

**ANÁLISE DIALÉLICA DE LINHAGENS DE
MILHO PARA CAROTENOIDES E
PRODUTIVIDADE DE GRÃOS**

CONSTANTINO TOMÁS SENETE

2010

CONSTANTINO TOMÁS SENETE

**ANÁLISE DIALÉLICA DE LINHAGENS DE MILHO PARA
CAROTENOIDES E PRODUTIVIDADE DE GRÃOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. João Cândido de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2010

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

Senete, Constantino Tomás.

Análise dialéctica de linhagens de milho para carotenóides e
produtividade de grãos / Constantino Tomás Senete. – Lavras :
UFLA, 2010.

88 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: João Cândido de Souza.

Bibliografia.

1. Biofortificação. 2. Provitamina A. 3. Capacidade geral de
combinação. 4. Capacidade específica de combinação. 5.
Carotenóides. 6. Produtividade. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD – 633.1523

CONSTANTINO TOMÁS SENETE

**ANÁLISE DIALÉLICA DE LINHAGENS DE MILHO PARA
CAROTENOIDES E PRODUTIVIDADE DE GRÃOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 5 de fevereiro de 2010

Prof. Dr. José Airton Rodrigues Nunes

UFLA

Dr. Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães

Embrapa/CNPMS

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

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

“O que faz a gente ser grande é
Não perder o futuro de vista, é
Chegar a um porto, fincar a bandeira
Da conquista e, neste mesmo
Instante,
Começar a buscar outros portos,
Criar
Desafios, calcular riscos,
Avançando sempre...”
(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Este trabalho devo, com gratidão, à referência sábia possibilitada pelo trabalho do Dr. Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães. A ele, a Dra Cristina Dias Paes e ao professor Dr. João Cândido de Souza, com quem partilhei este projeto na forma de pesquisa, meu sincero agradecimento.

A concepção teórica que busco esclarecer nesta dissertação partilho com colegas, professores e funcionários da Universidade Federal de Lavras e profissionais da EMBRAPA Milho e Sorgo, aos quais agradeço pelo companheirismo e disposição nas orientações técnico-científicas e sugestões que são demandadas nos trabalhos de pesquisa em melhoramento de plantas em geral e biofortificação do milho em especial.

Ao Instituto de Investigação Agrária de Moçambique (IIAM), por ter me concedido tempo para a formação.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade concedida.

Aos Ministérios da Ciência e Tecnologia da República de Moçambique e da República Federativa do Brasil (CNPq), pelo auxílio financeiro e pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Harvest Plus e à Embrapa pela disposição de fundos para a pesquisa.

À minha querida insubstituível companheira, amiga, mulher da minha vida, Florinda, pelo carinho, incentivo, pelos valiosos conselhos e, sobretudo, pela compreensão.

Aos meus filhos: Némesis, Edinélio e Gleidson, pelo grandiloquente carinho.

Aos meus familiares, pelo apoio, pela confiança e pelo incentivo e o faço através dos meus pais, Carolina e Tomás, acreditando, assim, que não estarei cometendo injustiça ao omitir nomes.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e valiosas sugestões apresentadas para a melhoria do presente trabalho.

Aos colegas do GEN, pela possibilidade de aprendermos juntos, em especial aos amigos Juliana, Ludmila, Fernando Guedes, Fernando Toledo, Guilherme, Gheysa, Isabela, Paulo, Dennys, Lidiane, Pedro e Emiliano.

Aos grandes amigos “irmãos”, Stélio, Mário, Suluza, Nair, Sadjo, Djony, Ermelinda, Alexandrio, Adolfo, Ismael, Elaine Leite e Quele pela amizade cultivada, confiança e prazerosa convivência.

Aos professores César, Elaine, Flávia, João Bosco, Magno, José Airton Renzo, Samuel e Wagner, pelos ensinamentos.

Aos funcionários da Embrapa, em particular ao Carlos Henrique, pelo auxílio na condução dos experimentos e pelo companheirismo.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Elaine e Heloísa, pela amizade e ajuda em todos os momentos.

