qualquer estágio de desenvolvimento da planta.

Segundo Payne (1986), até este ano, 50% dos laboratórios filiados à *Association of Official Seed Analysts* (AOSA) utilizavam características morfológicas de sementes e de plantas para a identificação varietal, e os demais utilizavam eletroforese de isoenzimas.

2.8.2 Marcadores bioquímicos

Testes eletroforéticos baseados em caracteres bioquímicos começaram a ser utilizados a partir da década de 1960 (Markert & Moller, 1959). As isoenzimas foram definidas como sendo diferentes formas moleculares (variantes) de uma mesma enzima, apresentando função idêntica ou similar, presentes num mesmo indivíduo, isto é, o resultado da presença de mais de um gene, codificando cada uma das enzimas. As isoenzimas começaram a ser utilizadas em combinação com teste de zeínas, como marcadores genéticos

somente a partir de 1966 (Lewontin & Hubby, 1966). Estes estudos tiveram grande impacto na análise da pureza dos híbridos, como descritores adicionais para a identificação de cultivares e linhagens.

Até hoje, são utilizados para diagnosticar cruzamentos e autofecundações (McDonald Junior, 1990; Stuber et al., 1988), na caracterização de híbridos (Koranyi, 1989) e linhagens de milho (Goodman & Stuber, 1983), apresentando, como vantagem em relação ao marcador morfológico, a insensibilidade à pleiotropia e à epistasia. Também são co-dominantes, isto é, em um indivíduo diplóide, ambos os alelos de um loco são expressos e visualizados, ou seja, discrimina o heterozigoto do homozigoto.

A propriedade mais expressiva é a base genética simples envolvida na expressão destas enzimas (Soltis & Soltis, 1989), o que torna a identificação de polimorfismos rápida e simples (Brewer, 1970). As isoenzimas são utilizadas na caracterização da diversidade genética de populações naturais e genótipos cultivados, estudos de ligação genética entre sistemas enzimáticos ou destes com outros locos e têm aumentado a resolução de mapas genéticos em várias espécies, como *Capsicum annuum*, *Cicer arietinum*, *Lens culinaris*, *Phaseolus acutifolius* e *Pisum sativum* (Gauer & Slinkard, 1990; Tanksley, 1984). Entretanto, é uma técnica pouco utilizada, quando comparada com o uso de marcadores morfológicos, pois o princípio básico envolvido na obtenção e detecção de cada classe de marcador bioquímico reside no uso de eletroforese, e isso demanda custos apreciáveis, representatividade das amostras e perfeito conhecimento das isoenzimas dos parentais do híbrido (Smith & Weissinger, 1984).

Outra limitação dos testes eletroforéticos para a avaliação da pureza genética é o grande volume de lotes de sementes produzidos em cada safra, os quais são submetidos à avaliação da pureza genética pelas empresas produtoras. Além disso, segundo Ferreira & Grattapaglia (1998), um número muito pequeno

de locos é amostrado, há poucos locos polimórficos no germoplasma elite, existe apenas um pequeno número de sistemas isoenzimático disponível, não há cobertura total do genoma e também ocorre influência ambiental sobre a atividade enzimática.

2.8.3 Marcadores moleculares

Atualmente, os marcadores moleculares ganharam grande expressão no meio científico. Com o advento das técnicas de biologia molecular, surgiram diversos tipos de marcadores, que detectam o polimorfismo genético no DNA. Os marcadores moleculares podem ser derivados de qualquer tipo de dado molecular que forneça um polimorfismo detectável entre os organismos a serem comparados (plantas, animais, etc.).

Os marcadores moleculares são utilizados em análises genéticas com as mais diversas finalidades, tais como identificação de clones, linhagens, híbridos, cultivares, taxa de diversidade, fluxo gênico e, atualmente, na quantificação da taxa de cruzamento (Buso et al., 2003).

Para Milach (1998), os marcadores moleculares podem ser classificados em dois grupos: os de hibridização e os de amplificação de DNA. Entre os identificados por hibridização estão os marcadores *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) e minissatélites ou locos *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR).

Os revelados por amplificação do DNA incluem os marcadores tipo *Random Amplified of Polymorphic DNA* (RAPD), *Sequence Characterized Amplified Regions* (SCAR), *Sequence Tagged Sites* (STS) ou *Amplified Specific Amplicon* (ASA), microssatélites ou *Simple Sequence Repeats* (SSR) e *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP).

2.8.3.1 Marcadores microssatélites

Mais recentemente, dentre as técnicas de marcadores de DNA disponíveis, pode ser destacada a de microssatélites ou *Seqüências Simples Repetidas* (SSR), em que segmentos de seqüência repetida, distribuídos aleatoriamente no genoma, são amplificados utilizando-se pares de *primers* específicos. A técnica de microssatélites é caracterizada pela simplicidade, rapidez e precisão na geração dos perfis genéticos, sendo, ainda, facilmente automatizada.

Em plantas, uma das primeiras constatações da eficiência da utilização de primers microssatélites foi feita por Nybom et al. (1992). São altamente polimórficos em plantas, animais e microrganismos. Em plantas, apresentam uma freqüência de um a cada 50 mil pares de bases, sendo o elemento mais repetido o dinucleotídeo AT (Morgante & Olivieri, 1993). A caracterização genética e o mapeamento genético do arroz e outras espécies estão sendo feitos com o uso dos marcadores microssatélites. Comparativamente aos RFLPs, os microssatélites proporcionam 3 a 4 vezes mais polimorfismo. Os microssatélites estão sendo utilizados em larga escala para as principais espécies de importância agrícola e nas espécies modelos. Em breve, eles se tornarão os marcadores mais comuns nos laboratórios (Gupta & Varshney, 2000; Litt & Luty, 1989).

Os marcadores SSR caracterizam-se por serem codominantes, podendo distinguir o homocigoto do heterocigoto. Mesmo em genomas de híbridos simples, que possuem base genética estreita, os SSR podem detectar alto número de alelos por loco, que podem ser úteis como diferenciadores. Vários trabalhos têm apresentado a aplicação de marcadores microssatélites no monitoramento da pureza genética de sementes (Padilha, 2002; Salgado, 2001). Outra vantagem dos microssatélites é que eles requerem uma pequena quantidade de DNA e o mesmo pode ser extraído de qualquer material biológico, sementes ou plântulas

em diferentes fases do desenvolvimento, permitindo uma avaliação precoce e eficiente dos lotes de sementes (Buso, 2003).

No processo de manutenção do estoque de linhagens elites, utilizadas nos programas de melhoramento, é necessário que essas linhagens sejam mantidas com um elevado grau de homozigose e de pureza. Da mesma forma, os marcadores SSR permitem monitorar o nível de homozigose das linhagens e acelerar o processo de obtenção das mesmas, identificando os indivíduos que apresentam maior número de locos em homozigose (Gethi et al., 2002; Padilha, 2002; Prasad et al., 2000; Senior et al., 1998). Uma vez identificada a heterozigosidade residual em uma linhagem, elas podem ser submetidas a um avanço na geração de autofecundação, a partir de indivíduos únicos que apresentem níveis elevados de homozigose entre os locos avaliados. A combinação de um conjunto de locos microssatélites permite o acompanhamento do nível de homozigose dessas linhagens.

A adaptação e a incorporação da tecnologia de marcadores microssatélites às atividades do programa de melhoramento é uma estratégia precisa e eficiente, que pode ser utilizada para garantir elevados padrões de pureza genética das linhagens elite e das sementes híbridas de milho. Além das características fenotípicas, o melhorista terá acesso às informações sobre a variabilidade genética, advinda diretamente do DNA, sendo um grande diferencial na seleção das plantas que serão utilizadas como fonte das sementes genéticas. Por exemplo, Vaz Patto et al. (2004) utilizaram marcadores SSR em seu trabalho, com o objetivo de estudar a diversidade do germoplasma de milhos portugueses para formar grupos heteróticos e, posteriormente, promover os cruzamentos entre populações mais divergentes. Por se tratar de uma técnica de análise rápida, precisa e independente do ambiente, ela supera as limitações inerentes aos marcadores morfológicos utilizados para tais propósitos até então.

Os microssatélites podem ser utilizados como *fingerprinting* na caracterização genética de um genótipo. Isoladamente, os mini ou microssatélites ou em conjunto com outros marcadores moleculares podem ser utilizados para caracterizar e distinguir uma variedade de outra.

Para a diferenciação varietal, três requisitos básicos são essenciais: 1º) distinção - diferentes genótipos devem apresentar distintos padrões de bandas; 2º) uniformidade - o mesmo padrão de bandas deve ser obtido se o procedimento for repetido e 3º) estabilidade - o padrão de bandas não se altera mesmo se o genótipo for cultivado em diferentes ambientes. Futuramente, as impressões digitais de DNA (*fingerprinting*) poderão ter grande utilidade para as empresas produtoras de sementes.

Para milho, já existem conjuntos de microssatélites disponíveis para a utilização em estudos genéticos que podem ser acessados por meio do *Maize Genome Database Page* (www.maizegdp.org/SSR). Portanto, não há necessidade de altos investimentos iniciais para se usufruir desta técnica.

2.9 Isolamento para a produção de híbridos

Para a produção de grãos, até o momento, os agricultores não se preocupam em ter um isolamento entre seus campos. Porém, para sementes, é essencial que se tenha um campo isolado de outro, seja em espaço físico ou em tempo.

Com a legalização dos transgênicos, ficou evidente a importância da pureza varietal, com a qual as empresas produtoras de sementes estão bem familiarizadas.

Esse isolamento pode ser feito por diferença de época de plantio, devendo haver uma diferença de, pelo menos, 40 dias entre o início do florescimento das diferentes cultivares, ou pelo uso de fileiras de bordadura, de

acordo com a distância entre campos de diferentes cultivares, destinados à produção de sementes. A necessidade de isolamento varia de espécie para espécie, assim, para a cultura da soja, três metros são suficientes. No entanto, pode alcançar a um quilômetro, no caso da colza, pois uma contaminação com crucíferas silvestres pode tornar o óleo tóxico para consumo.

Para milho, como o processo para produção destes híbridos é feito de forma manual, exige-se um isolamento no campo ou no tempo, pois as linhagens fêmeas são despendoadas e o pólen da linhagem macho faz o cruzamento natural entre elas para a produção de híbridos. Normalmente, as empresas utilizam isolamentos que variam de 250 a 400 m. Entretanto, em alguns trabalhos envolvendo pólen de plantas transgênicas, esse isolamento pode variar entre 25 a 27 m, pois estudos nesse caso revelaram que menos de 1% do pólen ultrapassou os 27 m (Ma et al., 2004).

Outros trabalhos envolvendo a eficiência da dispersão provaram que menos de 1% do pólen ultrapassou 22m (Paterniani, 1974), indicando ser viável coletar os híbridos isolados a uma distância relativamente pequena sem a necessidade de se utilizar 250 m.

Raynor et al. (1972) estimaram, em seu trabalho, que 98% do pólen liberado pela planta ficava nela mesma e que menos de 1% do pólen chegaria a uma distância de até 60m. Posteriormente, Jarosz et al. (2003) afirmaram que 95% do pólen chegaria a ser depositado em um diâmetro de 10m no campo de sementes.

Jemison & Vayada (2001) utilizaram tecnologia da Monsanto (Roundup Ready) como marcador genético para avaliar a distância percorrida pelo pólen de milho em uma área de 0,3 ha com plantas normais, isto é, sem o gene RR. Em 2 anos de cruzamento livre entre as plantas, foram observadas plantas com o gene RR na proporção de 1,34%, 0,48% e 0,39% a 30, 35 e 40m de distância do centro da área onde estavam as plantas com esse gene.

De acordo com um estudo publicado na Itália, em 2006, pelo *Centro di Documentazione sulle Agrobiotecnologie* (www.iaca.pt), uma distância de separação de 18 metros é suficiente para a coexistência entre milho geneticamente modificado e convencional, respeitando-se o limiar europeu de 0,9% de OGM nos produtos tradicionais. O estudo foi realizado em 40 hectares e, nele, investigadores e técnicos estudaram a disseminação dos genes entre campos, com a ajuda de grãos coloridos. Segundo as conclusões do estudo, uma distância de separação de 18 metros permitiria obter uma taxa de presença de OGM na colheita convencional inferior a 0,9%, limite a partir do qual é obrigatória a etiquetagem na União Européia. O fluxo de genes é inferior a 0,5%, em uma distância de 30 metros. Esses resultados mostraram-se equivalentes aos ensaios que utilizam a implantação de bordaduras de culturas “tampão” e variedades com diferentes períodos de floração, que também têm o papel de limitar o fluxo de genes entre os campos.

Recentemente, Halsey et al. (2005), testando o deslocamento do pólen de milho sob a influência do vento, chegaram à conclusão de que o pólen de milho, por apresentar pouco peso, pode ser deslocado até a uma distância de 166m, quando o vento atingir uma velocidade de 10 km h^{-1} . Em situações sem vento ou com baixa intensidade, ele percorreria uma distância de até 20m. Em três anos de avaliações, na Califórnia e em Washington, USA, apenas 0,0059% dos grãos de pólen chegaram a atingir 200 m de distância.

Levando-se em consideração os resultados apontados pelos trabalhos de deslocamento de pólen de milho, realizados por diversos pesquisadores em diversos países, é possível inferir que uma distância de aproximadamente 20m seja suficiente para que grande parte do pólen caia sobre plantas de milho, autofecundado-as e, muito pouco, menos que 1%, seja disperso além desses 20m.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, J. A. C.; PEREIRA, F. C. D. Uso do efeito xênia em híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 1, p. 65-78, jan./abr. 2005.

ARAÚJO, P. M.; GERAGE, A. G. Capacidade de combinação e depressão por endogamia em híbridos e populações de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 24., 2002, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: ABMS, 2002. 1CD-ROM.

BATISTA, L. A. R.; TOSELLO, G. A. Influência da fonte polinizadora sobre o conteúdo de óleo em grãos de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 17, n. 12, p. 1757-1762, dez. 1982.

BENCHIMOL, L. L.; SOUZA JR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; KONO, P. M. S.; MANGOLIN, C. A.; BARBOSA, A. M. M.; COELHO, A. S. G.; SOUZA, A. P. Genetic diversity in tropical maize inbred lines: heterotic group assignment and hybrid performance determined by RFLP markers. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, n. 6, p. 491-496, Dec. 2000.

BULANT, C.; GALLAIS, A. Xenia effects in maize with normal endosperm: I. Importance and stability. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 6, p. 1517-1525, Nov./Dec. 1998.

BULANT, C.; GALLAIS, A.; MATTHYS-ROCHON, E.; PRIOUL, J. L. Xenia effects in Maize with normal endosperm: II. Kernel growth and enzyme activities during grain filling. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 1, p. 182-189, Jan./Feb. 2000.

BREWER, G. J. **An introduction to isozyme techniques**. New York: Academic Press, 1970.

BRINK, R.A. COOPER, D.C. the endosperm in seed development. **The Botanical Review**, University Wisconsin, v. 13, n. 9, p. 479 – 541, 1947.

BUSO, G. S. C.; CIAMPI, A. Y.; AMARAL, Z. P. de S.; BRONDONI, R. V.; Desenvolvimento e caracterização de marcadores microssatélites em espécies vegetais tropicais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 30, p. 46-50, jan./jun. 2003.

CARDY, B. J.; KANNENBERG, L. W. Allozymic variability among maize inbred lines and hybrids: applications for cultivar identification. **Crop Science**, Madison, v. 22, n. 5, p. 1016-1020, Sept./Oct. 1982.

CHANG, M.T.; NEUFFER, M.G. Position of the vegetative and sperm cells of germinating pollen grain in maize (*Zea mays* L.) **Maydica**, Bergamo, v. 37, p. 233 – 243, Mar. 1992.

COART, E.; LAMOTE, V.; De LOOSES, M.; Van BOCKSTAELE, E.; LOOTENS, P.; ROLDANRUIZ, I. AFLP markers demonstrate local genetic differentiation between two indigenous oak species (*Quercus robur* L. And *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) in Flemish populations. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, n. 2/3, p. 431-439, Aug. 2002.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. CONAB
Elaboração: CONAB/DIGEM/SUINF/GEINT (*) Safra 2005/2006:
Aprovado pelo Decreto nº 5. 559, de 05/10/2005.

CRAIG, W. F. Production of hybrid corn seed. In: SPRAGUE, G. F. (Ed.). **Corn and corn improvement**. Madison: American Society of Agronomy, 1977. p. 671-679.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1994. 380 p.

CRUZ, J. C.; CORRÊA, L. A.; PEREIRA FILHO, I. A.; PEREIRA, F. T. P.; GUISTEM, J. M.; VERSIANI, R. P. **Cultivares de milho disponíveis no mercado de sementes do Brasil para a safra 2004/2005**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2005. 7 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 96). Disponível em:
<<http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/index.html>>. Acesso em: 18 jul. 2006.

DENNY, J. O. Xenia includes metaxenia. **Hort Science**, Alexandria, v. 27, n. 7, p. 722-728, July 1992.

DITMER, W. P. Varietal determination made in the seed laboratory. **Journal of Seed Technology**, London, v. 3, n. 2, p. 42-47, 1979.

DRINIC, S. M.; TRIFUNOVIC, S.; DRINIC, G.; KONSTANTINOV, K. Genetic divergence and its correlation to heterosis in maize as revealed by SSR base markers. **Maydica**, Bergamo, v. 47, n. 1, p. 1-8, 2002.

DUMAS, C.; MOGENSEN, H. L. Gametes and fertilization: maize as a model system for experimental embryogenesis in flowering plants. **Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1337-1348, Oct. 1993.

DUVICK, D. N.; CASSMAN, K. G. Post-green revolution trends in yield potential of temperate maize in the North-Central United States. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 6, p. 1622-1630, Nov./Dec. 1999.

EAST, E. M. The distinction between development and heredity in inbreeding. **American Naturalist**, Chicago, v. 43, p. 173-181, 1909.

FALCONER, D. S. **Introduction to quantitative genetics**. London: Longman, 1981. 438p.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. **Introduction to quantitative genetics**. 4. ed. Malásia: Longman, 1997. 464 p.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1998. 220 p.

GAUR, P. M.; SLINKARD, A. E. Inheritance and linkage of isozyme coding genes in chickpea. **Journal of Heredity**, Cary, v. 81, n. 6, p. 455-461, Nov./Dec. 1990.

GOOD, R. L.; HALLAUER, A. R. Inbreeding depression in maize by selfing and full-sibbing. **Crop Science**, Madison, v. 17, n. 6, p. 935-940, Nov./Dec. 1977.

GOODMAN, M. M.; STUBER, C. W. Races of maize: VI. Isozyme variation among races of maize in Bolivia. **Maydica**, Bergamo, v. 28, n. 3, p. 169-187, 1983.

GUIMARÃES, V. D. **Fatores que controlam a dureza do endosperma do grão de milho**. 1997. 67 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GUPTA, P. K. AND VARSHNEY, R. K. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. **Euphytica**, Wageningen, v. 113, n. 3, p. 163-185, 2000

GETHI, J. G.; LABATE, J. A.; LAMKEY, K. R.; SMITH, M. E.; KRESOVICH, S. SSR variation in important U. S. maize inbred lines. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 4, p. 952-957, July/Aug. 2002.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in Maize breeding**. 2. ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HALLAUER, A. R.; SEARS, J. H. Changes in quantitative traits associated with inbreeding in a synthetic variety of maize. **Crop Science**, Madison, v. 13, n. 3, p. 327-330, May/June 1973.

HALLAUER, A. R. Methods used in developing maize inbred lines. **Maydica**, Bergamo, v. 35, n. 1, p. 1-16, 1990.

HALSEY, M. E.; REMUND, K. M.; DAVIS, C. A.; QUALLS, M.; EPPARD, P. J.; BERBERICH, S. A. Isolation of Maize from Pollen-Mediated Gene Flow by Time and Distance. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 6, p. 2172-2185, Nov./Dec. 2005.

JAROSZ, N.; LOUBET, B.; DURAND, H. A.; FOUEILLASSAR, X.; HUBER, L. Field measurements of airborne concentration and deposition rate of maize pollen (*Zea mays* L.) downwind of an experimental field plot. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v. 119, n. 1/2, p. 37-51, Oct. 2003.

JAYARAM, C.; PETERSON, P. A. Anthocyanin pigmentation and transposable elements in maize aleurone. In: JANICK, J. **Plant breeding reviews**, Portland: Timber, 1992. p. 91-137.

JEMISON, J. M.; VAYDA, M. E. Cross pollination from genetically engineered corn: Wind transport and seed source. **AgBioForum**, v. 4, n. 2, p. 87-92, 2001. Disponível em: <<http://www.agbioforum.org/>>. Acesso em: 2006.

JONES, D. F. The effects of inbreeding and crossbreeding upon development. **Bulletin of the Connecticut Agricultural Experimental Station**, Connecticut, v. 207, p. 5-100, 1918.

JOHNSON, I. J.; MILLER, E. S. Immediate effect of cross pollination on the carotenoid pigments in the endosperm of maize. **Cereal Chemistry**, St. Joseph, v. 16, n. 1, p. 88-92, Feb. 1939.

KIESSELBACH, T. A. The immediate effect of gametic relationship and of parental type upon the kernel weight of corn. **Nebraska Agriculture Experimental Station Bulletin**, Nebraska, v. 33, p. 1-69, 1926.

KORANYI, P. Characterization of maize (*Zea mays* L.) seed samples by the electrophoretic patterns of their protein monomers. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 10, n. 1, p. 153-159, 1989.

LEWONTIN, R. C.; HUBBY, J. L. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**, Baltimore, v. 54, n. 2, p. 595-609, Mar./Apr. 1966.

LETCHWORTH, M. B.; LAMBERT, R. J. Pollen parent effects on oil, protein, and starch concentration in maize kernels. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 2, p. 63-367, Mar./Apr. 1998.

LIMA, M.; MIRANDA FILHO, J. B.; GALLO, P. B. Inbreeding depression in Brazilian populations of maize (*Zea mays* L.). **Maydica**, Bergamo, v. 29, n. 3, p. 203-215, Mar. 1984.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in-vitro amplification of a dinucleotide repeat. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v. 44, n. 3, p. 397-401, Mar. 1989.

LOPES, M. A.; LARKINS, B. A. Endosperm origin, development and function. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1383-1399, Oct. 1993.

MA, B. L.; SUBEDI, K. D.; REID, L. M. Extent of cross fertilization in maize by pollen from neighboring transgenic hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 44, n. 4, p. 1273- 1283, July/aug. 2004.

MAIZE GENETICS AND GENOMICS DATABASE. Disponível em:
<<http://www.maizegdb.org>>. Acesso em: 25 set. 2006.

MALAVOLTA, E.; DANTAS, J. P. Nutrição e adubação do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. Cap. 13, p. 541-590.

MARKERT, C. L.; MOLLER, F. Multiple forms of enzymes: issue, ontogenetic and species specific patterns. **Proceeding of the National Academic Science of United State of America**, Washington, v. 45, n. 5, p. 753-763, 1959.

McDONALD JUNIOR, M. B. Validation of starch gel electrophoresis for corn seed purity determinations. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 45., 1990, Washington. **Proceedings...** Washington: American Seed Trade Association, 1990. p. 43-53.

MERCER, J. R. **Implicações do fenômeno Xênia nos programas de melhoramento de milho**. 2001. 53 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MERCER, J. Implicações do fenômeno xênia nos programas de melhoramento de milho. **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 1338-1343, 2002. Especial.

MILACH, S. C. K. (Ed.) **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: Sandra Milach, 1998. p. 3-15.

MING, R.; WANG, Y. W.; DRAYE, X.; MOORE, P. H.; IRVINE, J. E.; PATERSON, A. H. Molecular dissection of complex traits in autopolyploids: mapping QTLs affecting sugar yield and related traits in sugarcane. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, n. 2/3, p. 332-345, Aug. 2002.

MIRANDA FILHO, J. B.; VIÉGAS, G. P. Milho Híbrido. In: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G. P. (Ed.). **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 1, p. 277-326.

MIRANDA FILHO, J. B. Inbreeding and heterosis. In: COOR, J. G.; PANDEY, S. (Ed.). **The genetics and exploitation of heterosis in crops**. Madison: American Society of Agronomy, 1999. p. 69-80.

MORGANTE, M.; PLIVIERI, A. M. PCR- amplification microsatellites as markers in plant genetics. **The Plant Journal**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 175-182, Jan. 1993.

NASS, L. L.; MIRANDA FILHO, J. B. Inbreeding depression rates of semi-exotic maize (*Zea mays* L) populations. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 3, p. 585-592, set. 1995.

NYBOM, H.; RAMSER, J.; KAEMMER, D.; KAHL, G.; WEISING, K. Oligonucleotide DNA fingerprinting detects a multiallelic locus in box elder (*Acer negundo*). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 1, n. 1, p. 65-67, 1992.

OPENSHAW, S. J.; JARBOE, S. G.; BEAVIS, W. D. Marker assisted selection in backcross breeding. In: SYMPOSIUM ANALYSIS OF MOLECULAR MARKER DATA, Corvallis, 1994. **Proceedings...** Corvallis: American Society for Horticulture Science, 1994. p. 41-43.

PADILHA, L. **Marcadores moleculares semiautomatizados na caracterização e determinação da diversidade genética entre linhagens de milho tropical**. 2002. 85 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PATERNIANI, E. Effective maize pollen dispersal in the field. **Euphytica**, Dordrecht, v. 23, n. 1, p. 129-134, 1974.

PATERNIANI, E. **Melhoramento e produção do milho no Brasil**. Campinas: Fundação Cargil, 1978. 650 p.

PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Use of heterosis in maize breeding: History, Methods and Perspectives. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 159-178, Apr./June 2001.

PAUKSENS, J. Determination of cultivar. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 6, n. 2, p. 579-583, 1978.

PAUKSENS, J.; DHESI, N. S. Cultivar verification methods used in Canada. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 6, n. 2, p. 585-592, 1978.

PAYNE, R. C. Variety testing by official AOSA seed laboratories. **Journal of seed Technology**, Lansing, v. 10, n. 1, p. 24-36, 1986.

PINGALI, P. L.; PANDEY, S. Meeting World Maize Needs: Technological Opportunities and Priorities for the Public Sector. In: PINGALI, P. L. (Ed.). CIMMY 1999-2000 World Maize Facts and Trends. Meeting World Maize Needs: technological opportunities and priorities for the public sector. Mexico: CIMMYT, 2001. p. 1-9.

PINTER, L.; SZABO, J. HOROMPOLI, E. Effect of metaxênia on grain weight of corn (*Zea mays* L.). **Maydica**, Bergamo, v. 32, n. 2, p. 81-88, 1987.

PONELEIT, C. G.; EGLI, D. B. Differences between reciprocal crosses of maize for kernel growth characteristics. **Crop Science**, Madison, v. 23, n. 5, p. 871-875, Sept./Oct. 1983.

PRASAD, M.; VARSHNEY, R. K.; ROY, J. K.;BALYA, H. S.; GUPTA, P. K. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 3/4, p. 584-592, Feb. 2000.

RAYNOR, G. S.; E. C. OGDEN, E. C.; HAYES, J. V. Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. **Agronomie Journal**, Madison, v. 64, n. 4, p. 420-426, July/Aug. 1972.

RIBAS, L. A. **Diversidade genética e sistema de cruzamento em populações de duas espécies pioneiras arbóreas**. Piracicaba, 2003. 102 p. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

ROSINHA, R. O. **Estratégias competitivas e reestruturação da indústria de sementes no Brasil: a análise do segmento do milho**. 2000. 143 p. Dissertação (Mestrado em Mercadologia e Administração Estratégica) – Universidade Federal de Lavras, MG.

ROSULJ, M.; TRIFUNOVIC, S.; HUSIC, I. Nine cycles of mass selection for increased oil content i two maize (*Zea mays* L.) symthetics. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 25, n. 4, p. 449-461, Dec. 2002.

SALGADO, K. C. C. **Certificação da pureza genética em sementes híbridas de milho por meio de marcadores morfológicos e moleculares**. 2001. 67 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANGOI, L.; ERNANI, P. R.; SILVA, P. R. F. da; HORN, D.; SCHMITT, A.; SCHWEITZER, C.; MOTTER, F. Grain yield and gross income of maize cultivars with contrasting genetic variability at different management systems. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 747-755, maio/jun. 2006.

- SAX, K. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. **Genetics**, Baltimore, v. 8, p. 552-560, 1923.
- SCAPIM, C. A.; PACHECO, C. A. P.; TONET, A.; BRACCINI, A. DED.; PINTO, R. J. B. Análise dialélica e heterose de populações de milho-pipoca. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 3, 219-230, 2002.
- SEBBENN, A. M. **Estrutura genética de populações de jequitibá-rosa (*Cariniana ligalis* (Mart.) O. Ktze) por caracteres quantitativos e isoenzimas**. 2001. 210p. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- SEKA, D.; CROSS, H. Z. Xenia and maternal effects on maize agronomic traits at three plant densities. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 86-90, Jan./Feb. 1995a.
- SENIOR, M. L.; MURPHY, J. P.; GOODMAN, M. M.; STUBER, C. W. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationship in maize using an agarose gel system. **Crop science**, Madison, v. 38, n. 4, p. 108-1098, July/Aug. 1998.
- SHULL, G. H. A pure line method of corn breeding. **Report “American Breeders Association”**, Washington, v. 5, p. 51-59, 1909.
- SIBOV, S. T.; SOUZA JR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; SILVA, A. R.; GARCIA, A. F.; MANGOLIN, C. A. BENCHIMOL, L. L.; SOUZA, A. P. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsattelite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. **Hereditas**, Copenhagen, v. 139, n. 2, p. 107-115, 2003.
- SILVA, R. V. B.; FERREIRA, D. F. alternatives for evaluating t test with heterogeneous variances by monte carlo simulation. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 1, p. 185-191, jan./fev. 2003.
- SCHMIDT, J. W. A plant breeder looks at the problem of distinguishing varieties. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v. 3, n. 2, p. 57-60, 1979.
- SMITH, J. S. C.; SMITH, O. S. The description and assessment of distances between inbred lines of maize: II. The utility of morphological, biochemical and genetic descriptors and scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. **Maydica**, Bergamo, v. 34, n. 2, p. 151-161, 1989.

SMITH, S.; WEISSINGER, H. Rapid monitoring of purity in seed lots of hybrid maize: modifications of current technologies. **Maize Genetics Cooperation News Letter**, Bloomington, v. 58, p. 103-105, 1984.

SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. **Isozymes in plant biology**. Portland, OR: Dioscorides, 1989.

SHULL, G. H. A pure line method of corn breeding. **Report "American Breeders Association"**, Washington, v. 5, p. 51-59, 1909.

STUBER, C. W.; WENDEL, J. F.; GOODMAN, M. M.; SMITH, J. S. C. **Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize**. Raleigh: North Carolina State University, 1988. 87 p. (Technical Bulletin, 286).

SURESH, K. S.; KHANNA, R. Physiological, biochemical, and genetic basis of heterosis. **Advances in Agronomy**, New York, v. 27, p. 123-174, 1975.

TANKSLEY SD. Linkage relationships and chromosomal locations of enzyme-coding genes in pepper, *Capsicum annuum*. **Chromosoma**, New York, v. 89, n. 5, p. 352-360, 1984.

TROYER, A. F. Background of U. S. hybrid corn. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 3, p. 601-626, May/June 1999.

TSAI, C. L.; TSAI, C. Y. Endosperm modified by cross-pollinating maize to induce changes in dry matter and nitrogen accumulation. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 4, p. 804-808, July/Aug. 1990.

VASAL, S. K.; DHILLON, B. S.; SRINIVASAN, G.; MCLEAN, S. D.; ZHANG, S. H. Effect of S3 recurrent selection in four tropical maize populations on their selfed and randomly mated generations. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 3, p. 697-702, May/June 1995.

VAZ PATTO, M. C.; SATOVIC, Z.; PEGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. **Euphytica**, Dordrecht, v. 137, n. 1, p. 63-72, 2004.

VEIT, B.; SCHMIDT, R. J.; HAKE, S.; YANOFSKY, M. F. Maize floral development: new genes and old mutants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1205-1215, Oct. 1993.

VIANNA, R. T.; GAMA, E. E. G.; NASPOLINI FILHO, V.; MORO, J. R.; VENCOVSKY, R. Inbreeding depression of several introduced populations of maize (*Zea mays L.*). **Maydica**, Bergamo, v. 27, n. 3, p. 151-157, 1982.

VIANA, F. M. S.; SILVEIRA, M. G.; PACHECO, C. A. P.; CRUZ, C. D.; CARVALHO, C. R. Híbridação em milho. In: BORÉM, A. (Ed.). **Híbridação artificial de plantas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 401-426.

VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G.; CICERO, S. M. Utilização de características morfológicas para avaliação da pureza genética em sementes híbridas de milho, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 9, p. 37-95, set. 1997.

WADT, L. H. O.; EHRINGHAUS, C.; KAGEYAMA, P. Y. Genetic diversity of “Pimenta Longa” genotypes (*Piper spp.*, *Piperaceae*) of the Embrapa Acre germoplasm collection. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 27, n. 1, p. 74-82, Mar. 2004.

WEILAND, R. T. Cross-pollination effects on maize (*Zea mays L.*) hybrids yields. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 72, n. 1, p. 27-33, Mar. 1992.

WEINGARTNER, U.; PREST, T. J.; CAMP, K. -H.; STAMP, P. The plus-hybrid system a method to increase grain yield by combined cytoplasmic male sterility and xenia. **Maydica**, Bergamo, v. 47, n. 2, 127-134, 2002.

CAPÍTULO 1

ESTIMATIVAS DO EFEITO XÊNIA EM MILHO, VISANDO AO AUMENTO DA PRODUTIVIDADE

RESUMO

LÜDERS, Reginaldo Roberto. **Estimativas do efeito xênia em milho, visando ao aumento da produtividade**. Lavras: UFLA, 2006. 113p (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)^{1/}

Quatro experimentos de campo, compreendendo duas localidades – Lavras e Ribeirão Vermelho, no estado de Minas Gerais – e dois anos agrícolas, 2004/05 e 2005/06, foram realizados para verificar e quantificar o efeito xênia na produtividade do milho. Com vistas à possível utilização prática desse efeito em culturas comerciais, o trabalho foi realizado em condições as mais próximas possíveis das que ocorrem nas lavouras, especialmente com respeito à polinização natural e emprego de cultivares comerciais. Para o estudo, foram utilizados três híbridos simples, dos mais cultivados no Brasil, a saber, P 30F90, A 2555 e DKB 333 B, realizando-se todos os cruzamentos possíveis entre eles, incluídos os recíprocos. O delineamento experimental constou de um esquema sistemático, com parcelas de 50m de comprimento, coletando-se os dados, mediante amostras casualizadas, em subparcelas de 3m de comprimento. Com base nos dados obtidos, por meio de análises dialélicas, análises de variância segundo o modelo “entre e dentro”, com testes de contrastes com 1 grau de liberdade e o teste “t” para médias de dados não emparelhados, foi estimado o efeito xênia sobre a produção de espigas, produção de grãos e, conforme o ano, peso de 100 grãos e densidade dos grãos. Embora observado em um ou mais experimentos, em todos os possíveis cruzamentos entre os três híbridos simples utilizados, o efeito xênia variou em magnitude conforme combinações específicas entre eles e a situação de receptor/polinizador do genótipo envolvido. Influência materna foi observada em 71% dos casos em que o efeito xênia foi estatisticamente significativo. Também foi detectada pronunciada influência do ambiente, tanto de locais como de anos e interações desses fatores com os genótipos, indicando falta de consistência e repetibilidade de alguns efeitos observados, impedindo generalizações sobre o fenômeno. Nos casos mais sistemáticos e consistentes, o efeito xênia médio chegou a 17,8%, ou aumento de 1.302 kg ha⁻¹ de grãos. O efeito foi observado também na característica peso de 100 grãos, mas não ocorreu de forma consistente na densidade de grãos. De posse de todos esses dados, fica claro que o efeito xênia pode promover aumento de produtividade em milho.

^{1/} Orientador: João Candido de Souza – Universidade Federal de Lavras (UFLA).

ABSTRACT

LÜDERS, Reginaldo Roberto. **Estimates of xenia effect in maize aiming at increased yields**. 2006. 113p Thesis (Doctoral Genetics and Plant Breeding) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Four field trials, at two locations – Lavras and Ribeirão Vermelho, in the state of Minas Gerais – in two growing seasons, 2004/05 and 2005/06, were conducted to verify and quantify the xenia effect on maize yield. Aiming at a possible practical use of this effect in commercial crops, the study was carried out under the most similar conditions possible to those on commercial crops, especially regarding natural pollination and the use of commercial genotypes. Three single cross hybrids of the most commonly used in Brazil were used - P 30F90, A 2555 and DKB 333 B - which allowed all possible crosses among them, including the reciprocals. The experimental design consisted of a systematic scheme with 50m long row plots, where data were collected as randomized samples, in 3m long subplots. By the underlying data, the xenia effect was estimated on ear yield, grain yield and, according to the year, weight of 100 grains and grain density by means of diallel analyses, analyses of variance according to the model “among and within”, with contrast tests with one degree of freedom, and the “t” test for means of unpaired data. Despite xenia effects were observed in one or more experiments in all possible crosses of the three single-cross hybrids, but they varied in magnitude according to the specific combinations between hybrids and the situation of receptor/pollinator of the genotype involved. Maternal effect was observed in around 71% of the cases in which the xenia effect was statistically significant. A marked influence of the environment (locations and years) was also detected. Interactions of these factors with the genotypes indicated lack of consistency and repeatability of some effects observed, making any extrapolation of the phenomenon impossible. In the most systematic and consistent cases the mean xenia effect reached 17.8%, or an increment of 1.302 kg ha⁻¹ of grains. The effect was also observed in the trait weight of 100 grains, but did not occur consistently in grain density. All these data clearly showed that the xenia effect can promote increases in maize yield.

¹ Advisor: João Candido de Souza – Universidade Federal de Lavras (UFLA).

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho encontra-se entre as mais importantes do mundo, estimando-se que ocupe cerca de 150 milhões de hectares, com uma produção anual que oscila entre 550 e 580 milhões de toneladas de grãos. No Brasil, são cultivados entre 12 e 13 milhões de hectares, com produção aproximada de 42 milhões de toneladas, fazendo com que, nas últimas safras, o país passasse de importador a exportador do produto (AGRIANUAL, 2006). Aqui, a adoção conjunta de cultivares melhoradas, de insumos e de técnicas culturais adequadas tem promovido a elevação progressiva dos rendimentos das lavouras. Estima-se que o progresso genético nessa cultura, entre 1960 e 1993, tenha resultado em um aumento médio de $79 \text{ kg ha}^{-1}\text{ano}^{-1}$, totalizando cerca de 2.300 kg ha^{-1} (Araújo, 1995; Fernandez & Frazon, 1997; Paterniani, 1990; Vencovsky et al., 1988).