Enfim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, estiveram envolvidos na realização deste trabalho, meu SINCERO AGRADECIMENTO!!!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Deficiência da vitamina A no mundo.....	4
2.2 Biofortificação da vitamina A no milho.....	6
2.3 Carotenoides.....	7
2.3.1 Biossíntese de carotenóides.....	10
2.4 Variabilidade de carotenoides em grãos de milho.....	12
2.5 Valor genotípico em diferentes ambientes.....	14
2.6 Cruzamentos dialélicos.....	17
2.7 Seleção assistida por marcadores e desenvolvimento de transgênicos...	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1 Material genético.....	24
3.2 Delineamento experimental.....	25
3.3 Ambientes usados para conduzir experimentos.....	25
3.4 Dados coletados.....	26
3.5 Análises de carotenóides.....	27
3.6. Análise estatística dos dados.....	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 Total de carotenoides com atividade provitamina A.....	36
4.2 Carotenoides com atividade provitamina A.....	44
4.3 Carotenoides totais, luteína e zeaxantina.....	55
4.4 Produtividade de grãos.....	66
4.5 Potencial genético para o melhoramento.....	77
5 CONCLUSÕES.....	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

RESUMO

SENETE, Constantino Tomás. **Análise dialéctica de linhagens de milho para carotenóides e produtividade de grãos**. 2010. 88 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras¹.

O presente trabalho foi realizado com objetivo de estimar parâmetros genéticos úteis na seleção de genitores superiores para desenvolvimento de híbridos produtivos com maiores teores de carotenóides provitamina A em grãos de milho. Para tal, foram utilizados sete genitores em um dialelo completo avaliado em dois ambientes no Brasil, ano agrícola 2007/08. A análise de carotenóides foi realizada por cromatografia líquida de alta precisão. Em todos os carotenóides, os efeitos aditivos foram mais importantes no controle dos caracteres. Mas, para a produtividade de grãos, tanto os efeitos aditivos como os não aditivos foram simultaneamente importantes. Os genitores 521236, I31113-01-1-4-1, 521550 e L57500.07 apresentaram maior concentração de alelos favoráveis na maioria dos caracteres avaliados. O híbrido 521236/262811-8-2 apresentou melhor desempenho para produtividade de grãos e estabilidade favorável aos ambientes de avaliação. O híbrido 521236/I1113-01-1-4-1 combina boa produtividade de grãos e altos teores de provitamina A.

¹ Comitê orientador: João Cândido de Souza – UFLA (orientador), Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães – Embrapa/CNPMS e Maria Cristina Dias Paes – Embrapa/CNPMS

ABSTRACT

SENETE, Constantino Tomás. **Diallel analysis of maize inbred lines for carotenoids and grain yield**. 2010. 88 p. Dissertation (Masters Science in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras, MG².

The objective of this study was to estimate the genetic parameters useful in selecting parents for developing productive hybrids with higher levels of provitamin A in maize kernel. To achieve this objective, seven parents were used in a complete diallel and evaluated in two different Brazilian environments in 2007/08 season. The analysis of carotenoids was performed by high precision liquid chromatography. For all carotenoids additive effects were more important than non additive effects. But to grain yield both additive and non additive effect were important. The following inbred lines 521236, I31113-01-1-4-1, 521550 and L57500.07 presented higher concentration of favorable alleles for most of the traits. The hybrid 521236/262811-8-2 had good performance for grain yield and good stability. The hybrid 521236/I1113-01-1-4-1 combines high grain yield and high levels of provitamin A.

² Guidance committee: João Cândido de Souza – UFLA (Advisor), Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães – Embrapa/CNPMS and Maria Cristina Dias Paes – Embrapa/CNPMS

1 INTRODUÇÃO

Aproximadamente um terço das crianças em idade pré-escolar no mundo têm deficiência de vitamina A, e cerca de 1% delas pode adquirir cegueira noturna (World Health Organization - WHO, 2009; West, 2002).

Dos países membros da Organização Mundial da Saúde (OMS), os países africanos e os do sudeste asiático apresentam taxas mais elevadas de deficiência de vitamina A e xeroftalmia³ em crianças com idade inferior a cinco anos; 15% das mulheres grávidas são deficientes em vitamina A e 8% têm cegueira noturna (WHO, 2009; Harvestplus, 2008; West, 2002).

Até a segunda metade da década de 80 do século XX, a deficiência de vitamina A causava preocupação apenas em relação aos sinais clínicos, que vão desde cegueira noturna até cegueira nutricional irreversível. Mas, na segunda metade daquela mesma década, surgiram evidências de que a carência subclínica da vitamina A sem sinais, como é o caso da xeroftalmia (cegueira progressiva), a morbidade⁴ e a mortalidade em crianças recém-nascidas, mulheres em idade fértil, gestantes e lactantes constituíam problemas de saúde pública. Nos dias atuais, sabe-se que, em função da sua atuação nos olhos, a deficiência da vitamina A pode provocar quadro de imunodeficiência de origem exclusivamente nutricional (Harjes et al., 2008; Ramalho et al., 2002).