Todavia, a produtividade brasileira ainda é baixa, considerando-se a potencialidade técnica atualmente existente. Obviamente, ela pode ser aumentada mediante o acréscimo no uso de cultivares melhoradas ou pela adoção de práticas que maximizem o potencial genético das cultivares. Entretanto, quanto a esse último aspecto, devido às margens econômicas estreitas na cultura, é importante pesquisar e introduzir técnicas que não provoquem aumento nos custos de produção. Se assim for, a inovação poderá ser eficiente, ainda que promova acréscimos modestos na produtividade. Uma possibilidade que atenderia a essa condição é o aproveitamento planejado do efeito xênia nas lavouras comerciais de milho, sobretudo levando-se em conta trabalhos que relatam acréscimos no peso médio de grãos de até 16% (Kiran & Wicks, 1990, citado em Seka & Cross, 1995a) ou aumentos na produtividade de pelo menos 13% (Bullant & Gallais, 1998) devidos a esse fenômeno.

Entretanto, a despeito de compreender o efeito genético bastante comprovado, a adoção prática dessa possível técnica enfrenta ainda algumas dúvidas. De um lado, como demonstrou Weiland (1992), esse efeito é variável, dependendo dos genótipos envolvidos e também, como relatam Andrade & Pereira (2005), está sujeito a efeito maternal, no cruzamento ocorrido. De outro, desconhecem-se trabalhos que tenham comprovado e quantificado esse fenômeno em condições semelhantes ou próximas às que efetivamente ocorrem nas lavouras, isto é, em parcelas relativamente grandes e com a indução do efeito xênia ocorrendo em função das condições ambientais naturais.

Este trabalho teve por finalidade verificar, em condições as mais próximas das que prevalecem em uma lavoura de milho, a possibilidade de utilização prática do efeito xênia no cultivo de híbridos comerciais, mediante estudos dos reflexos desse fenômeno na produtividade e outros caracteres de interesse nessa cultura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

2.1.1 Identificação dos híbridos utilizados

Para a condução do experimento foram selecionados três híbridos simples comerciais de milho de alta produtividade e com boas características agronômicas, que se destacaram em testes desenvolvidos por diversas empresas no Brasil. Tais híbridos são oriundos de três grandes empresas que detêm grande parte do mercado de sementes de milho no país, sendo então considerados como representativos daqueles atualmente utilizados pelos agricultores brasileiros. São eles o híbrido simples P30F90 pertencente à empresa Pioneer, denominado neste trabalho Hs A, o híbrido simples A 2555 pertencente à empresa Bayer Seeds (Hs B) e o híbrido simples modificado DKB 333 B pertencente à empresa Dekalb (Hs C).

TABELA 3. Principais características agronômicas dos cultivares P 30F90, A 2555 e DKB 333 B.

Caracteres agronômicos	Cultivares		
	P 30F90	A 2555	DKB 333B
Tipo de híbridos	HS	HS	HSm
Ciclo	Semiprecoce	Semiprecoce	Semiprecoce
Somatória térmica para o florescimento	925 graus dia	930 graus dia	945 graus dia
Exigência tecnológica	Alta/média alta	Alta/média alta	Alta
Cor do grão	Alaranjado	Avermelhado	Amarelo/ alaranjado
Tipo de grão	Duro	Duro	Semiduro
Altura de planta	2.50 m	2.16 m	2.30 m
Altura de espiga	1.30 m	1.17 m	1.20 m
Produtividade média	11.750 kg ha ⁻¹	11.250 kg ha ⁻¹	11.300 kg ha ⁻¹

Fonte: EMBRAPA Milho e Sorgo – Cultivares de Milho para safra 2005/2006 www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/index.html 18/07/06

Além de serem altamente produtivos, possuem as mesmas características agronômicas e também apresentam o mesmo período de florescimento, sendo esta uma característica fundamental para a execução deste experimento. Suas características agronômicas e de sanidade estão listadas na Tabela 3.

2.1.2 Descrição dos locais

Os experimentos foram conduzidos no estado de Minas Gerais, um na área experimental da Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FAEPE), conhecida como “Vitorinha”, localizada no campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e outro, em uma fazenda no município de Ribeirão Vermelho.

O município de Lavras situa-se a 21°14' Latitude Sul, 45°00' Longitude Oeste e altitude de 918m. A temperatura média anual é de 19,4°C e a precipitação média anual é de 1.529,7 mm. A agricultura, com o cultivo de café, feijão, arroz, milho e frutas cítricas, destaca-SE na economia da região, seguida de perto pela pecuária leiteira.

O município de Ribeirão Vermelho está situado a 21°11' Latitude Sul, 45°04' Longitude Oeste e altitude de 1.300 m. A temperatura média anual é de 21,4°C e a precipitação média anual é de 1.629,7 mm. A região é bastante montanhosa e o Rio Grande representa a maior bacia hidrográfica. As principais culturas da região são o milho e o café.

Ambas as regiões são aptas para a cultura do milho e foram escolhidas porquanto a diferença de altitude entre elas possibilitaria verificar o efeito da interação genótipos x ambientes no estudo.

2.2 Métodos

2.2.1 Plano experimental

A intenção de aproximar as condições experimentais daquelas que ocorrem nas lavouras levou a que a escolha do esquema fosse feita em função de duas considerações: de um lado, devido ao tamanho necessário das parcelas para atingir aquele objetivo e garantir a pureza dos híbridos, tanto *per se* como nas combinações com os outros, a adoção de um delineamento convencional, com número razoável de repetições, levaria a um ensaio com dimensões exageradas; de outro, os objetivos do trabalho e as hipóteses a serem testadas não dependiam essencialmente de uma análise de variância abrangendo todos os tratamentos e a comparação das respectivas médias. Em vista disso, optou-se por um esquema sistemático, que permitisse testar, principalmente, as diferenças entre duas médias – a da produção *per se* do híbrido considerado e a produção dele polinizado por outro – com base em amostras casualizadas de cada um dos dois tratamentos em questão.

Com base nesses princípios, o experimento constou de sete lotes de plantio, seis deles compreendendo arranjos dos três híbridos, tomados dois a dois, e um contendo a mistura dos três híbridos. Cada lote constou de 84 linhas, espaçadas de 0,80 m, com 50 m de comprimento. No caso dos arranjos, os dois híbridos que o compunham foram distribuídos em sublotes, contendo, a contar de uma das bordas para a outra, 39, 1, 4, 1 e 39 linhas, respectivamente. Nos sublotes laterais, de 39 linhas e no central, com 4, dispunha-se o híbrido a ser avaliado *per se* e, simultaneamente, fornecer o pólen para a indução do efeito xênia. Os dois lotes correspondentes a cada híbrido foram mantidos juntos. A detecção dos cruzamentos e, portanto, do efeito xênia, foi realizada nos sublotes compostos por uma linha, do outro híbrido. O tratamento “mistura” constou do

plantio de um híbrido em cada linha, dispendo-os sucessivamente, na mesma ordem. O esquema geral está detalhado na Figura 1.

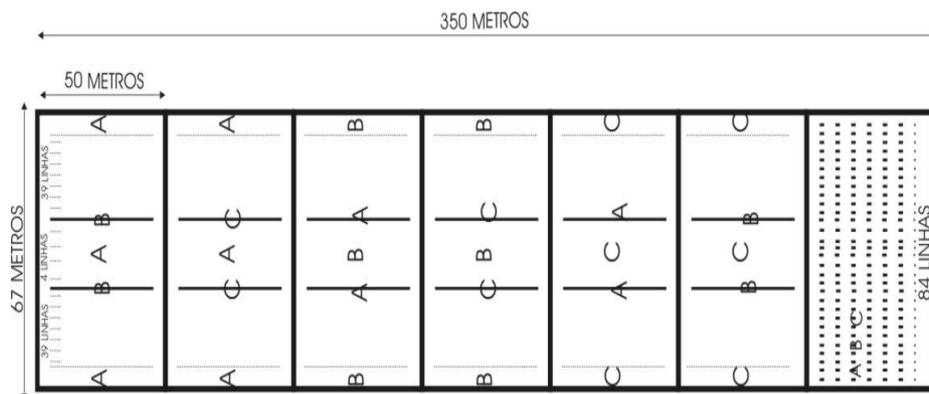


FIGURA 1. Distribuição dos tratamentos no campo, para os híbridos simples *per se*, Hs A (P 30F90), Hs B (A 2555) e Hs C (DKB 333B), linhas laterais, e também para os cruzamentos B x A, C x A, A x B, C x B, A x C e B x C, linhas centrais. “Vitorinha” e Ribeirão Vermelho, MG. Safras de 2004/05 e 2005/06.

2.2.2 Condução dos experimentos

Os experimentos da “Vitorinha” foram instalados no final de outubro e os de Ribeirão Vermelho no início de novembro, nos dois anos, 2004/05 e 2005/06, respectivamente. O plantio ocorreu quinze dias após a dessecação, com glifosato, da braquiária utilizada como palhada.

Em todos os experimentos, foi realizada adubação de 400 kg ha⁻¹ da fórmula 8-28-16 de N-P₂O₅-K₂O + Zn na semeadura e, em cobertura, com 200 kg ha⁻¹ de sulfato de amônio, 20 dias após a emergência. Os demais tratamentos culturais foram os normalmente recomendados para a cultura do milho no sistema de plantio direto para a região de Minas Gerais. A colheita foi realizada nos meses de abril e maio, nos dois anos.

2.2.3 Obtenção dos dados

Para a avaliação dos resultados, foram considerados os dados obtidos em 10 parcelas de 3 m de comprimento, tomadas ao acaso nos sublotes de cada tratamento. No caso dos híbridos *per se*, a amostragem foi feita na terceira linha a contar das bordas, tomando-se cinco amostras em cada par de sublotes contíguos, em que o respectivo híbrido se encontrava. Foram tomadas dez amostras em cada sublote do outro híbrido, correspondente ao tratamento em que, presumivelmente, teria ocorrido o cruzamento e, portanto, efeito xênia. Nesse sublote de cruzamento composto por duas linhas, foram coletadas cinco amostras em cada linha.

No sublote em que se encontrava a mistura dos três híbridos foi tomada uma amostra por linha de cada um deles, até completar 10 amostras. A fim de proporcionar isolamento, não foram considerados os 15 m correspondentes ao início e final das linhas, para estabelecimento das parcelas amostradas. O procedimento da amostragem está detalhado na Figura 2.

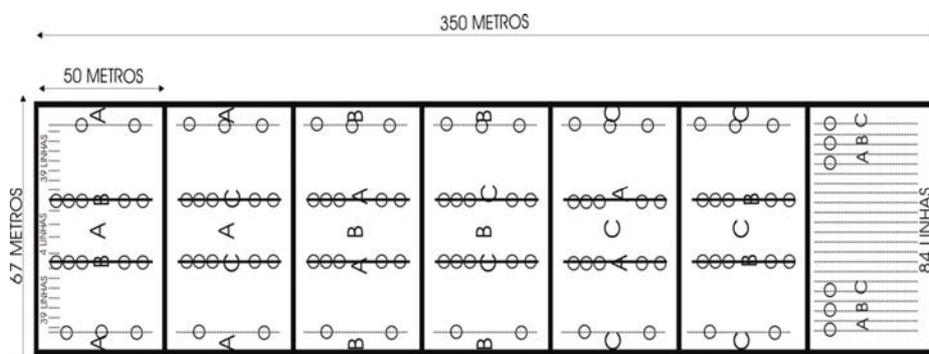


FIGURA 2. Disposição das parcelas dos tratamentos no campo, para os híbridos simples *per se*, Hs A (P 30F90), Hs B (A 2555) e Hs C (DKB 333B), linhas laterais, e também para os cruzamentos B x A, C x A, A x B, C x B, A x C e B x C, linhas centrais. “Vitorinha” e Ribeirão Vermelho, MG. Safras de 2004/05 e 2005/06.

2.2.4 Caracteres avaliados

Na safra de 2004/2005 foram avaliados:

- estande final (EF): número total de plantas na parcela de 3 m, por ocasião da colheita;
- teor de umidade dos grãos, dado em porcentagem (U%);
- peso de 100 grãos (P 100 sem.): peso de 100 sementes, tiradas aleatoriamente de cada parcela, em gramas (g);
- peso de espigas despalhadas (PE): produção total da parcela em quilogramas, determinada após a despalha e transformada, posteriormente, em toneladas por hectare ($t\ ha^{-1}$);
- peso de grãos (PG): produção total da parcela em quilogramas, determinada após a debulha, corrigida para umidade padrão de 13%, e também transformada para toneladas por hectare ($t\ ha^{-1}$).

Os dados de estande final foram submetidos à análise de variância e, não tendo sido detectadas diferenças significativas, os dados referentes ao peso de espigas despalhadas e ao peso de grãos foram corrigidos para o estande ideal de 15 plantas por parcela, segundo o modelo de análise de covariância (Vencovsky & BARRIGA, 1992). Esta correção foi realizada por meio do software Genes (Cruz, 2004).

Na safra de 2005/2006, nos experimentos da “Vitorinha” e de Ribeirão Vermelho, optou-se por calcular a densidade dos grãos, em vez do peso de 100 grãos. Essa característica foi avaliada em amostras de 1,5 kg de grãos de milho, segundo a fórmula proposta por Mazaki & Mazaki (2000).

$$\text{DENSIDADE} = \frac{\text{Peso no ar}}{(\text{Peso no ar} - \text{Peso na água})}$$

em que:

Peso no ar: peso da amostra;

Peso na água: peso da amostra com auxílio de balança hidrostática dentro da água.

Para a obtenção das densidades, foram coletadas amostras de 1, 1,5 e 2 kg de grãos de milho para padronizar as avaliações. Posteriormente, chegou-se à conclusão de que não havia diferença entre as amostras com diferentes pesos, optando-se, então, pela utilização das amostras de 1,5 kg.

Por fim, para cada característica determinada, foi calculado o efeito xênia, pela expressão utilizada por Andrade & Pereira (2005).

$$Xe(\%) = \frac{100 * (HsX - Hs\otimes)}{Hs\otimes}$$

Sendo:

$Xe(\%)$: efeito xênia em porcentagem;

HsX : produção de híbridos cruzados;

$Hs\otimes$: produção dos híbridos autofecundados(*per se*).

2.2.5 Análise estatística dos dados

2.2.5.1 Análise da variância

Por meio de modelo do tipo “entre e dentro”, foram feitas análises de variância para cada experimento e para as cinco análises conjuntas, a saber: os dois locais, em 2004/05; dois locais em 2005/06; dois anos no local “Vitorinha”; dois anos no local “Ribeirão Vermelho” e no conjunto geral (dois anos, dois locais ou quatro “ambientes”). Mediante subdivisão da soma de quadrados de

tratamentos, em partes com 1 grau de liberdade, foram testados, pelo teste “F”, contrastes não ortogonais, conforme comparações previstas no planejamento experimental. Todas as análises foram realizadas por meio do software SAS v. 8.1 (SAS Institute, 2000).

2.2.5.2 Análise estatística do efeito xênia

Para atingir o principal objetivo do trabalho – verificar e quantificar o efeito xênia –, a hipótese fundamental a ser testada referia-se à diferença de desempenho de cada híbrido *per se* e a dele polinizado por outro. Portanto, o procedimento indispensável para isso era um teste de comparação de duas médias. Devido ao esquema experimental adotado, optou-se pelo emprego do teste “t” de Student, aplicado a dados não emparelhados. O procedimento foi ajustado conforme se mostrassem homogêneas ou não as variâncias das amostras nos dois tratamentos comparados. Para confirmação de resultados e para comparações mais complexas, as análises foram complementadas pelo teste “F” nas análises da variância, aplicado a contrastes com 1 grau de liberdade, conforme já exposto.

2.2.5.3 Análise dialélica

A partir das médias obtidas na análise conjunta geral, montou-se um esquema dialélico completo, para as características peso de espigas e peso de grãos, efetuando-se a análise pelo Método de Griffing (1956), utilizando-se o modelo com pais, F_1 e recíprocos. Para tanto, foi utilizado o Programa Genes para tais análises (Cruz, 2004).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos encontram-se nas tabelas anexas, na seguinte ordem: as Tabelas 4 a 12 contêm as médias, para as características estudadas, obtidos, respectivamente, nos quatro experimentos individualmente; nas análises conjuntas de locais, nos dois anos; nas análises conjuntas de anos, nos dois locais e na análise conjunta geral, compreendendo os quatro ambientes. Na Tabela 13 encontra-se um resumo dos efeitos xênia significativos a ($P < 0,5\%$ pelo teste t), apresentados segundo os híbridos comerciais envolvidos e a combinação de ambientes expressos nas tabelas anteriores.

Nas Tabelas 14 a 22 estão os resultados das análises de variâncias dos experimentos referentes às Tabelas 4 a 12, apresentados na mesma ordem. Na Tabela 23 encontra-se a tabela dialéctica com as médias da análise conjunta geral e nas Tabelas 24 e 25, os resultados da sua análise. Como os efeitos xênia tiveram magnitude semelhante no peso de espigas e no peso de grãos (a correlação entre os dados foi de $r=0,90^{**}$), a discussão e a conclusão dos resultados serão baseadas na produtividade de grãos.

As nove análises de variância apresentam coeficientes de variação entre 18,5% e 20,9%, denotando que os experimentos foram de média precisão. Segundo Scapim et al. (1995), esses coeficientes são satisfatórios, quando se consideram as condições em que os dados foram obtidos.

Ademais, verifica-se que o efeito de tratamentos foi estatisticamente significativo, em todas as análises. Além disso, nas análises conjuntas, foram detectados como significativos também os efeitos dos locais, de anos e das interações entre esses fatores e os tratamentos.

3.1 Efeito xênia na produção de grãos

3.1.1 Análises individuais

O experimento conduzido no local “Vitorinha”, em 2004/05, pode ser analisado pelas Tabelas 4 e 14. Verifica-se que, dos seis cruzamentos possíveis, dois, B x C e C x A, revelaram a presença de efeito xênia significativo ($P < 0,05\%$), respectivamente de 20,1% (1.578 kg ha^{-1}) e 16,5% (981 kg ha^{-1}), quer pelo teste “t”, quer pelo teste “F”.

O ensaio de Ribeirão Vermelho, também em 2004/05, tem seus resultados mostrados nas Tabelas 5 e 15. Metade dos cruzamentos, a saber, A x B, A x C e B x A, mostrou efeito xênia significativo ($P < 0,5\%$), respectivamente, de 23,1% (1.530 kg ha^{-1}), 19,7% (1.307 kg ha^{-1}) e 20,5% (1.531 kg ha^{-1}).

As Tabelas 6 e 16 contêm os resultados do local “Vitorinha” em 2005/06 e mostram efeito xênia para o cruzamento A x B, da ordem de 33,3% (2.484 kg ha^{-1}).

Os resultados do local “Ribeirão Vermelho”, em 2005/06, encontram-se nas Tabelas 7 e 17, e revelaram efeito xênia nos cruzamentos A x C (15,1% ou 1.344 kg ha^{-1}), C x A (32,4% ou 1.895 kg ha^{-1}) e C x B (45,1% ou 2.634 kg ha^{-1}). Os resultados constatados nesses experimentos corroboram com os obtidos por Bulant & Gallais (1998).

Verifica-se, pois, que, em um ou outro experimento, todos os arranjos possíveis entre os três híbridos comerciais estudados mostraram efeito xênia em determinados cruzamentos. Convém ressaltar que o contraste híbridos *per se* x cruzamentos, na análise da variância, representa um efeito médio, podendo ocultar, como se verá a seguir, desempenhos ineficientes e até mesmo negativos de certos cruzamentos.

3.1.2 Análises conjuntas

A análise dos locais, na safra 2004/05, encontra-se nas Tabelas 8 e 18. Nessa análise, apenas o cruzamento A x B mostrou efeito xênia significativo, de 12,8% ou 881 kg ha⁻¹. A explicação para a redução dos casos em que o efeito ocorreu encontra-se na interação local x tratamentos significativa (P<0,01%), indicadora da inversão de desempenho dos cruzamentos B x C e C x A, conforme o local.

Nas Tabelas 9 e 19 são mostrados os resultados da análise dos dois locais, em 2005/06. O efeito xênia foi significativo nos cruzamentos A x B (15,7% ou 1.288 kg ha⁻¹) e C x B (15,7% ou 1.174 kg ha⁻¹). Deve-se notar que se tratam de efeitos médios, porquanto a interação tratamentos x locais revela que A x B só mostrou efeito significativo no local “Vitorinha” e C x B apenas em “Ribeirão Vermelho”.

Os resultados da análise na “Vitorinha”, nos dois anos, encontram-se nas Tabelas 10 e 20. O efeito xênia foi significativo nos cruzamentos A x B (19,6% ou 1.418 kg ha⁻¹) e B x C (18,7% ou 1.430 kg ha⁻¹). A interação tratamentos x anos significativa (P<0,01%) é indicadora da diferença de comportamento do cruzamento A x B, que se mostrou eficiente apenas no ano 2005/06. Explica, ainda, o efeito apreciável e significativo do cruzamento C x A apenas em 2004/05, o que impediu sua presença, de forma significativa, na análise conjunta.

Nas Tabelas 11 e 21 são mostrados os resultados da análise no local “Ribeirão Vermelho”, nos dois anos. Revelaram efeitos significativos (P<0,05%) os cruzamentos A x B (16,1% ou 1.188 kg ha⁻¹) e A x C (23,1% ou 1.702 kg ha⁻¹). A interação tratamentos x anos, aqui também significativa (P<0,01%), traduz o fato de que apenas o cruzamento A x C teve bom desempenho nos dois anos. Explica, ainda, porque os cruzamentos B x A e C x

A não têm efeitos significativos na análise conjunta, uma vez que apresentaram efeitos contraditórios nos dois anos.

Finalmente, nas Tabelas 12 e 22 encontram-se os resultados da análise conjunta geral, totalizando os quatro ambientes. Revelaram efeitos xênia médios, sendo significativos para os cruzamentos A x B (17,8% ou 1.302 kg ha⁻¹) e A x C (10,8% ou 790 kg ha⁻¹). Estes, portanto, seriam os cruzamentos mais consistentes para a finalidade em questão, porquanto menos sujeitos a efeitos contraditórios, devidos à influência ambiental. Ainda assim, assinala-se que A x B apresentou efeitos xênia notáveis, de 23,1% e 33,3%, mas também efeito inexpressivo, de apenas 1,0%. Da mesma forma, A x C ao lado de efeitos consideráveis, de 15,1% e 19,7%, revelou também efeito negativo de -10,3%, em um dos experimentos. Em síntese, o que fica claro nessas análises é a grande influência de fatores ambientais na manifestação do efeito xênia e, sobretudo, a interação desses fatores com determinados genótipos. Essa interação entre safras e locais afetando o efeito xênia é muito comum, pois vários pesquisadores se defrontaram com o mesmo problema (Andrade & Pereira, 2005; Seka & Cross, 1995a,b). Disso resulta a necessidade de se repetirem os experimentos em diversos locais e anos, em estudos dessa natureza.

3.1.3 Análise dialélica

Conforme se verifica nas Tabelas 23, 24 e 25, a análise complementar da variância e a estimativa dos componentes genéticos das médias, no dialélico completo baseado nos quatro experimentos, confirmam os resultados já discutidos, enfatizando, também, os cruzamentos A x B e A x C, como os responsáveis pelos maiores aumentos de produtividade.

O híbrido Hs A apresentou a melhor capacidade geral de combinação, mas, ainda assim, a contribuição desse componente para o aumento da

produtividade, em relação à média geral, foi de apenas 10,6%, no cruzamento com Hs B e de somente 7,3% no cruzamento com Hs C. O efeito dos recíprocos contribuiu, respectivamente, com 61,8% e 44,3% nos cruzamentos mencionados. Verifica-se, portanto, influência predominante dos componentes capacidade específica de combinação e dos recíprocos que, no caso, representam efeito materno.

Na literatura, diversos trabalhos (Andrade & Pereira, 2005; Bulant & Gallais, 1998; Ketchie et al., 1996; Weingartner et al., 2002) demonstram a inconstância da magnitude do efeito xênia em diferentes pares de híbridos, sugerem que existe certa capacidade de combinação, seja ela específica ou geral, que interfere na resposta dos cruzamentos e que aqui pôde ser comprovada.

3.1.4 Influência materna no efeito xênia

Considerando os experimentos individualmente, essa influência foi estatisticamente significativa em cinco dos sete casos em que houve efeito xênia. Limitando a discussão apenas à análise conjunta (Tabela 12), devido à maior consistência dos dados, essa influência é nítida tanto no cruzamento entre Hs A e Hs B, como entre Hs A e Hs C. Quer no contraste efetuado na análise da variância convencional (Tabela 22), quer na análise dialélica (Tabela 25), o efeito dos recíprocos é pronunciado e significativo. Nos dois cruzamentos é patente a vantagem de usar Hs A como fêmea.

Segundo Poneleit & Egli (1983), existe um efeito materno que influencia o período de enchimento dos grãos e alelos de ambos os parentais controlam a taxa de crescimento dos mesmos. Essa seria uma possível explicação para os resultados encontrados neste estudo, pois o efeito materno ocorreu na maioria dos cruzamentos. Segundo Andrade & Pereira (2005), nem sempre os pares de híbridos possuem combinações específicas favoráveis entre

os genes das plantas materna e paterna. Esses alelos menos favoráveis estariam mascarados nos locos em heterozigose nos híbridos, existindo a possibilidade do encontro dos mesmos na polinização cruzada, que geraria certo efeito de xênia negativo. Combinações de genes específicos, dominantes ou parcialmente dominantes, também podem afetar fases ou processos específicos do desenvolvimento do grão, reduzindo seu peso final (Leng, 1949). Esse mesmo efeito pode não ser expresso no cruzamento recíproco, uma vez que a proporção entre os genes materno e paterno no endosperma de milho é diferente, pois este é triploide. Isso, aliado aos efeitos genéticos presentes nos locos controladores do caráter e, também, a um possível efeito materno, pode acarretar efeitos de xênia diferentes entre os recíprocos, como apareceram nas análises do presente estudo.

3.1.5 Efeito da mistura dos três híbridos

De modo geral, a mistura dos três híbridos não se mostrou eficiente, qualquer que seja o híbrido *per se* com que seja comparada. No conjunto dos experimentos, o efeito médio, embora não significativo, foi de 4,1%, negativo, no contraste contra os três híbridos.

3.2 Efeito xênia no peso de 100 grãos e densidade dos grãos

Conforme se verifica nas Tabelas 5 e 6, o efeito xênia manifestou-se em diversos cruzamentos, com respeito ao peso de 100 grãos. Os resultados foram estatisticamente significativos, nos dois locais, para os cruzamentos A x B, A x C, B x A e B x C. Com relação à densidade dos grãos, determinada no segundo ano de estudos, os dados são inconsistentes e não significativos na maioria dos cruzamentos (Tabelas 6 e 7).

4 CONCLUSÕES

1 Efeitos xênia de diferentes magnitudes, conforme o ambiente e a situação de receptor/polinizador do genótipo envolvido, foram observados em cruzamentos envolvendo três híbridos simples cultivados no Brasil, a saber, P 30F90, A 2555 e DKB 333 B.

2 Influência pronunciada do ambiente (locais e anos) e interações desses fatores com os genótipos indicaram falta de consistência e repetibilidade de alguns dos efeitos xênia observados, impedindo generalizações para aproveitamento desse fenômeno no aumento da produtividade.

3 Efeito pronunciado em alguns cruzamentos específicos foi observado em 71% dos casos em que o efeito xênia foi estatisticamente significativo.

4 Nas condições estudadas, efeitos xênia mais sistemáticos e consistentes foram observados nos cruzamentos P 30F90 x A 2555 e P 30F90 x DKB 333 B, utilizando P 30F90 sempre como fêmea. No primeiro desses cruzamentos, o efeito médio foi de 17,8%, correspondente a 1.302 kg ha⁻¹ de grãos e, no segundo, de 10,8% ou 790 kg ha⁻¹ de grãos.

5 Esse efeito foi observado também na característica peso de 100 sementes, mas não ocorreu de forma consistente na densidade de grãos.

TABELA 4. Resultados médios das características peso de espigas (PE), peso de grãos (PG), peso de 100 grãos (P 100 sem.) de híbridos *per se* e respectivos cruzamentos, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no local “Vitorinha” em 2004/05. Lavras, MG, 2004/05.

“Vitorinha” safra 2004/05							
Híbridos	PE (t ha ⁻¹)	Xe (%)	PG (t ha ⁻¹)	Xe (%)	P 100 sem. (g)	Xe (%)	
Hs A x Hs A	11,006	a -	7,109	a -	34,06	a -	
A x B	10,620	a -3,50	7,341	a 3,26	36,73	b 7,84	
Probab (%)	(60,9%)		(68,1%)		(0,11%)		
A x C	9,271	b -15,8	6,377	a -10,3	35,39	a 3,91	
Probab (%)	(0,43%)		(7,7%)		(6,48%)		
A x B x C	10,270	a -6,7	7,594	a 6,82	33,99	a -0,21	
Probab (%)	(31,6%)		(67,1%)		(92,7%)		
Média cruz.	10,054	-8,75	7,104	-5,97	35,37	3,85	
Hs B x Hs B	11,103	a -	7,872	a -	27,19	a -	
B x A	9,387	c -15,5	6,948	a -11,7	31,34	b 15,26	
Probab (%)	(1,13%)		(7,2%)		(0,03%)		
B x C	13,171	b 18,63	9,450	b 20,05	30,69	b 12,87	
Probab (%)	(0,65%)		(0,76%)		(0,10%)		
A x B x C	10,270	a -7,50	7,594	a -3,53	33,99	c 25,00	
Probab (%)	(26,2%)		(59,2%)		(0,01%)		
Média cruz.	10,943	-1,44	7,997	1,59	32,01	17,72	
Hs C x Hs C	8,557	a -	5,960	a -	37,42	a -	
C x A	9,579	a 11,94	6,941	b 16,46	36,93	a -1,31	
Probab (%)	(14,8%)		(5,1%)		(57,07%)		
C x B	6,925	c -19,1	4,993	c -16,2	38,90	b 3,96	
Probab (%)	(0,08%)		(0,49%)		(5,01%)		
A x B x C	10,270	b 20,02	7,594	b 27,42	33,99	c -9,17	
Probab (%)	(1,74%)		(0,16%)		(0,03%)		
Média cruz.	8,925	4,30	6,509	9,21	36,61	-2,17	
Média	10,222	-	6,980	-	32,89	-	
H.comerciais							
Média	9,889	-1,93	7,092	1,61	34,85	5,96	
H.cruzados							

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 5. Resultados médios das características peso de espigas (PE), peso de grãos (PG), peso de 100 grãos (P 100 sem.) de híbridos *per se* e respectivos cruzamentos, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no local “Ribeirão Vermelho” em 2004/05. Lavras, MG, 2004/05.

“Ribeirão Vermelho” safra 2004/05							
Híbridos	PE	Xe	PG	Xe	P 100 sem.	Xe	
	(t ha ⁻¹)	(%)	(t ha ⁻¹)	(%)	(g)	(%)	
Hs A x Hs A	9,595	a -	6,629	a -	34,55	a -	
A x B	11,173	b 16,45	8,159	b 23,08	37,47	b 8,45	
Probab (%)	(3,47%)		(1,34%)		(0,04%)		
A x C	11,053	b 15,20	7,936	b 19,72	35,89	b 3,88	
Probab (%)	(4,40%)		(2,79%)		(4,11%)		
A x B x C	9,418	a -1,85	6,998	a 5,57	32,80	c -5,07	
Probab (%)	(80,7%)		(51,1%)		(4,08%)		
Média cruz.	10,548	9,94	7,698	16,12	35,39	2,43	
Hs B x Hs B	10,154	a -	7,466	a -	25,35	a -	
B x A	10,505	a 3,46	8,997	b 20,51	31,50	b 24,26	
Probab (%)	(58,1%)		(0,39%)		(0,02%)		
B x C	8,477	b -16,52	6,708	a -10,15	31,26	b 23,31	
Probab (%)	(1,72%)		(11,5%)		(0,03%)		
A x B x C	9,418	a -7,25	6,998	a -6,27	32,80	b 29,39	
Probab (%)	(27,9%)		(66,6%)		(0,01%)		
Média cruz.	9,467	-6,77	7,568	1,36	31,85	25,64	
Hs C x Hs C	11,127	a -	8,194	a -	37,43	a -	
C x A	8,164	c -26,63	6,416	b -21,70	38,30	b 2,32	
Probab (%)	(0,01%)		(0,01%)		(5,03%)		
C x B	10,093	b -9,29	7,698	a -6,05	37,47	a 0,11	
Probab (%)	(1,77%)		(59,6%)		(91,9%)		
A x B x C	9,418	b -15,36	6,998	b -14,60	32,80	c -12,37	
Probab (%)	(1,55%)		(1,94%)		(0,01%)		
Média cruz.	9,225	-17,09	7,037	-14,12	36,19	-3,31	
Média	10,292	-	7,430	-	32,44	-	
H.comerciais							
Média	9,840	-4,64	7,559	1,12	34,96	7,77	
H.cruzados							

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 6. Resultados médios das características peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) e densidade de grãos (DG) de híbridos *per se* e respectivos cruzamentos, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no local “Vitorinha” em 2005/06. Lavras, MG, 2005/06.

“Vitorinha” safra 2005/06						
Híbridos	PE (t ha ⁻¹)	Xe (%)	PG (t ha ⁻¹)	Xe (%)	DG	Xe (%)
Hs A x Hs A	10,968	a -	7,467	a -	1,24239	a -
A x B	13,749	b 25,36	9,951	b 33,27	1,22949	a -1,04
Probab (%)	(0,19%)		(0,001%)		(8,52%)	
A x C	12,514	a 14,10	7,838	a 4,97	1,22090	a -1,73
Probab (%)	(10,4%)		(64,6%)		(6,33%)	
A x B x C	10,818	a -1,37	8,181	a 9,56	1,21443	b -4,67
Probab (%)	(84,1%)		(28,9%)		(0,21%)	
Média cruz.	12,360	12,70	8,657	15,93	1,22161	-2,48
Hs B x Hs B	10,314	a -	7,154	a -	1,21063	a -
B x A	13,827	b 34,06	7,459	a 4,26	1,22398	a 1,10
Probab (%)	(0,05%)		(55,4%)		(18,2%)	
B x C	12,939	b 25,45	8,673	a 21,23	1,22202	a 0,09
Probab (%)	(4,90%)		(10,3%)		(21,4%)	
A x B x C	10,818	a 4,89	8,181	a 14,31	1,21443	a 0,03
Probab (%)	(52,0%)		(12,6%)		(69,3%)	
Média cruz.	12,528	21,47	8,104	13,27	1,22014	0,41
Hs C x Hs C	14,877	a -	9,120	a -	1,21852	a -
C x A	11,677	b -21,51	9,934	a 8,93	1,23027	a 0,09
Probab (%)	(1,29%)		(71,3%)		(8,57%)	
C x B	14,222	a -4,40	8,835	a -3,13	1,23880	b 0,17
Probab (%)	(25,7%)		(55,6%)		(0,18%)	
A x B x C	10,818	b -27,28	8,181	a -10,30	1,21443	a -0,33
Probab (%)	(0,11%)		(16,8%)		(55,3%)	
Média cruz.	12,239	-17,73	8,983	-1,50	1,22783	-0,03
Média	12,053	-	7,914	-	1,22385	-
H.comerciais						
Média	12,821	5,48	8,696	9,23	1,22570	-0,70
H.cruzados						

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 7. Resultados médios das características peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) e densidade de grãos (DG) de híbridos *per se* e respectivos cruzamentos, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no local “Ribeirão Vermelho” em 2005/06. Lavras, MG, 2005/06.

“Ribeirão Vermelho” safra 2005/06						
Híbridos	PE (t ha ⁻¹)	Xe (%)	PG (t ha ⁻¹)	Xe (%)	DG	Xe (%)
Hs A x Hs A	12,225	a -	8,894	a -	1,22030	a -
A x B	12,424	a 1,63	8,987	a 1,05	1,20583	a -1,19
Probab (%)	(77,6%)		(85,7%)		(11,2%)	
A x C	14,010	a 14,60	10,238	b 15,11	1,20260	a -1,45
Probab (%)	(11,3%)		(1,5%)		(20,1%)	
A x B x C	5,822	b -52,38	4,195	c -52,8	1,16960	b -4,15
Probab (%)	(0,00%)		(0,003%)		(0,24%)	
Média cruz.	10,752	-12,05	7,807	-12,2	1,19268	-2,27
Hs B x Hs B	9,418	a -	6,906	a -	1,21913	a -
B x A	9,622	a 2,17	6,624	a -4,08	1,20932	a -0,81
Probab (%)	(86,9%)		(73,4%)		(30,0%)	
B x C	9,054	a -3,87	6,367	a -7,81	1,17573	b -3,56
Probab (%)	(65,3%)		(59,3%)		(0,08%)	
A x B x C	5,822	b -38,18	4,195	b -39,26	1,16960	b -4,06
Probab (%)	(0,11%)		(0,14%)		(0,24%)	
Média cruz.	8,166	-13,29	5,729	-17,05	1,18488	-2,81
Hs C x Hs C	8,510	a -	5,846	a -	1,19669	a -
C x A	11,160	b 31,14	7,741	b 32,42	1,22722	b 2,55
Probab (%)	(1,27%)		(1,42%)		(0,60%)	
C x B	12,770	b 50,06	8,480	b 45,06	1,22877	b 2,68
Probab (%)	(0,05%)		(0,15%)		(0,86%)	
A x B x C	5,822	c -31,59	4,195	c -28,24	1,16960	a -2,26
Probab (%)	(1,70%)		(4,04%)		(9,05%)	
Média cruz.	9,917	16,54	6,805	16,41	1,20853	0,99
Média	10,051	-	7,215	-	1,21204	-
H.comerciais						
Média	10,695	-2,93	7,519	-4,29	1,20272	-1,36
H.cruzados						

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 8. Resultados médios das características peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) e peso de 100 grãos (P 100 sem.), de híbridos *per se* e respectivos cruzamentos, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no conjunto de dois locais (“Vitorinha” e Ribeirão Vermelho) no ano 2004/05. Lavras, MG, 2004/05.