³ É uma doença causada pela falta de vitamina A. É caracterizada pela degeneração da conjuntiva e das córneas que se apresentam secas, enrugadas e atrofiadas. Ocorre quando as glândulas ópticas, obstruídas, deixam de produzir a secreção lagrimal, que é responsável pela lubrificação do globo ocular.

⁴ Conjunto de casos de uma dada doença ou a soma de agravos à saúde que atingem um grupo de indivíduos, em um dado intervalo de tempo e lugar específico.

Entre as várias causas de deficiência de vitamina A, podem-se destacar como principais a falta de amamentação ou o desmame precoce⁵ e o consumo insuficiente de alimentos ricos em vitamina A e de alimentos que contenham gorduras⁶ (Saúde, 2009; Nascimento et al., 2007).

WHO (2009) descreve três tipos de intervenção que podem ser utilizadas nas comunidades para reduzir a deficiência de vitamina A: (1) melhorar a disponibilidade de vitamina A por meio de uma dieta diversificada, (2) incrementar a entrada de vitamina A na dieta por meio de biofortificação de alimentos básicos e (3) suplementação em doses de vacinas.

Nesse sentido, considerando a segunda abordagem da OMS, o milho (*Zea mays* L.) é a principal cultura de subsistência e base de alimentação em muitas regiões do mundo. Na África Austral, por exemplo, tornou-se o mais importante alimento básico, fornecendo mais de 50% da energia na dieta local (WHO, 2003).

Na África, o milho poderia ser uma boa fonte de vitamina A porque o consumo *per capita* é alto. Contudo, cerca de 90% do milho que circula no continente é branco (WHO, 2003) e está desprovido de precursores de vitamina A.

Harjes et al. (2008) relatam que a maior parte do milho amarelo que circula no mundo tem de 0,5 a 1,5 µg/g de β-caroteno. A utilização de variedades que contenham elevados teores de provitamina A pode melhorar o estado nutricional de milhões de consumidores de milho nessas regiões, tendo em conta que o milho é consumido por todos os membros da família, desde as

⁵ O leite materno é rico em vitamina A.

⁶ Uma das funções das gorduras é permitir a absorção de algumas vitaminas lipossolúveis: A, D, E e K.

crianças e as mulheres em diferentes estágios de crescimento, que constituem o grupo vulnerável à deficiência de vitamina A.

Pesquisas sobre a qualidade nutricional do milho não são uma abordagem nova para solucionar o problema da má nutrição em humanos. Relatos de pesquisas sobre a nutrição de milho começaram com os trabalhos sobre a sua qualidade proteica nos anos 1960, direcionados para melhorar a nutrição em proteínas (Long et al., 2004). Mais tarde, seguiram-se os trabalhos de melhoramento para o desenvolvimento de cultivares de alta concentração de micronutrientes (biofortificação), tais como ferro, zinco e provitamina A.

O β -caroteno, a β -criptoxantina e o α -caroteno são os principais carotenoides precursores da vitamina A. Os fenótipos amarelo e laranja do endosperma do milho têm sido alvo de estudo desde o início do século XX, quando a vantagem nutricional desses carotenoides foi reconhecida.

Diante do exposto, foi realizado o presente trabalho, com o objetivo de estimar parâmetros genéticos úteis na seleção de genitores superiores para desenvolvimento de híbridos produtivos com maiores teores de carotenoides provitamina A em grãos de milho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Deficiência da vitamina A no mundo

Vitamina A é um nutriente essencial, necessário para o funcionamento normal do sistema visual, a manutenção do funcionamento da célula para o crescimento, a produção de glóbulos vermelhos, a imunidade e a reprodução. Contudo, estatísticas globais mostram deficiência desta vitamina em humanos (WHO, 2009), considerada uma das mais importantes e um problema de saúde pública, segundo a OMS (WHO, 2009; Milagres et al., 2007).

De acordo com os dados da Tabela 1, a prevalência da deficiência de vitamina A ocorre nos países do sudeste asiático e da África.