“Vitorinha e Ribeirão Vermelho” safra 2004/05							
Híbridos	PE	Xe	PG	Xe	P 100 sem.	Xe	
	(t ha ⁻¹)	(%)	(t ha ⁻¹)	(%)	(g)	(%)	
Hs A x Hs A	10,300	a -	6,869	a -	34,31	a -	
A x B	10,896	a 5,79	7,750	b 12,83	37,01	b 7,87	
Probab (%)	(25,3%)		(3,58%)		(0,09%)		
A x C	10,162	a -1,34	7,156	a 4,18	35,43	a 3,26	
Probab (%)	(77,8%)		(57,8%)		(5,48%)		
A x B x C	9,844	a -4,43	7,296	a 6,22	33,39	a -2,68	
Probab (%)	(60,3%)		(24,5%)		(55,7%)		
Média cruz.	10,301	0,007	7,401	7,74	35,28	2,82	
Hs B x Hs B	10,629	a -	7,669	a -	26,29	a -	
B x A	9,946	a -6,43	7,973	a 3,96	31,44	b 19,59	
Probab (%)	(13,6%)		(54,6%)		(0,03%)		
B x C	10,824	a 1,83	8,079	a 5,35	30,69	b 16,74	
Probab (%)	(74,3%)		(67,7%)		(0,03%)		
A x B x C	9,844	a -7,39	7,296	a -4,86	33,39	c 27,01	
Probab (%)	(11,7%)		(29,7%)		(0,01%)		
Média cruz.	10,205	-3,99	7,783	1,48	31,84	21,11	
Hs C x Hs C	9,842	a -	7,077	a -	37,42	a -	
C x A	8,871	a -9,87	6,678	a -5,64	37,01	a -0,01	
Probab (%)	(7,5%)		(30,5%)		(82,07%)		
C x B	8,509	b -13,5	6,346	a -10,3	38,11	a 1,84	
Probab (%)	(4,2%)		(15,7%)		(25,01%)		
A x B x C	9,844	a 0,02	7,296	a 3,09	33,39	c -10,77	
Probab (%)	(99,2%)		(55,2%)		(0,03%)		
Média cruz.	9,075	-7,80	6,773	-4,29	36,17	-2,98	
Média	10,257	-	7,205	-	32,67	-	
H.comerciais							
Média	9,865	-3,93	7,325	1,64	33,29	6,66	
H.cruzados							

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 9. Resultados médios das características peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) e densidade de grãos (DG), de híbridos *per se* e respectivos cruzamentos, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no conjunto de dois locais (“Vitorinha” e Ribeirão Vermelho) no ano 2005/06. Lavras, MG, 2005/06.

“Vitorinha e Ribeirão Vermelho” safra 2005/06						
Híbridos	PE	Xe	PG	Xe	Densidade	Xe
	(t ha ⁻¹)	(%)	(t ha ⁻¹)	(%)		(%)
Hs A x Hs A	11,596	a -	8,181	a -	1,23135	a -
A x B	13,323	b 14,89	9,469	b 15,74	1,21766	a -1,11
Probab (%)	(0,15%)		(0,15%)		(9,25%)	
A x C	12,844	a 10,76	9,038	a 11,05	1,21175	a -1,59
Probab (%)	(13,6%)		(17,8%)		(11,15%)	
A x B x C	9,168	c -20,9	6,188	c -24,4	1,19202	b -3,19
Probab (%)	(1,935)		(0,49)		(0,21%)	
Média cruz.	11,778	1,57	8,232	0,81	1,20714	-1,96
Hs B x Hs B	9,866	a -	7,030	a -	1,21488	a -
B x A	10,220	a 3,59	7,041	a 0,16	1,21665	a 0,15
Probab (%)	(64,0%)		(97,9%)		(23,11%)	
B x C	10,996	a 11,45	7,520	a 6,97	1,19888	a -1,32
Probab (%)	(19,1%)		(57,9%)		(9,75%)	
A x B x C	9,168	a -7,07	6,188	a -11,9	1,19202	a -1,88
Probab (%)	(50,6%)		(20,5%)		(11,3%)	
Média cruz.	10,128	2,66	6,916	-1,62	1,20252	-1,02
Hs C x Hs C	11,693	a -	7,483	a -	1,20761	a -
C x A	12,455	a 6,52	8,338	a 11,43	1,22875	b 1,75
Probab (%)	(54,9%)		(14,3%)		(4,57%)	
C x B	13,298	a 13,73	8,657	b 15,69	1,23379	b 2,17
Probab (%)	(9,19%)		(3,89%)		(0,32%)	
A x B x C	9,168	b -21,6	6,188	a -17,3	1,19202	a -1,29
Probab (%)	(4,87%)		(9,60%)		(55,3%)	
Média cruz.	11,640	-0,45	7,728	3,27	1,21819	0,88
Média	11,052	-	7,565	-	1,21795	-
H.comerciais						
Média	11,758	1,26	8,036	0,82	1,21421	-0,31
H.cruzados						

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 10. Resultados médios das características peso de espigas (PE), peso de grãos (PG), de híbridos *per se* e respectivos cruzamentos, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no conjunto de dois anos (2004/05 e 2005/06) no local “Vitorinha”. Lavras, MG, 2005/06.

“Vitorinha” safras 2004/05 e 2005/06						
Híbridos	PE (t ha ⁻¹)		Xe (%)	PG (t ha ⁻¹)		Xe (%)
Hs A x Hs A	10,993	a	-	7,228	a	-
A x B	12,421	b	12,99	8,646	b	19,61
Probab (%)	(1,42%)			(0,18%)		
A x C	10,473	a	-4,73	7,108	a	-1,66
Probab (%)	(58,9%)			(77,1%)		
A x B x C	10,831	a	-1,47	7,741	a	7,10
Probab (%)	(78,3%)			(19,6%)		
Média cruz.	11,242		2,26	7,832		8,35
Hs B x Hs B	10,840	a	-	7,632	a	-
B x A	10,102	a	-6,81	7,204	a	-5,61
Probab (%)	(16,3%)			(25,3%)		
B x C	13,055	b	20,43	9,062	b	18,74
Probab (%)	(0,13%)			(0,53%)		
A x B x C	10,831	a	-0,08	7,741	a	1,43
Probab (%)	(98,5%)			(79,1%)		
Média cruz.	11,329		4,51	8,002		4,85
Hs C x Hs C	10,664	a	-	7,013	a	-
C x A	11,664	a	9,38	7,938	a	13,19
Probab (%)	(27,6%)			(7,58%)		
C x B	10,376	a	-2,70	6,914	a	-1,41
Probab (%)	(77,9%)			(86,2%)		
A x B x C	10,831	a	1,57	7,741	a	10,38
Probab (%)	(82,3%)			(10,9%)		
Média cruz.	10,957		2,75	7,531		4,29
Média H.comerciais	10,832		-	7,291		-
Média H.cruzados	11,275		3,17	7,802		5,83

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 11. Resultados médios das características peso de espigas (PE), peso de grãos (PG), de híbridos *per se* e respectivos cruzamentos, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no conjunto de dois anos (2004/05 e 2005/06) no local “Ribeirão Vermelho”. Lavras, MG 2005/06.

“Ribeirão Vermelho” safras 2004/05 e 2005/06						
Híbridos	PE (t ha ⁻¹)		Xe (%)	PG (t ha ⁻¹)		Xe (%)
Hs A x Hs A	10,471	a	-	7,385	a	-
A x B	11,799	b	12,68	8,573	b	16,09
Probab (%)	(3,72%)			(1,39%)		
A x C	12,532	b	19,68	9,087	b	23,05
Probab (%)	(0,90%)			(0,39%)		
A x B x C	8,519	c	-18,64	6,297	c	-14,73
Probab (%)	(0,48%)			(3,08%)		
Média cruz.	10,950		4,57	7,986		8,14
Hs B x Hs B	9,909	a	-	7,279	a	-
B x A	10,064	a	1,56	7,810	a	7,30
Probab (%)	(79,6%)			(27,7%)		
B x C	8,765	b	-11,55	6,538	b	-10,18
Probab (%)	(1,84%)			(3,66%)		
A x B x C	8,519	b	-14,03	6,297	b	-13,49
Probab (%)	(2,50%)			(3,17%)		
Média cruz.	9,116		-8,01	6,882		-5,46
Hs C x Hs C	10,255	a	-	7,411	a	-
C x A	9,662	a	-5,78	7,079	a	-4,48
Probab (%)	(64,7%)			(51,5%)		
C x B	11,431	a	11,47	8,089	a	9,15
Probab (%)	(10,4%)			(17,2%)		
A x B x C	8,519	b	-16,93	6,297	b	-15,03
Probab (%)	(1,03%)			(2,32%)		
Média cruz.	9,871		-3,75	7,155		-3,45
Média H.comerciais	10,212		-	7,358		-
Média H.cruzados	10,396		-2,40	7,639		-0,26

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 12. Resultados médios das características peso de espigas (PE) e peso de grãos (PG) de híbridos *per se* e respectivos cruzamentos, e efeito xênia (Xe) correspondentes, obtidos no conjunto de dois anos (2004/05 e 2005/06) e de dois locais (“Vitorinha” e Ribeirão Vermelho). Lavras, MG, 2005/06.

“Vitorinha e Ribeirão Vermelho” safras 2004/05 e 2005/06						
Híbridos	PE (t ha ⁻¹)		Xe (%)	PG (t ha ⁻¹)		Xe (%)
Hs A x Hs A	10,732	a	-	7,307	a	-
A x B	12,110	b	12,84	8,609	b	17,81
Probab (%)	(0,15%)			(0,11%)		
A x C	11,503	a	7,18	8,097	b	10,81
Probab (%)	(12,2%)			(3,20%)		
A x B x C	9,675	c	-9,85	7,019	a	-3,94
Probab (%)	(2,67%)			(60,5%)		
Média cruz.	11,096		3,39	7,908		8,23
Hs B x Hs B	10,374	a	-	7,456	a	-
B x A	10,083	a	-2,81	7,507	a	0,68
Probab (%)	(52,3%)			(86,3%)		
B x C	10,910	a	5,17	7,801	a	4,63
Probab (%)	(27,5%)			(31,7%)		
A x B x C	9,675	a	-6,74	7,019	a	-5,86
Probab (%)	(12,3%)			(17,1%)		
Média cruz.	10,223		-1,46	7,442		-0,18
Hs C x Hs C	10,459	a	-	7,212	a	-
C x A	10,663	a	1,95	7,508	a	4,10
Probab (%)	(72,2%)			(60,9%)		
C x B	10,904	a	4,25	7,502	a	4,02
Probab (%)	(51,2%)			(53,1%)		
A x B x C	9,675	a	-7,50	7,019	a	-2,68
Probab (%)	(12,3%)			(58,9%)		
Média cruz.	10,414		-0,43	7,343		1,81
Média H.comerciais	10,522		-	7,325		-
Média H.cruzados	10,835		0,50	7,720		3,29

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 13. Efeitos xênia estatisticamente significativos, verificados na produção de grãos, nos cruzamentos envolvendo três híbridos simples comerciais de milho (Hs A, Hs B e Hs C), em diversas combinações de ambiente. Lavras, MG, 2005/06.

Ambientes	Híbridos simples				
	Hs A		Hs B		Hs C
	Efeito xênia (%)				
Vitorinha 2004/05			B x C 20,1	C x A 16,5	
Vitorinha 2005/06	A x B	33,2			
Ribeirão Vermelho 2004/05	A x B	23,1	B x A 20,5		
	A x C	19,7			
Ribeirão Vermelho 2005/06	A x C	15,1		C x A 32,4	
				C x B 45,1	
2004/05 (2 locais)	A x B	12,8			
2005/06 (2 locais)	A x B	15,7		C x B 15,6	
Vitorinha (2 safras)	A x B	19,6	B x C 18,7		
Ribeirão Vermelho (2 safras)	A x B	16,1			
	A x C	23,1			
Conjunta geral	A x B	17,8			
	A x C	10,8			

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 14. Análise de variância dos dados de “Vitorinha”, safra 2004/05, para: peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) corrigido para 13,0% de umidade e estande ideal de 15 plantas, peso de 100 grãos (P 100 sem.). Lavras, MG, 2004/05.

FV	Quadrados médios			
	GL	PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)	P 100 sem. (g)
Tratamentos	9	33632440,75 **	15490056,70 **	130,47 **
Resíduo	90	3286635,43	1902202,98	2,13
Média		9.716	6.886	34,26
CV (%)		18,66	20,03	4,26
Contrastes de interesse				
Hs's vs cruzamentos	1	2073250,70	81323,81	88,74 **
Hs B vs BC	1	98368301,25 **	45336627,20 **	685,85 **
CB vs BC	1	195043842,5 **	99279680,01 **	336,77 **
Hs C vs CA	1	7580498,50 *	6740766,05 *	1,20
CA vs AC	1	474012,10	1587097,83	11,97 *
Hs's vs A x B x C	1	36223196,01 **	8970248,60 *	8,68 *

*, **: significativo, a 5% e 1%, pelo Teste F.

TABELA 15. Análise de variância dos dados de “Ribeirão Vermelho”, safra 2004/05, para: peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) corrigido para 13,0% de umidade e estande ideal de 15 plantas, peso de 100 grãos (P 100 sem.). Lavras, MG, 2004/05.

FV	Quadrados médios			
	GL	PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)	P 100 sem. (g)
Tratamentos	9	17966832,71 **	11055078,37 **	164,20 **
Resíduo	90	3540354,61	1982602,77	2,99
Média		9.775	7.371	34,20
CV (%)		19,25	19,10	5,05
Contrastes de interesse				
Hs's vs cruzamentos	1	2480262,88	1116297,00	164,69 **
Hs A vs AB	1	14231700,76 *	12337220,28 **	42,57 **
BA vs AB	1	2232589,84	35117222,82	178,62 **
Hs A vs AC	1	12281676,26	9081072,14 *	8,86
CA vs AC	1	41752119,42 **	11543033,74 **	12,51 *
Hs B vs BA	1	1345663,44	14451360,03 **	188,68 **
Hs's vs A x B x C	1	49687980,07 **	37781102,32 **	58,09 **

*, **: significativo, a 5% e 1%, pelo Teste F.

TABELA 16. Análise de variância dos dados de “Vitorinha”, safra 2005/06, para: peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) corrigido para 13,0% de umidade e estande ideal de 15 plantas e densidade em amostra de 1,5 kg. Lavras, MG, 2005/06.

FV	Quadrados médios			
	GL	PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)	Densidade
Tratamentos	9	25198925,12 **	7922929,16 **	0,0010 **
Resíduo	90	4954601,90	2390639,04	0,0003
Média		12.590	8.361	1,2251
CV (%)		17,68	18,49	1,44
Contrastes de interesse				
Hs's vs cruzamentos	1	13414674,01	9823814,45 *	0,00014
Hs A vs AB	1	52939326,05 **	30841344,80 **	0,00006
BA vs AB	1	57932676,01 **	31060288,80 **	0,00297 **
Hs's vs A x B x C	1	1101312,03	1611133,74	0,00027

*, **: significativo, a 5% e 1% , pelo Teste F.

TABELA 17. Análise de variância dos dados de “Ribeirão Vermelho”, safra 2005/06, para: peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) corrigido para 13,0% de umidade e estande ideal de 15 plantas e densidade em amostra de 1,5 kg. Lavras, MG, 2005/06.

FV	Quadrados médios			
	GL	PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)	Densidade
Tratamentos	9	60517824,13 **	31864860,68 **	0,00412 **
Resíduo	90	4961570,32	2401710,39	0,00079
Média		10.501	7.427	1,20528
CV (%)		21,21	20,86	2,33
Contrastes de interesse				
Hs's vs cruzamentos	1	42385131,81 **	14706125,02 *	0,00035
Hs A vs AC	1	15931124,99	9030336,05 *	0,00201
Hs C vs CA	1	35109850,05 **	17964601,25 **	0,00466 *
CA vs AC	1	40615350,03 **	31167554,52 **	0,00363 *
Hs C vs CB	1	90733740,05 **	34695048,20 **	0,00514 *
CB vs BC	1	69043280,02 **	22328071,20 **	0,01406 **
Hs's vs A x B x C	1	277018680,0 **	128878129,4 **	0,01254 **

*, **: significativo, a 5% e 1% , pelo Teste F.

TABELA 18. Análise de variância conjunta envolvendo dois locais (“Vitorinha e Ribeirão Vermelho”), safra 2004/05, para: peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) corrigido para 13,0% de umidade e estande ideal de 15 plantas e peso de 100 sementes. Lavras, MG, 2005/06.

FV	Quadrados médios			
	GL	PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)	P 100 sem. (g)
Tratamentos	9	23211414,80 **	11195409,81 **	290,9120 **
Locais	1	175528,36	11739047,52 *	0,1861
Tratamentos x locais	9	28389289,41 **	1537605,32 **	3,7624
Resíduo	180	3413506,12	1942394,71	2,5599
Média		9.745	7.129	34,23
CV (%)		18,95	19,55	4,67
Contrastes de interesse				
Hs's vs cruzamentos	1	4544400,21	900110,00	247,62 **
Hs A vs AB	1	6185901,15	8668634,13 *	78,01 **
BA vs AB	1	9036593,72	496532,09	322,85 **
Hs's vs A x B x C	1	85380314,84 **	41785071,97 **	53,06 **

*, **: significativo, a 5% e 1% , pelo Teste F.

Tabela 19. Análise de variância conjunta envolvendo dois locais (“Vitorinha e Ribeirão Vermelho”), safra 2005/06, para: peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) corrigido para 13,0% de umidade e estande ideal de 15 plantas e densidade em amostra de 1,5 kg. Lavras, MG, 2005/06.

FV	Quadrados médios			
	GL	PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)	Densidade
Tratamentos	9	40963672,81 **	22011417,63 **	0,003129 **
Locais	1	218252456,6 **	43575780,17**	0,019715 **
Tratamentos x locais	9	44753076,51 **	17776372,32 **	0,002025 **
Resíduo	180	4958086,12	2396174,71	0,000552
Média		11.545	7.894	1,21521
CV (%)		19,29	19,61	1,93
Contrastes de interesse				
Hs's vs cruzamentos	1	51744875,62 **	24284547,22 **	0,000023
Hs A vs AB	1	29809749,03 *	16594592,40 **	0,000815
BA vs AB	1	96286090,00 **	58925135,02 **	0,001090
Hs C vs CB	1	19841145,61 *	7442187,03 *	0,000600
CB vs BC	1	6130890,01	3114198,03	0,008796 **
Hs's vs A x B x C	1	156526650,0 **	79654347,10 **	0,008242 **

*, **: significativo, a 5% e 1%, pelo Teste F.

TABELA 20. Análise de variância conjunta envolvendo dois anos (2004/05 e 2005/06) em um local (“Vitorinha”), para: peso de espigas (PE), peso de grãos (PG). Lavras, MG, 2005/06.

FV	Quadrados médios		
	GL	PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)
Tratamentos	9	29627233,51 **	12338285,83 **
Anos	1	413039785,33 **	10868834481 **
Tratamentos x anos	9	29206267,82 **	11072580,11 **
Resíduo	180	4120630,23	2146412,80
Média		11.153	7.624
CV (%)		18,20	19,22
Contrastes de interesse			
Hs's vs cruzamentos	1	2470255,71	5846386,47
Hs A vs AB	1	24645860,10 *	19250175,02 **
BA vs AB	1	53752104,02 **	20805177,60 **
Hs B vs BC	1	70841145,60 **	24421875,63 **
CB vs BC	1	176219446,22 **	74340749,03 **
Hs's vs A x B x C	1	24978347,93 *	9092305,30 *

*, **: significativo, a 5% e 1%, pelo Teste F.

TABELA 21. Análise de variância conjunta envolvendo dois anos (2004/05 e 2005/06) em um local (“Ribeirão Vermelho”), para: peso de espigas (PE), peso de grãos (PG). Lavras, MG, 2005/06.

FV	Quadrados médios		
	GL	PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)
Tratamentos	9	55804171,41 **	27520227,02 **
Anos	1	26327670,5 *	158360,72
Tratamentos x Anos	9	22680485,42 **	15399712,12 **
Resíduo	180	4250962,31	2192156,62
Média		10.138	7.399
CV (%)		20,34	20,01
Contrastes de interesse			
Hs's vs cruzamentos	1	12179587,12	11962927,13 *
Hs A vs AB	1	24645860,10 *	19250175,02 **
BA vs AB	1	30107802,26 **	5809793,28
Hs A vs AC	1	28094285,38 *	18111372,66 **
CA vs AC	1	823663547,10 **	40322848,8 **
Hs's vs A x B x C	1	280675530,23 **	153108966,7 **

*, **: significativo, a 5% e 1%, pelo Teste F.