Estatísticas globais de consumo de cereais feitas pela OMS apontam para 291,7 g/pessoa/dia no continente africano, sendo que, deste total, 106,2 g/pessoa/dia seria exclusivamente de milho. Este consumo médio *per capita* do milho na África é mais do que o dobro do que é calculado para qualquer uma das quatro regiões: Europa (8,8 g/pessoa/dia), Extremo Oriente (31,2 g/pessoa/dia), América Latina (40,3 g/pessoa/dia) e Oriente Médio (31,8 g/pessoa/dia) (WHO, 2003). Contudo, a maioria do milho produzido e consumido no continente africano é branco, desprovido de pigmentos carotenoides que são fontes de provitamina A.

Os povos africanos não consomem o milho amarelo/laranja por causa de estigma social. Tudo está relacionado, por um lado, ao fato de este milho ser, em grande parte, importado, para ajudar populações em momentos de calamidades. Assim, é considerado homem pobre aquele que o consome. Por outro lado, talvez a mais determinante causa desse estigma, seria o fato de o milho amarelo/laranja facilmente sofrer alterações químicas, piorando propriedades

organolépticas se mal condicionado durante o processo de importação (Stevens & Winter-Nelson, 2008; Muzhingi et al., 2008).

TABELA 1 Porcentagem da prevalência global e número de crianças menores de cinco anos afetadas pela deficiência da vitamina A e xeroftalmia.

Região	População < 5 anos (x1000)	Deficiência em vitamina A		Xeroftalmia	
		Número	%	Número	%
África	103.934	33.406	32,1	1.593	1,53
Américas Leste	47.575	8.218	17,3	75	0,16
Mediterrâneo Sudeste	59.818	12.664	21,2	510	0,85
Asiático	169.009	55.812	33,0	2.026	1,20
Pacífico Oeste	122.006	17.128	14,0	220	0,18
Total	502.494	127.273	25,3	4.424	0,88

Fonte: Harvestplus, 2008.

Vários estudos foram realizados para medir o nível de aceitação do milho amarelo/laranja na África e o resultado foi similar em diferentes partes do continente (Stevens & Winter-Nelson, 2008; Muzhingi et al., 2008; Khumalo, 2007). Um dos estudos realizados em dois mercados da cidade de Maputo-Moçambique mostra que existe uma tendência de mudança desse hábito e que 70% das pessoas inquiridas, que têm na família crianças com idade de até três anos, aceitariam este milho. Por esse motivo, os Serviços de Saúde Materno-

Infantil naquele país do sudeste africano, durante as consultas pré-natais, incluem o milho amarelo/laranja no kit de informações para a nutrição, tanto das mães durante a gravidez quanto nas dos recém-nascidos, assim que estes começam a se alimentar de outros alimentos além do leite materno (Stevens & Winter-Nelson, 2008).

Outro estudo de aceitação de milho amarelo, feito no Zimbábue, indicou que os consumidores de milho zimbabuanos acham o milho amarelo/laranja inferior em relação ao branco. Contudo, o acesso à educação nutricional pode potencialmente alterar as percepções dos consumidores, promovendo, assim, o consumo desse produto (Muzhingi et al., 2008).

Nos outros continentes, a situação é relativamente diferente porque a cultura de consumir milho amarelo/laranja está estabelecida, contudo, têm baixo consumo *per capita*.

2.2 Biofortificação da vitamina A no milho

A biofortificação representa uma alternativa para aumentar o consumo de nutrientes essenciais em uma dieta baseada em culturas bases (arroz, milho, trigo, feijão, mandioca e batata-doce). Trata-se do enriquecimento dos teores de micronutrientes em culturas alimentares básicas usando práticas de melhoramento clássico, assim como as modernas ferramentas biotecnológicas.

A abordagem biofortificação apresenta inúmeras vantagens, tais como: (1) capitalizar a dieta diária das famílias que têm, num determinado alimento, a base da sua alimentação; (2) com apenas um investimento, podem-se desenvolver sementes que vão produzir comida para fortalecer a população a custos correntes baixos e esse germoplasma pode ser compartilhado com outros países; (3) uma vez estabelecida, é altamente sustentável porque as variedades

melhoradas vão continuar a ser cultivadas, consumidas ano após ano sem, necessariamente, precisar de ajuda financeira externa e (4) proporcionar um meio viável de alcançar populações subnutridas nas regiões mais remotas que têm acesso limitado aos alimentos facilmente disponíveis nas regiões urbanas (Stevens & Winter-Nelson, 2008; Nestel et al., 2006).

A biofortificação pode ser parte complementar das soluções dos desafios multifatoriais da saúde, nutrição e agricultura, no contexto da pobreza.