TABELA 22. Análise de variância conjunta envolvendo quatro ambientes, sendo dois locais (“Vitorinha e Ribeirão Vermelho”) e dois anos (2004/05 e 2005/06), para: peso de espigas (PE), peso de grãos (PG) corrigido para 13,0% de umidade e estande ideal de 15 plantas. Lavras, MG, 2004/05.

FV	Quadrados médios		
	GL	PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)
Tratamentos	9	41699046,01 **	19757124,02 **
Anos	1	323964001,02 **	58572082,51 **
Locais	1	103024530,04 **	5040204,62
Anos x locais	1	115403454,81 **	50274623,01 **
Anos x tratamentos	9	22476746,31 **	13449703,43 **
Locais x tratamentos	9	43732359,01 **	20101388,82 **
Safras x locais x tratamentos	9	29410006,92 **	13022588,87 **
Resíduo	360	4185796,21	2169285,42
Média		10.645	7.511
CV (%)		19,22	19,61
Contrastes de interesse			
Hs's vs Cruzamentos	1	12810055,32	17267664,32 **
Hs A vs AB	1	31577227,17 **	24625463,78 **
BA vs AB	1	82158770,22 **	24301746,72 **
Hs A vs AC	1	18620350,73 *	13000539,38 *
CA vs AC	1	26693322,02 *	12735361,82 *
Hs's vs A x B x C	1	236557525,01 **	118411672,83 **

*, **: significativo, a 5% e 1%, pelo Teste F.

TABELA 23. Médias de produção de grãos dos quatro experimentos envolvendo os três híbridos comerciais de milho, seus F₁ e os recíprocos. Lavras, MG, 2005/06.

Tabela dialélica completa				
Machos	Hs A	Hs B	Hs C	TOTAIS
Fêmeas	(t ha ⁻¹)			
Hs A (PG)	7,307	8,609	8,097	24,013
Hs B (PG)	7,507	7,456	7,801	22,764
Hs C (PG)	7,508	7,502	7,212	22,222
TOTAIS	22,322	23,567	23,110	68,999

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 24. Análise complementar da variância para produção de grãos em dialélico envolvendo os três híbridos comerciais de milho, seus F₁ e os recíprocos. Lavras, MG, 2005/06 (Griffing, 1956).

FV	GL	Quadrados médios	
		PE (kg. ha ⁻¹)	PG (kg. ha ⁻¹)
Tratamento	8	14289794,4444 **	7015410,6944 **
CGC	2	3828569,3056	2979901,5972
CEC	3	10214318,1481	7258488,7037 *
Recíprocos	3	25339420,8333 **	9462672,0833 **
Ambiente	3	155939207,4074	34224675,5556
Trat. x amb.	24	30436045,7407 **	16180183,4722 **
CGC x amb.	6	26113660,7870 **	14564715,2083 **
CEC x amb.	9	25440837,2840 **	8123120,3704 **
Recíp. x amb.	9	38312844,1667 **	25314225,4167 **
Resíduo combinado	360	4185790,2531	2169288,2532
Média (u)		10.951	7.714

*, **: significativo, a 5% e 1%, pelo Teste F.

TABELA 25. Estimativas de componentes genéticos das médias de produção de grãos em dialélico envolvendo comerciais de milho, seus F₁ e os recíprocos. Lavras, MG, 2005/06 (Griffing, 1956).

Efeito da capacidade geral de combinação (g_i)		
Efeito Gi	Média PE (kg ha ⁻¹)	Média PG (kg ha ⁻¹)
Hs A	145,68	122,76
Hs B	-78,78	-28,03
Hs C	-66,90	-94,74
Efeito da capacidade específica de combinação (g_{ij})		
Efeito Sij	Média PE (kg ha ⁻¹)	Média PG (kg ha ⁻¹)
Hs A x Hs A	-293,97	-434,89
Hs A x Hs B	395,36	249,40
Hs A x Hs C	-101,39	185,49
Hs B x Hs B	-546,31	-308,56
Hs B x Hs C	150,94	59,15
Hs C x Hs C	-49,56	-244,64
Efeito dos recíprocos (g_{ij})		
Efeito Rij	Média PE (kg ha ⁻¹)	Média PG (kg ha ⁻¹)
Hs B x Hs A - Hs A x Hs B	1.013,50	551,00
Hs C x Hs A - Hs A x Hs C	420,00	169,50
Hs C x Hs B - Hs B x Hs C	3,00	149,5

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIANUAL 2006: **anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP, 2005. 504 p.
- ANDRADE, J. A. C.; PEREIRA, F. C. D. Uso do efeito xênia em híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 1, p. 65-78, jan./abr. 2005.
- ARAÚJO, J. S. de **Ganhos genéticos obtidos em híbridos e variedades de milho representativos de três décadas de melhoramento no Brasil**. 1995. 64 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- BULANT, C.; GALLAIS, A. Xenia effects in maize with normal endosperm: I. Importance and stability. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 1, p. 1517-1525, Jan./Feb. 1998.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes – Versão Windows**, aplicativo computacional em genética e estatística. Versão 2004. 2. 1. Viçosa: UFV, 2004.
- FERNANDES, F. T.; FRAZON, J. F. Third years of genetic progress in maize (9*Zea mays* L.) in a tropical environment. **Maydica**, Bergamo, v. 42, n. 1, p. 21-27, 1997.
- GRIFFING, J. B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel systems. **Australian Journal of Biological Science**, Melbourne, v. 9, p. 463-493, 1956.
- KETCHIE, D. O.; FAIRCHILD, E. D.; DRAKE, F. R. Viability of different pear pollen and the effect on fruit set of ‘Anjou’ pear (*Pyrus communis* L.). **Fruit Varieties Journal**, Urbana, v. 50, n. 2, p. 118-124, Apr. 1996.
- LENG, E. R. Direct effect of pollen parent on kernel size in dent corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 41, n. 12, p. 555-558, Dec. 1949.
- MAZAKI, M.; MAZAKI, T. Curves of water mass percentage versus specific gravity in vegetables in nature - improvement of industrial process by test of raw materials. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Sept./Dec. 2000, vol.20, no.3, p.309-313. ISSN 0101-2061.

PATERNIANI, E. Maize breeding in the tropics. **Critical Review in Plant Science**, Boca Raton, v. 9, n. 2, p. 125-154, 1990.

PONELEIT, C. G.; EGLI, D. B. Differences between reciprocal crosses of maize for kernel growth characteristics. **Crop Science**, Madison, v. 32, n. 5, p. 871-875, Sept./Oct. 1983.

SAS INSTITUTE. **SAS language and procedures: Usage**. Version 8. 1. Cary, NC: SAS: SAS Institute, 2000. 1CD-ROM.

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

SEKA, D.; CROSS, H. Z. Xenia and maternal effects on maize agronomic traits at three plant densities. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 86-90, Jan./Feb. 1995a.

SEKA, D.; CROSS, H. Z. Xênia and maternal effects on maize kernel development. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 80-85, Jan./Feb. 1995b.

VENCOVSKY, R.; MORAIS, A. R.; GRACIA, J. C.; TEIXEIRA, N. M. Avaliação do progresso genético devido ao melhoramento de milho no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 16. , 1986, Belo Horizonte. **Anais**. . . Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1988.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

WEILAND, R. T. Cross-pollination effects on maize (*Zea mays* L.) hybrid yields. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 72, n. 1, p. 27-33, Mar. 1992.

WEINGARTNER, U.; PREST, T. J.; CAMP, K. -H.; STAMP, P. The plus-hybrid system a method to increase grain yield by combined cytoplasmic male sterility and xenia. **Maydica**, Bergamo, v. 47, n. 2, 127-134, 2002.

CAPÍTULO 2

DETECÇÃO DO EFEITO XÊNIA EM MILHO POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

RESUMO

LÜDERS, Reginaldo Roberto. **Detecção do efeito xênia em milho por meio de marcadores microssatélites**. Lavras: UFLA, 2006. 113p (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)^{1/}

Dois experimentos, um com polinização natural e outro com polinização manual controlada, foram realizados em duas localidades do estado de Minas Gerais (Lavras e “Vitorinha”), em 2004/05, para verificar e quantificar o efeito xênia em milho. Nos dois experimentos, marcadores microssatélites foram utilizados para distinguir grãos de origem cruzada dos resultantes de autopolinização. Para o estudo, foram utilizados três híbridos simples dos mais cultivados no Brasil, a saber, P 30F90, A 2555 e DKB 333 B, realizando todos os cruzamentos possíveis entre eles, incluindo os recíprocos. Nos dois ensaios, o material de estudo constou de amostras compostas de grãos coletados na região mediana de 10 espigas, tomadas aleatoriamente nas parcelas, no caso da polinização natural e retiradas de 10 plantas submetidas à polinização manual, nos respectivos casos. Com base nos dados obtidos, por meio de análises de variância segundo o modelo “entre e dentro”, com testes de contrastes com 1 grau de liberdade, e o teste “t” para médias de dados não emparelhados, foi estimado o efeito xênia sobre o peso de grãos individuais e o peso de 100 grãos. A utilização dos marcadores microssatélites foi eficiente, tendo sido possível diferenciar os cruzamentos das autofecundações nos dois experimentos e em todos os arranjos possíveis dos híbridos comerciais utilizados. Conforme os híbridos envolvidos nos cruzamentos e a condição polinizador/receptor de cada um (influência materna), efeitos xênia de diferentes magnitudes – inclusive um fortemente negativo - foram observados com respeito às duas características avaliadas. Interação genótipo x ambiente foi verificada quanto à manifestação desse efeito, porém, alguns resultados mostraram-se coerentes, repetindo-se nos dois tipos de experimentos. Cruzamentos envolvendo 100% de alopólen provocaram, em média, aumentos 7,3% (2,8 g) maiores no peso de 100 grãos, do que os produzidos pela mistura com apenas 50%, demonstrando a influência da maior pressão de pólen estranho no incremento dessa característica. Em condições de polinização livre, observou-se um efeito médio de 12,6% (variando de 7,4% a 16,5%) no aumento do peso de grãos individuais. Com 100% de pólen estranho, o efeito xênia médio foi de 13,1% no peso de 100 grãos e de 8,7% no peso de grãos individuais, tendo ocorrido, todavia, aumentos de 15,4% e 16,6%, respectivamente, nessas características, nos cruzamentos mais favoráveis.

¹ Orientador: João Candido de Souza – Universidade Federal de Lavras (UFLA).

ABSTRACT

LÜDERS, Reginaldo Roberto. **Identification of the xenia effect in maize by means of microsatellite markers**. 2006. 113p Thesis (Doctoral Genetics and Plant Breeding) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Two experiments, one with natural and the other with controlled manual pollination, were carried out at two sites in the state of Minas Gerais (Lavras and “Vitorinha”) in 2004/05, to verify and quantify the xenia effects in maize. In both experiments, microsatellite markers were used to discriminate grains derived from crosses from those of self-pollination, to detect the xenia effect. Three single cross hybrids of the most widely cultivated in Brazil were used, P 30F90, A 2555 and DKB 333 B, and all possible crosses between them established, including the reciprocals. In both trials, the study material consisted of composite grain samples taken from the mid-region of 10 randomly collected ears, in the case of natural pollination, and taken from 10 plants subjected to manual pollination, in the respective cases. By means of analyses of variance according to the model “among and within”, with contrast tests with one degree of freedom, and the “t” test for means of unpaired data, the xenia effect on the individual grain weight and the weight of 100 grains was estimated. The use of microsatellite markers effectively differentiated the crosses from the selfings in both experiments in all possible combinations of the commercial hybrids. According to the hybrids involved in the crosses, and the condition pollinator/receptor of each one (maternal influence), xenia effects of different magnitudes – one of them strongly negative - were observed for the two evaluated traits. Interaction genotype x environment was verified regarding the manifestation of this effect, although some results were coherent and were repeated in both experiments. Crosses with 100% allopollen resulted in higher mean increments 7.3% (2.8 g) in the weight of 100 grains than those with only 50%, demonstrating the influence of the greater pressure of foreign pollen on the trait increase. In open-pollinated plants, a mean effect of 12.6% (varying from 7.4 to 16.5%) was observed in the increase of the individual grain weight. With 100% foreign pollen, the mean xenia effect was 13.1% on the weight of 100 grains and 8.7% on the individual grain weight, while increments in these traits of 15.4% and 16.6%, respectively, were observed in the most favorable crosses.

¹ Advisor: João Candido de Souza – Universidade Federal de Lavras (UFLA).

1 INTRODUÇÃO

Em trabalhos que têm por objetivo verificar o efeito xênia, a não ser que se promova rigoroso controle da polinização, é necessário demonstrar que os efeitos observados se devem, efetivamente, à presença de pólen estranho no processo de fecundação. Há diversos processos para isso, cada um contendo vantagens ou inconvenientes em relação aos outros.

No caso do milho, marcadores genéticos morfológicos permitem identificar os cruzamentos nos próprios grãos, sem a necessidade de avaliação de características reveladoras do fato nas plântulas (Cardy & Kannenberg, 1982). O problema com esses marcadores é que podem apresentar variações por influência do ambiente, além da falta de maiores informações sobre o controle genético envolvido, em certos casos (Smith & Smith, 1989). Testes eletroforéticos baseados em caracteres bioquímicos também podem ser utilizados (McDonald Junior, 1990), embora impliquem em custos apreciáveis e exijam boa representatividade das amostras analisadas, além de perfeito conhecimento das enzimas dos parentais envolvidos (Smith & Weissinger, 1984). Atualmente, as tecnologias de marcadores moleculares estão entre os métodos mais adequados para tal finalidade. Os mais utilizados desses processos são os microssatélites ou SSR (do inglês *single sequence repeat*), os AFLPs (do inglês *amplified fragment length polymorphism*) e os RAPDs (do inglês *random amplified polymorphic DNA*). No entanto, os AFLPs e RAPDs apresentam expressão dominante, não diferenciando, portanto, o homocigoto do heterocigoto. Além disso, os AFLPs exigem uma análise bastante sofisticada para a obtenção de bons resultados. A única desvantagem apresentada pelos marcadores microssatélites, em relação aos demais, é que seu uso exige disponibilidade de seqüências conhecidas, o que nem sempre ocorre, para muitas culturas (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Segundo Wrigley & Batey (1995), marcadores genéticos eficientes devem apresentar, pelo menos, seis atributos: (a) não serem afetados pelo ambiente e pelo estágio de desenvolvimento das plantas; (b) permitirem alto grau de discriminação entre genótipos e baixo dentro do genótipo; (c) compreenderem métodos rápidos e fáceis de execução; (d) não estarem sujeitos à variação entre laboratórios; (e) apresentarem ligação com informações sobre caracteres qualitativos e (f) possibilitarem a utilização de testes estatísticos objetivos para detectar misturas e o coeficiente de similaridade entre genótipos. Em virtude de atenderem a todos esses requisitos, numerosos microssatélites foram desenvolvidos para milho e são, hoje, amplamente utilizados nessa cultura.

O presente trabalho teve por objetivo verificar e quantificar o efeito xênia no aumento da produtividade de híbridos comerciais de milho, utilizando a técnica dos microssatélites para distinguir os grãos de origem cruzada dos resultantes de autofecundação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

2.1.1 Identificação dos híbridos utilizados

Para a condução do experimento foram selecionados três híbridos simples de alta produtividade e com boas características agronômicas, que se destacaram em testes desenvolvidos por diversas instituições de pesquisa no Brasil. Tais híbridos são oriundos de três grandes empresas que detêm grande parte do mercado de sementes de milho no País, sendo, então, considerados representativos dos híbridos atualmente utilizados pelos agricultores brasileiros. São eles: o híbrido simples P30F90, pertencente à empresa Pioneer, denominado neste trabalho de Hs A, que apresenta uma somatória térmica de 925 graus dia para o florescimento; o híbrido simples A 2555, pertencente à empresa Bayer Seeds (Hs B), com 930 graus dia de ciclo e o híbrido simples modificado DKB 333 B, pertencente à empresa Monsanto (Hs C), apresentando uma somatória térmica de 945 graus dia até o florescimento. Essa somatória térmica semelhante até o florescimento garantiu que esses híbridos florescessem no mesmo período. As demais características agronômicas e de sanidade dos híbridos estão listadas no Capítulo 1.

2.1.2 Descrição dos locais

Os experimentos foram conduzidos no estado de Minas Gerais, sendo um, sob polinização natural, na área experimental da Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FAEPE), conhecida como “Vitorinha”, localizada no campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e outro, no qual foram

realizados cruzamentos manuais, na área experimental do Departamento de Biologia (DBI), também localizado no campus da Universidade.

Ambos os experimentos foram conduzidos no município de Lavras, que se situa a 21°14' Latitude Sul, 45°00' Longitude Oeste e altitude de 918m. A temperatura média anual é de 19,4°C e a precipitação média anual de 1.529,7 mm.

2.1.3 Descrição dos primers SSR

Foram utilizados *primers* de SSR gentilmente disponibilizados pela Profa. Dra. Anete Pereira de Souza, da Universidade de Campinas (UNICAMP), selecionados com o intuito de encontrar alelos que diferenciem os três híbridos comerciais. Alguns destes *primers* estão associados a QTLs para rendimento e outras características agrônômicas de interesse (Sibov et al., 2003) ou são derivados de genes (Maize, 2006).

2.2 Métodos

2.2.1 Plantio dos experimentos de campo e de polinização manual

O experimento da “Vitorinha” foi semeado no final de outubro de 2004, em uma área que possui um longo histórico de plantio direto, em rotação com braquiária, milho e feijão. O plantio ocorreu quinze dias após a dessecação da braquiária com glifosato e a colheita deu-se no mês de abril de 2005.

Um segundo experimento, envolvendo cruzamentos manuais, foi semeado na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, no final de novembro de 2004. Neste experimento foram

semeadas 3 linhas de 60m de cada híbrido, espaçadas de 0,80m entre linhas e de 0,20m entre plantas.

2.2.2 Cruzamentos

No experimento de campo da “Vitorinha”, todos os cruzamentos ocorreram de forma natural. No experimento realizado no Departamento de Biologia, foram realizados cruzamentos manuais entre os híbridos, com o intuito de repetir os cruzamentos que aconteceram de maneira espontânea nos ensaios de produção dentro dos lotes isolados.

Com o objetivo de garantir a máxima uniformidade possível, os cruzamentos foram feitos em blocos, isto é, de cada linha foram selecionados blocos de três plantas, em que uma delas foi autofecundada, para garantir o máximo de endogamia, ou seja, o mesmo processo que ocorreria no campo do híbrido *per se*. A segunda planta recebeu 50% de pólen dela mesma e 50% de pólen de outro híbrido, com o objetivo de verificar a preferência pelo alopólen na planta e também o efeito final deste alopólen no peso do grão. A terceira planta foi polinizada com 100% de pólen estranho, garantindo o máximo possível de efeito xênia.

Para garantir eficiência e precisão dos cruzamentos, o pendão das plantas dos híbridos foi coletado no dia anterior e colocado sob luz intensa, com o objetivo de obter a máxima liberação de pólen. O pólen liberado foi peneirado e seu volume medido em recipientes de precisão (tubo de ensaio graduado) que, posteriormente, foram separados, de modo a conter, num caso, o pólen separadamente de cada híbrido, para o uso nas autofecundações e nos cruzamentos com 100% de pólen estranho, e, no outro, as misturas, em arranjos, dois a dois, dos híbridos, contendo 50% de pólen de cada um. Para garantir o máximo de enchimento em cada espiga, foram utilizados 2 ml de pólen em cada

cruzamento. Os cruzamentos em blocos de três plantas foram repetidos 15 vezes para cada possível arranjo de híbridos.

2.2.3 Manejo da cultura

Para todos os híbridos foi realizada adubação de 400 kg ha⁻¹ da fórmula 8-28-16 de N-P₂O₅-K₂O + Zn na semeadura e, em cobertura, 200 kg ha⁻¹ de sulfato de amônio, 20 dias após a emergência. Os demais tratos culturais foram os normalmente recomendados para a cultura do milho no sistema de plantio direto para a região de Minas Gerais.

2.2.4 Amostragem das parcelas

No experimento realizado na “Vitorinha”, foram amostradas espigas das parcelas nas quais, presumivelmente, ocorreu cruzamento devido à pressão de pólen. No total, foram coletadas 10 espigas e de cada uma retirou-se uma subamostra da região mediana. As dez subamostras foram então misturadas, para formar uma amostra composta de cada cruzamento. Posteriormente, 100 grãos de cada cruzamento foram identificados e pesados individualmente em balança de precisão. O procedimento da amostragem de campo está detalhado na Figura 3.

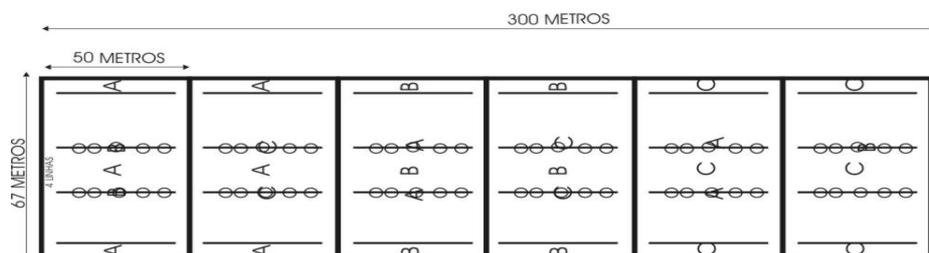


FIGURA 3. Disposição das espigas nos cruzamentos de campo, para B x A, C x A, A x B, C x B, A x C e B x C, linhas centrais. “Vitorinha”. Lavras, MG, safra de 2004/05.

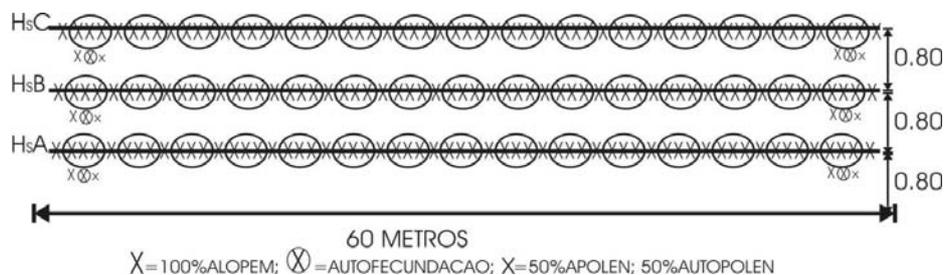


FIGURA 4. Disposição dos tratamentos nos cruzamentos manuais, para os híbridos autofecundados, Hs A, Hs B e Hs C, e também para os cruzamentos com 50% de autopólen e 50% de alopólen e 100% de alopólen para B x A, C x A, A x B, C x B, A x C e B x C. Lavras, MG, safras de 2004/05.

O mesmo procedimento foi realizado no experimento com cruzamentos manuais, em que foram selecionadas as melhores espigas de cada cruzamento, e debulhada a região mediana para compor as 10 subamostras. No entanto, nesse caso, apenas 50 grãos foram pesados e identificados. O procedimento da amostragem dos cruzamentos manuais está detalhado na Figura 4.

2.2.5 Caracteres avaliados

Para comparação dos tratamentos, foi determinado, no experimento com polinização natural, o peso dos grãos individuais. No experimento com cruzamentos manuais, além dessa característica, foi determinado também o peso de 100 grãos. Os grãos identificados e pesados (100, no primeiro experimento e 50, no segundo) foram colocados em bandejas de isopor para germinar e para posterior extração do DNA nas respectivas plântulas.

2.2.6 Preparação do material vegetal e extração do DNA

O material vegetal foi preparado 15 dias após a germinação, mediante coleta de folhas de 20 plântulas de cada híbrido *per se*, misturando-se, em partes iguais, para a extração do DNA. Esse DNA extraído dos híbridos *per se* foi utilizado para selecionar o *primer* utilizado como “fingerprinting”, para identificar os cruzamentos e as autofecundações nos dois experimentos.

O DNA, tantos dos híbridos *per se* como dos cruzamentos, foi extraído segundo o protocolo descrito por Saghai-Marroof et al. (1984). Foram utilizados, aproximadamente, dois gramas de tecido vegetal, os quais foram macerados em nitrogênio líquido. O material macerado foi acondicionado em tubos plásticos de 50ml, centrifugado e ressuspenso em 10 mL de tampão de extração CTAB (hexadecil-trimetilamônio de bromida), (70mM de NaCl; 50mM de EDTA pH 8,0; 100mM Tris-HCl pH 7,5; 1% de p/v de CTAB; 1% de p/v de polivinil pyrrolidone; 140mM de b-mercapto-etanol e água destilada e deionizada).

A amostra foi mantida a 65°C, por 60 minutos, quando foram acrescentados 4,5mL de clorofórmio/álcool isoamílico (CIA), na proporção de 24:1 (v:v), seguido pela centrifugação a 3.400rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para novo tubo, em que este procedimento foi repetido. O DNA foi precipitado da fase sobrenadante com álcool isopropanol absoluto, o qual foi lavado com etanol absoluto e etanol 75%. Após secagem em temperatura ambiente, o DNA foi ressuspenso em 100mL de TE pH 8,0 (10mM de Tris-HCl e 1mM de EDTA).

No dia seguinte, o DNA foi novamente precipitado adicionando-se 150 µl de NaCl 5M e 3 ml de etanol e, em seguida, foi removido e acondicionado em tubo contendo 2 ml de WASH 1, solução esta constituída de 76 ml de álcool etílico 95 %, 8 ml de acetato de sódio 2,5M e 16 ml de água, em que permaneceu por, aproximadamente, 30 minutos.

Posteriormente, uma segunda lavagem do DNA com WASH 2 (76 ml de álcool etílico 95%, 1 ml de acetato de amônio 1M e 23 ml de água) por 10 segundos foi realizada. Ao final, o DNA foi dissolvido em 500 µl de TE pH 8,0 e armazenado a 4°C.

2.2.7 Quantificação e diluição do DNA

Concluído o processo de extração, a quantificação do DNA foi realizada em gel de agarose 1%, no qual as bandas de DNA total foram comparadas com as bandas dos lambdas de concentração conhecida (50, 100, 150, 200 e 250 ng). Posteriormente, o DNA foi diluído para uma concentração de 10 ng, para poder ser utilizado na reação de SSR, utilizando-se, para isso, a seguinte fórmula:

$$C_{i(DNAi)} * V_{i(DNAi)} = C_{f(DNAf)} * V_{f(DNAf)} \quad , \quad \text{em que}$$

$C_{i(DNAi)}$: concentração inicial de DNA, obtida pela comparação da banda do DNA com os lambdas no gel de agarose 1%, em ng;

$V_{i(DNAi)}$: volume da solução com C_i de DNA, em µl;

$C_{f(DNAf)}$: concentração final do DNA, que será utilizada na reação de PCR, no caso da reação de SSR 10ng;

$V_{f(DNAf)}$: volume da solução com C_f de DNA, em µl.

Visando otimizar o processo de identificação dos cruzamentos, foram diluídas somente 50 amostras de DNA nos cruzamentos naturais e 30 nos cruzamentos manuais.

2.2.8 Amplificações dos microssatélites

Primeiramente, foram utilizados os 100 *primers* de SSR cedidos pela Profa. Dra Anete Pereira de Souza, da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), com o intuito de encontrar alelos que diferenciassem os três híbridos comerciais ao mesmo tempo, ou seja, encontrar um *primer* que diferenciasse os três híbridos e os possíveis cruzamentos entre eles. As reações de SSR foram preparadas para 25,0 μl , sendo 5 μl de DNA diluído para 10 ng μl^{-1} , 2,5 μl tampão de reação 1X (Promega), 0,75 mM de MgCl_2 (Promega), 1,5 mM de cada dNTP (Invitrogen), 2 U de Taq DNA polimerase (Promega), 1,0 μM de cada *primer* (Forward e Reverse) e 11,25 μl H_2O milliQ. O programa utilizado para a amplificação do DNA foi o comumente utilizado para cultura do milho (TOUTCH 2), mostrado na Tabela 33.

As amplificações foram realizadas no termociclador Mastercycler Gradient (Eppendorf), utilizando-se microplacas com capacidade para 0,2 ml.

Os fragmentos foram revelados em gel de agarose ultrapura (GibcoBRL) com concentração de 3% e preparado com tampão TBE 0,5X. A eletroforese foi conduzida a uma voltagem constante de 100V por, aproximadamente, 2 horas em cuba horizontal (Hoefer SE 600 Gel Casters), no Laboratório de Biologia Molecular do Instituto Agrônomo de Campinas, SP (LBM/IAC). Após a eletroforese, os géis foram corados com brometo de etídeo (0,5 $\mu\text{l}/\text{ml}$) por 15 minutos. Os géis foram visualizados em luz ultravioleta e as imagens capturadas por meio do equipamento digital EDAS 290 (Kodak Digital Science) no (LBM/IAC) e também foram tiradas fotos.

2.2.9 Seleção dos primers de SSR

Uma triagem prévia ajudou a selecionar os *primers* que poderiam ser utilizados na diferenciação dos híbridos *per se*. A maioria dos *primers* testados não conseguiu diferenciar os híbridos *per se*, somente alguns diferenciaram os híbridos aos pares e apenas um (UMC 1638) conseguiu diferenciar o cruzamento entre os híbridos Hs A e Hs C. Com auxílio desse *primer* foi possível diferenciar os híbridos *per se* (Hs A, Hs B e Hs C) e também os cruzamentos entre eles (B x A, C x A, A x B, C x B, A x C e B x C). Esse *primer* está presente no cromossomo 1 e apresenta a seguinte seqüência:

5' AGGTGACCTCGACGTCCTACG 3'
5' GAGGGGAACAAAGACTTGACGTT 3'.

Como os microssatélites são codominantes, eles podem ser utilizados na diferenciação entre cruzamentos e autofecundações com alta precisão.

2.2.10 Análise estatística dos dados

2.2.10.1 Análise estatística do efeito xênia

Por meio de modelo do tipo “entre e dentro” foram feitas análises de variância para cada experimento, isto é, para o experimento da “Vitorinha, envolvendo cruzamento natural e para o experimento da UFLA, envolvendo polinizações controladas. Mediante decomposição da soma de quadrados de tratamentos, em partes com 1 grau de liberdade, foram testados, pelo teste “F”, contrastes não ortogonais, conforme comparações previstas no planejamento

experimental. Todas as análises foram realizadas por meio do software SAS v. 8.1 (SAS Institute, 2000).

Um procedimento indispensável para verificar e quantificar a efeito xênia, quanto à diferença do híbrido autofecundado e o mesmo polinizado por outro, era um teste de comparação entre duas médias. Devido ao esquema experimental adotado, optou-se pelo emprego do teste “t” de Student, aplicado a dados não emparelhados.

O procedimento foi ajustado conforme as amostras se mostrassem homogêneas ou não, para isso as variâncias das amostras nos dois tratamentos foram comparadas entre si. Para confirmação de resultados e para comparações mais complexas, as análises foram complementadas pelo teste “F” da análise de variância, aplicado a contrastes com 1 grau de liberdade, conforme já exposto.

Além do teste t, aplicado para verificar a existência de diferenças entre os tratamentos, com respeito às características avaliadas, foi calculado, em cada caso, o efeito xênia, pela expressão utilizada por Andrade & Pereira (2005).

$$Xe(\%) = \frac{100 * (HsX - Hs\otimes)}{Hs\otimes}$$

Sendo:

$Xe(\%)$: efeito xênia, em porcentagem;

HsX : produção de híbridos cruzados;

$Hs\otimes$: produção dos híbridos autofecundados(*per se*).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos encontram-se nas Figuras e Tabelas anexas, na seguinte ordem: as Figuras 5 e 6 apresentam a diferenciação dos cruzamentos feita pelo *primer* UMC 1638 no cruzamento C x A e A x C de livre polinização e nos cruzamentos controlados, respectivamente.

A Tabela 26 contém as observações quanto à origem dos grãos (autofecundação ou cruzamento), do experimento da “Vitorinha”, envolvendo polinização livre e do Departamento de Biologia da UFLA, envolvendo a polinização controlada. Por meio da utilização de marcadores moleculares foi possível identificar a origem dos grãos e, posteriormente, fazer uma análise de X^2 com o objetivo de checar se as frequências encontradas entre os cruzamentos e as autofecundações eram ou não significativas e se essa significância poderia refletir em termos de peso de grãos.

Na Tabela 27 constam os resultados médios, para o peso de grão individual, obtidos no experimento realizado na “Vitorinha”, na safra 2004/05. Os resultados do experimento envolvendo polinização controlada, realizado na safra 2004/05 no Departamento de Biologia da UFLA e dados referentes ao peso de grão individual e peso de 100 grãos encontram-se na Tabela 29.

Nas Tabelas 28 e 30 encontram-se os resultados das análises das variâncias dos dois experimentos. Finalmente, na Tabela 31 há uma síntese dos efeitos xênia estatisticamente significativos nos dois ensaios.

As duas análises de variância apresentaram coeficientes de variação entre 9,10% e 11,4%, revelando experimentos de alta precisão, segundo Scapim et al. (1995).

3.1 Identificação dos cruzamentos com o auxílio de marcadores moleculares

A utilização dos marcadores microssatélites foi eficiente, tendo sido possível diferenciar os cruzamentos das autofecundações, para ambos os experimentos, em todos os arranjos possíveis dos híbridos comerciais utilizados. Dos 100 *primers* testados, apenas alguns conseguiram separar os híbridos aos pares (BNLG 1621, UMC 1397, BNLG 1484, BNLG 615, BNLG 1006, BNLG 240 e BNLG 105). No entanto, apenas 1 *primer* (UMC 1638) conseguiu separar os três híbridos comerciais quando cruzados, principalmente o cruzamento C x A e C x A. Possivelmente, esses híbridos têm parentais em comum, o que dificultou a seleção dos *primers*.

Com o auxílio de uma escala de DNA – ladders de 100 bp, foi possível diferenciar os cruzamentos e as autofecundações para cada par de híbridos, sendo que, para os híbridos Hs A, Hs B e Hs C, o padrão de bandas observado nos géis separou os híbridos em torno de 350pb, 300pb e 200pb, respectivamente.

A diferenciação dos cruzamentos ficou bem nítida em gel de agarose 3%, pois as autofecundações foram marcadas pela presença de apenas uma banda e os cruzamentos pela presença de duas bandas, pois este *primer* é codominante. Pela análise das Figuras 5 e 6, fica clara a alta precisão dos resultados obtidos.

3.2 Experimento com polinização natural

O experimento conduzido no local “Vitorinha”, em 2004/05, pode ser analisado pela Tabela 27. Verifica-se que, dos seis cruzamentos possíveis, cinco revelaram a presença de efeito xênia significativo e positivo. A exceção foi o cruzamento B x C, que apresentou uma redução de -12,94% em relação ao peso

do grão autofecundado do híbrido Hs C. Esses resultados são confirmados pelos contrastes estudados na análise da variância, apresentada na Tabela 28. Como se vê, o efeito xênia variou entre 7,44% (0,0248 g) e 16,45% (0,0499 g), para os cruzamentos B x A e C x B, respectivamente (Tabela 27). Resultados semelhantes foram obtidos por Mercer (2001), Bulant & Gallais (1998), que estudaram a manifestação do efeito xênia correlacionada com o aumento da produtividade.

Uma análise de X^2 aplicada das observações constatou que, realmente, houve uma preferência para o alopólen nos cruzamentos A x B, e B x A (Tabela 26), indicando que a influência do pólen estranho realmente pode elevar a produção. Para ambos os cruzamentos, a taxa de plinização cruzada variou entre 66% e 68%. Para outros casos, como o cruzamento C x A, a taxa de cruzamento foi de 62%, superior a autofecundação, mas não significativa pelo X^2 . Para os cruzamentos C x B e B x C, a taxa de cruzamento não diferiu da taxa de autofecundação, ficando ambos com 50%.

3.3 Experimentos com polinização controlada

Esse experimento pode ser analisado pela Tabela 29. Verifica-se que, dos seis cruzamentos possíveis, apenas os cruzamentos A x B e B x A não manifestaram o efeito xênia significativo para peso de grãos individuais. Estes mesmos cruzamentos apresentaram menores valores para esse efeito, no experimento com polinização natural. O cruzamento B x C apresentou um efeito negativo de -19,1%, e os cruzamentos A x C e C x B sobressaíram-se com efeitos de xênia de 16,7% (0,0649 g) e 14,7% (0,0500 g), respectivamente. Verifica-se, portanto, considerável semelhança entre os resultados obtidos nos dois experimentos. Vale notar que esses resultados são confirmados pelos contrastes não ortogonais na análise da variância da Tabela 30.

Neste experimento, a análise de X^2 não mostrou significância para nenhum cruzamento considerado; elevando-se o nível de significância para 15%, foram detectadas diferenças entre os cruzamentos B x A e B x C, tendo o cruzamento B x C sido o que apresentou maior efeito xênia para este caráter.

A taxa de polinização cruzada, quando se utilizou 50% de alopólen e 50% de autopólen, para os cruzamentos B x A e B x C, que diferiram pelo teste X^2 , se o nível de significância utilizado fosse de 15%, a taxa de cruzamento seria de 63%, sendo muito semelhante aos cruzamentos de polinização natural e, também, superior em relação à autofecundação, pois, nesse caso, seria esperado que 50% dos grãos fossem de origem autofecundada.

Por esse experimento é possível dizer com certeza que há uma preferência pelo pólen de origem estranha e que esta preferência pode chegar a 63%, em média. Do mesmo modo que o experimento anterior, pode ser que essa taxa de alopolinização fosse maior se o número de amostras analisadas com o auxílio de marcadores fosse maior. Mas, alguns trabalhos citam que esse número de amostras é representativo para esses cruzamentos.

De modo geral, esses resultados se repetiram, com muita semelhança, no estudo do peso de 100 grãos (Tabela 29), inclusive quanto ao efeito negativo observado no cruzamento B x C. Chamam a atenção, especialmente, os valores mais altos obtidos com 100% de alopólen, em comparação com 50%, mostrando claramente que a pressão de pólen estranho está interferindo na manifestação do efeito xênia.

A respeito das diferenças entre os diversos cruzamentos, vale ressaltar, como fizeram Andrade & Pereira (2005) e Poneleit & Egli (1983), que existem combinações específicas entre pares de genótipos, de forma que a junção de alelos favoráveis resulta em efeito xênia manifestado no aumento da produtividade, tanto maior quanto maior for a quantidade de grãos de origem cruzada. A recíproca é verdadeira, pois, se as combinações não forem eficientes,

o efeito xênia poderá ser negativo, como ocorreu no cruzamento B x C. Para Leng (1949), essas combinações de genes específicos, dominantes ou parcialmente dominantes agiriam afetando as fases de enchimento do grão, tanto para mais como para menos, dependendo das combinações.

Outros pesquisadores (Andrade & Pereira 2005; Bulant & Gallais, 1998; Seka, 1995a,b; Mercer 2001; Weingartner et al., 2002) obtiveram ganhos médios de 18%, desconsiderando se os cruzamentos foram entre linhagens, híbridos ou híbridos com linhagens. No presente estudo, considerando 100% de pólen estranho, observa-se efeito médio de 13,1% para peso de 100 grãos e 8,7% para peso de grãos individuais. Ressalte-se, todavia, que houve efeito de 16,6% para peso de grãos individuais e de 15,4% no peso de 100 grãos, nos cruzamentos mais favoráveis, assim como efeito negativo de 19,1% e 38,3%, respectivamente (Tabela 29), nas características mencionadas, em determinado cruzamento.

Por fim, a síntese contida na Tabela 31 mostra a coerência de resultados obtidos com certos cruzamentos, que se repetem nos dois experimentos, ou seja, com polinização livre e com polinização manual controlada.

4 CONCLUSÕES

1 Marcadores moleculares microssatélites foram eficientes na diferenciação entre grãos autofecundados e cruzados, em estudo do efeito xênia envolvendo três híbridos simples comerciais.

2 Conforme os híbridos envolvidos nos cruzamentos e a condição polinizador/receptor de cada um (influência materna), efeitos xênia de diferentes magnitudes foram observados com respeito ao peso de grãos individuais e ao peso de 100 grãos.

3 Interação genótipos x ambientes foi observada quanto à manifestação do efeito xênia, porém, alguns resultados mostraram-se coerentes, repetindo-se nos dois tipos de experimentos conduzidos, a saber, com polinização livre ou manual controlada.

4 Cruzamentos envolvendo 100% de alopólen provocaram, em média, 7,3% (2,8 g) de aumento no peso de 100 grãos, em relação à mistura com apenas 50%, demonstrando a influência da maior pressão de pólen estranho no incremento da característica considerada.

5 Em condições de polinização livre, observou-se um efeito médio de 12,6% (variando de 7,4% a 16,5%) no aumento do peso de grãos individuais.

6 Com 100% de pólen estranho, o efeito xênia médio foi de 13,1%, no peso de 100 grãos e de 8,7%, no peso de grãos individuais, tendo ocorrido, todavia, aumentos de 15,4% e 16,6%, respectivamente, nessas características, nos cruzamentos mais favoráveis.

TABELA 26. Tabela de X^2 referente às observações do peso de grãos individuais para o experimento da “Vitorinha”, envolvendo polinização livre e o do Departamento de Biologia da UFLA, envolvendo polinização controlada, no ano de 2004/05. Lavras, MG, 2004/05.

X^2 das observações								
Hs e cruzamentos	Vitorinha (livre polinização)				Departamento de Biologia (cruzamento controlado)			
	N.	$(O-E)^2$	X^2	Prob.	N.	$(O-E)^2$	X^2	Prob.
	Plantas	E		(%)	Plantas	E		(%)
Hs B x Hs B	15	3,074	6,149	1,32	12	0,600	1,200	27,33
B x A	32				18			
Total plantas	47				30			
Hs A x Hs A	16	2,394	4,787	2,87	11	1,067	2,130	14,41
A x B	31				19			
Total plantas	47				30			
Hs C x Hs C	23	0,011	0,021	88,41	11	1,067	2,130	14,41
C x B	24				19			
Total plantas	47				30			
Hs A x Hs A	18	1,287	2,574	10,86	17	0,267	0,533	46,52
A x C	29				13			
Total plantas	47				30			
Hs C x Hs C	19	0,862	1,723	18,93	13	0,267	0,533	46,52
C x A	28				17			
Total plantas	47				30			
Hs B x Hs B	24	0,011	0,021	88,41	18	0,600	1,200	27,33
B x C	23				22			
Total plantas	47				30			

- Número de plântulas amostradas para extração de DNA, a fim de checar a origem no experimento de polinização livre = 47.

- Número de plântulas amostradas para extração de DNA, a fim de checar a origem no experimento de polinização controlada = 30.

TABELA 27. Resultados médios da característica peso de grãos individuais (P. grãos), dos híbridos autofecundados e respectivos cruzamentos obtidos por polinização livre, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no local “Vitorinha”, em 2004/05. Lavras, MG.

Polinização livre “Vitorinha” safra 2004/05				
Híbridos	Número de plantas	P. grão (g)		Xe (%)
Hs A x Hs A ⊗	16	0,3333	a	-
A x B	31	0,3581	b	7,44
Probab (%)		(5,63%)		
Hs A x Hs A ⊗	18	0,3259	a	-
A x C	29	0,3762	b	15,43
Probab (%)		(0,004%)		
Hs B x Hs B ⊗	15	0,3008	a	-
B x A	32	0,3259	b	8,34
Probab (%)		(2,50%)		
Hs B x Hs B ⊗	24	0,3033	a	-
B x C	23	0,3532	b	16,45
Probab (%)		(0,001%)		
Hs C x Hs C ⊗	23	0,2605	a	-
C x B	24	0,2268	b	-12,94
Probab (%)		(0,009%)		
Hs C ⊗	19	0,2887	a	-
C x A	28	0,3330	b	15,34
Probab (%)		(0,002%)		

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste “t”.

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 28. Análise de variância de peso de grão individual (P. grão individual) no local “Vitorinha”, no ano de 2004/05. Lavras, MG.

FV	Quadrados médios	
	GL	P. grão individual (g)
Tratamentos	8	0,048349 **
Resíduo	273	0,001276
Média		0,313972
CV (%)		11,38
Contrastes de interesse		
Hs's ⊗ vs cruzamentos	1	0,002498
Hs A x Hs A ⊗ vs AB	1	0,074918 *
Hs A x Hs A ⊗ vs AC	1	0,047555 **
Hs B x Hs B ⊗ vs BA	1	0,009742 **
Hs B x Hs B ⊗ vs BC	1	0,037396 **
Hs C x Hs C ⊗ vs CA	1	0,010403 **
Hs C x Hs C ⊗ vs CB	1	0,235137 **

*; **: significativo a 5% e 1% pelo Teste F.

TABELA 29. Resultados médios das características peso de grãos individuais, peso de 100 grãos, considerando 100% do cruzamento com alopólen e também do peso de 100 grãos, considerando 50% de autopólen e 50% de alopólen, dos híbridos autofecundados e respectivos cruzamentos, e efeitos xênia (Xe) correspondentes, obtidos no local Departamento de Biologia, em 2004/05. Lavras, MG.

Híbridos	P. grão (g)	Xe (%)	P. 100 grãos 100% alopólen	Xe (%)	P. 100 grãos 50% autopólen e 50% alopólen	Xe (%)
Hs A x Hs A	0,4244 a	-	41,66 a	-	41,66 a	-
A x B	0,4296 a	1,23	44,19 b	6,07	43,07 b	3,38
Probab (%)	(75,22%)		(1,78%)		(4,13%)	
Hs A x Hs A	0,3953 a	-	33,53 a	-	33,53 a	-
A x C	0,4215 b	6,63	41,72 b	24,4	38,61 b	15,2
Probab (%)	(2,88%)		(0,86%)		(0,81%)	
Hs B x Hs B	0,3304 a	-	33,53 a	-	33,53 a	-
B x A	0,3437 a	4,03	34,39 a	2,51	34,29 a	2,27
Probab (%)	(18,12%)		(61,64%)		(52,34%)	
Hs B x Hs B	0,3403 a	-	32,85 a	-	32,85 a	-
B x C	0,3903 b	14,7	39,14 b	19,1	35,19 a	7,12
Probab (%)	(0,556%)		(0,001%)		(6,69%)	
Hs C x Hs C	0,4509 a	-	41,76 a	-	41,76 a	-
C x B	0,3651 b	-19,1	25,75 b	-38,3	29,32 b	-29,8
Probab (%)	(0,001%)		(0,001%)		(0,004%)	
Hs C x Hs C	0,3895 a	-	40,29 a	-	40,29 a	-
C x A	0,4544 b	16,7	45,59 b	13,2	42,55 a	5,61
Probab (%)	(0,004%)		(0,005%)		(16,81%)	

Médias com letras diferentes em relação ao híbrido parental (na faixa) diferem, a 5%, pelo Teste "t".

* Os dados entre parênteses indicam o nível efetivo de significância estatística da diferença em relação ao híbrido respectivo.

Hs A – P 30F90; Hs B – A 2555; Hs C – DKB 333B

TABELA 30. Análise de variância para peso de grão individual, peso de 100 grãos, considerando 100% do cruzamento com alopólen e também do peso de 100 grãos, considerando 50% de autopólen e 50% de alopólen dos híbridos e respectivos cruzamentos, Departamento de Biologia da UFLA, no ano de 2004/05. Lavras, MG.

FV	Quadrados médios			
	GL	P. grão individual (g)	P. 100 grãos 100% alopólen (g)	P. 100 grãos 50% autopólen e 50% alopólen (g)
Tratamentos	8	0,03333 **	712,31700 **	419,25283 **
Resíduo	179	0,001367	11,344423	16,285185
Média		0,394872	37,02	36,45
CV (%)		9,37	9,10	11,07
Contrastes de interesse				
Hs's \otimes vs cruzamentos	1	0,000889	116,821333 *	37,632000
Hs A x Hs A \otimes vs AB	1	0,002550	934,09200 **	627,46133 **
Hs A x Hs A \otimes vs AC	1	0,006654 **	293,90700 **	221,95200 **
Hs B x Hs B \otimes vs BA	1	0,000714	13,6013333	5,985333
Hs B x Hs B \otimes vs BC	1	0,031051 **	285,20833 **	70,840333 *
Hs C x Hs C \otimes vs CA	1	0,013457 **	149,18700 **	30,805333
Hs C x Hs C \otimes vs CB	1	0,017431 **	2310,8963 **	1440,7470 **

*, **: significativo a 5% e 1% pelo Teste F.

TABELA 31. Efeitos xênia estatisticamente significativos, verificados no peso de grãos individuais, nos cruzamentos envolvendo três híbridos simples comerciais de milho, sob duas formas de polinização. Lavras, MG, 2004/05.

Híbridos simples	Ambientes – safra 2004/05			
	Polinização livre “Vitorinha”		Polinização controlada Dept. de Biologia	
	Efeito xênia (%)			
Hs A	A x B	7,44		
	A x C	15,43	A x C	6,63
Hs B	B x A	8,34		
	B x C	16,45	B x C	14,69
Hs C	C x B	- 12,94	C x B	-19,10
	C x A	15,34	C x A	16,66

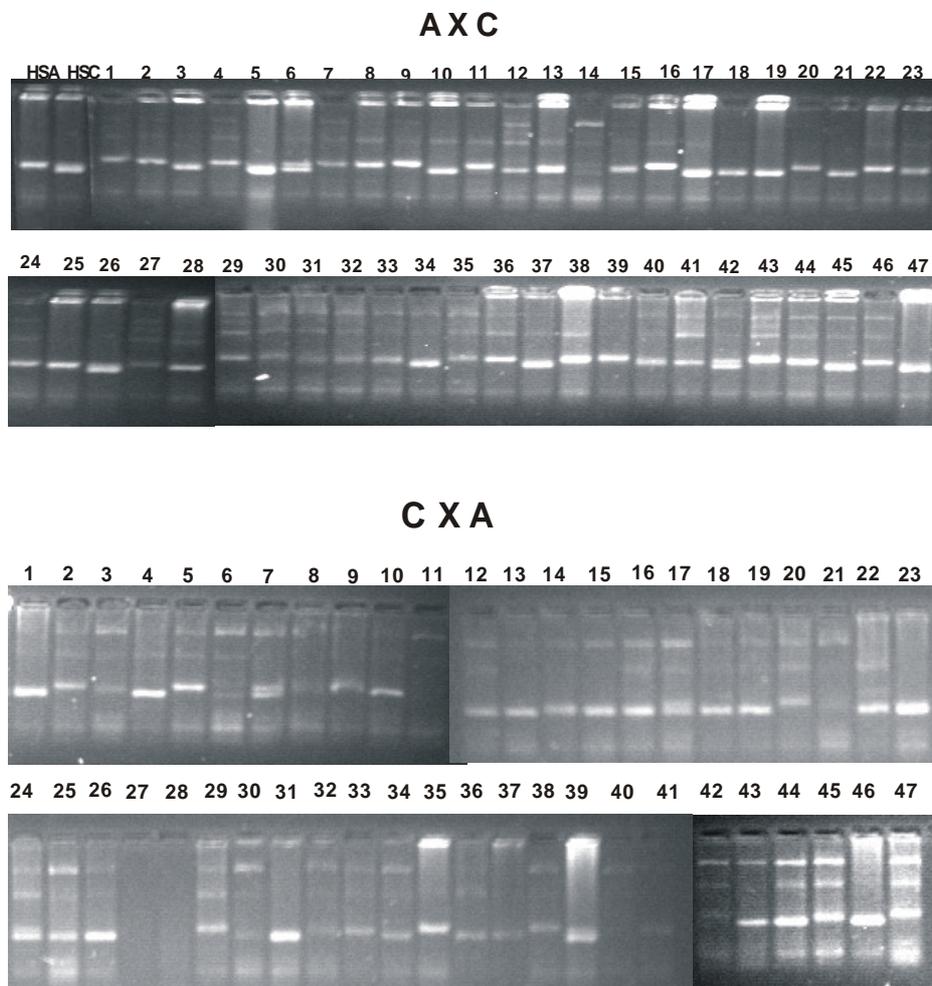


FIGURA 5. Exemplo de detecção de cruzamentos e autofecundações utilizando o primer de microssatélites UMC 1638. Experimento de polinização livre, cruzamento identificado como A x C, C x A. “Vitorinha”. Lavras, MG, safra de 2004/05.

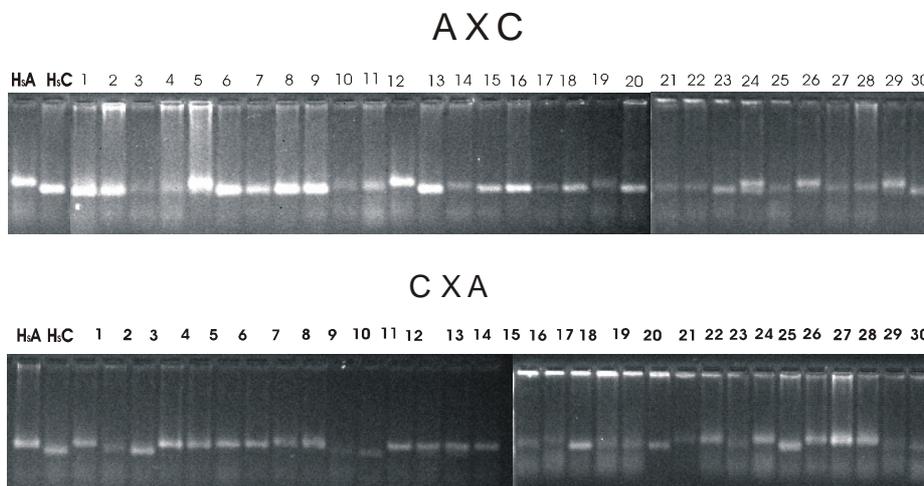


FIGURA 6. Exemplo de detecção de cruzamentos e autofecundações utilizando o *primer* de microssatélites UMC 1638. Experimento de polinização controlada, cruzamento identificado como A x C, C x A. Departamento de Biologia da UFLA. Lavras, MG, safra de 2004/05.

TABELA 32 Programa para amplificação de DNA, utilizado na cultura do milho (Ttouch 2).

PROGRAMA TOUTCH 2		
Passo	Temperatura (°C)	Tempo (min.)
1 ^o	94 °C	2 min.
2 ^o	94 °C	1 min.
3 ^o	65 °C → (-1°C/ciclo)	1 min.
4 ^o	72 °C	2 min.
5 ^o	94 °C	1 min.
6 ^o	65 °C → (-1°C/ciclo)	1 min.
7 ^o	72 °C	2 min.
8 ^o	Go to 2 ^o → 9 vezes	
9 ^o	94 °C	1 min.
10 ^o	55 °C	1 min.
11 ^o	72 °C	2 min.
12 ^o	Go to 9 ^o → 17 vezes	
13 ^o	72 °C	2 min.
14 ^o	15 °C	Forever
15 ^o	END	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, J. A. C.; PEREIRA, F. C. D. Uso do efeito xênia em híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 1, p. 65-78, jan./abr. 2005.

BULANT, C.; GALLAIS, A. Xenia effects in maize with normal endosperm: I. Importance and stability. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 6, p. 1517-1525, Nov./Dec. 1998.

CARDY, B. J.; KANNENBERG, L. W. Allozymic variability among maize inbred lines and hybrids: applications for cultivar identification. **Crop Science**, Madison, v. 22, n. 5, p. 1016-1020, Sept./Oct. 1982.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRPA/CENARGEN, 1998. 220 p.

LENG, E. R. Direct effect of pollen parent on kernel size in dent corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 41, n. 12, p. 555-558, Dec. 1949.

MAIZE GENETICS AND GENOMICS DATABASE. Disponível em: <<http://www.maizegdb.org>>. Acesso em: 25 set. 2006.

McDONALD JUNIOR, M. B. Validation of starch gel electrophoresis for corn seed purity determinations. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 45., 1990, Washington. **Proceedings...** Washington: American Seed Trade Association, 1990. p. 43-53.

MERCER, J. R. **Implicações do fenômeno Xênia nos programas de melhoramento de milho**. 2001. 53 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PONELEIT, C. G.; EGLI, D. B. Differences between reciprocal crosses of maize for kernel growth characteristics. **Crop Science**, Madison, v. 32, n. 5, p. 871-875, Sept./Oct. 1983.

SAS INSTITUTE. **SAS language and procedures: usage**. Version 8.1. Cary, NC: SAS: SAS Institute, 2000. 1CD-ROM.

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

SEKA, D.; CROSS, H. Z. Xenia and maternal effects on maize agronomic traits at three plant densities. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 86-90, Jan./Feb. 1995a.

SEKA, D.; CROSS, H. Z.; MCCLEAN, P. E. Maize kernel development In vitro: sucrose concentration, xenia, and maternal effects. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 74-79, Jan./Feb. 1995b.

SHAGHAI-MAROOF, M. A.; SOLIMAN, K. M.; JORGENSEN, R. A.; ALLARD, R. W. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. **Proceedings of the national Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 81, n. 24, p. 8014-8018, Dec. 1984.

SIBOV, S. T.; SOUZA JR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; SILVA, A. R.; GARCIA, A. F.; MANGOLIN, C. A.; BENCHIMOL, L. L.; SOUZA, A. P. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. **Hereditas**, Copenhagen, v. 139, n. 2, p. 107-115, 2003.

SMITH, J. S. C.; SMITH, O. S. The description and assessment of distances between inbred lines of maize: II. The utility of morphological, biochemical and genetic descriptors and scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. **Maydica**, Bergamo, v. 34, n. 2, p. 151-161, 1989.

SMITH, S.; WEISSINGER, H. Rapid monitoring of purity in seed lots of hybrid maize: modifications of current technologies. **Maize Genetics Cooperation News Letter**, Bloomington, v. 58, p. 103-105, 1984.

WEINGARTNER, U.; PREST, T. J.; CAMP, K. H.; STAMP, P. The plus-hybrid system a method to increase grain yield by combined cytoplasmic male sterility and xenia. **Maydica**, Bergamo, v. 47, n. 2, p. 127-134, 2002.

WRIGLEY, C. W.; BATEY, I. L. Efficient strategies for variety identification. In: WRIGLEY, C. W. (Ed.). **Identification of food-grain varieties**. St Paul MN: American Association Cereal Chemists, 1995. p. 19-33.



**EFEITO XÊNIA EM HÍBRIDOS COMERCIAIS
DE MILHO VISANDO AO AUMENTO DA
PRODUTIVIDADE**

REGINALDO ROBERTO LÜDERS

2006