Nos países em desenvolvimento, a biofortificação requer um aumento em investimento público para pesquisas na agricultura e infraestrutura para garantir seu sucesso, o que também está relacionado com o desafio de fazer com que consumidores e produtores aceitem as novas variedades biofortificadas e, assim, aumentem o consumo dos nutrientes alvos.

2.3 Carotenóides

Carotenoides são um grande grupo de pigmentos solúveis em gorduras, que dão as cores vermelha, laranja e amarela aos alimentos. Existem em bactérias e plantas que dependem do sol para produzir energia (Buckener et al., 1990). Em geral, quanto maior a intensidade da cor, maior quantidade de carotenoides tem o alimento (Harjes et al., 2008).

Os carotenoides são divididos em carotenos, compostos constituídos por carbono e hidrogênio, e seus derivados oxigenados, as xantofilas. Mais de seiscentos carotenoides já foram identificados e os mais abundantes na dieta são: α -caroteno, β -caroteno, γ -caroteno, licopeno, luteína, β -criptoxantina, zeaxantina e astaxantina. A estrutura química de cada um deles determina a sua função biológica. Nos humanos, todos exercem uma função antioxidante, porém, apenas

alguns são convertidos pelo organismo em retinol, uma forma ativa da vitamina A.

Entre mais de seiscentos carotenoides, os que têm atividade de provitamina A mais conhecida são o α -caroteno e o β -caroteno. Outros têm atividade antioxidante, como a luteína, o licopeno e a zeaxantina (Li et al., 2007).

Vários carotenoides têm atividade provitamina A devido à presença da estrutura da vitamina A na sua estrutura geral (Figura 1). A vitamina A é liberada depois da digestão da provitamina A (Wong et al., 2004).

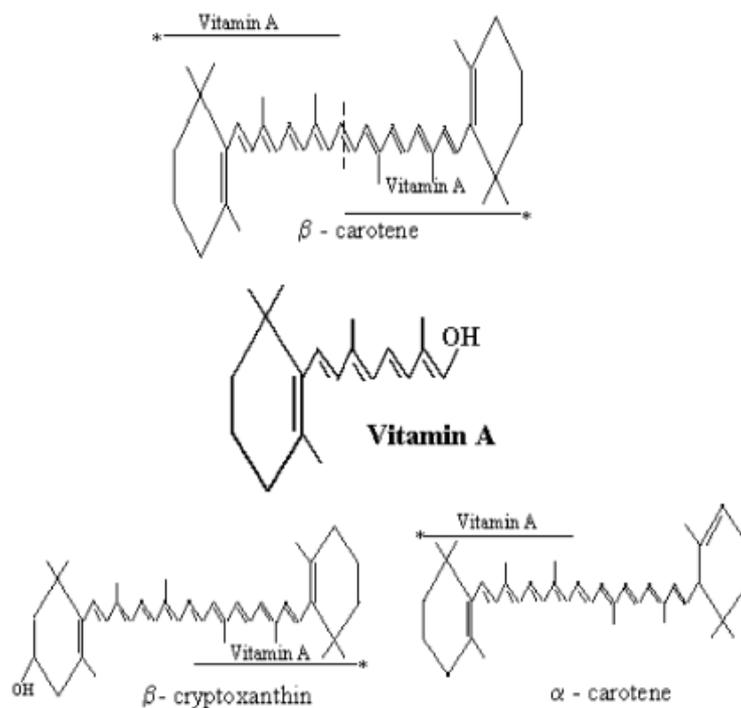


FIGURA 1 Estrutura química da vitamina A e carotenoides com atividade provitamina A: β -caroteno, β -criptoxantina e α -caroteno (Wong et al., 2004).

Existem inúmeros trabalhos científicos sobre as ações dos carotenoides no organismo, os quais têm muitas funções biológicas, além das associadas à função antioxidante (Li et al., 2007; Wong et al., 2004).

Vários estudos sugerem que uma dieta rica em carotenoides pode oferecer proteção contra certos tipos de câncer (pulmão, pele, útero, colo de útero, trato gastrointestinal), degeneração macular (a maior causa de cegueira), catarata e várias doenças ligadas à ação dos radicais livres (Saúde, 2009).

2.3.1 Biossíntese de carotenoides

Na literatura, são encontrados vários modelos simplificados para esquematizar a biossíntese de carotenoides em plantas superiores (Harjes et al., 2008; Li et al., 2007; Howitt & Pogson, 2006; Wong et al., 2003; Shewmaker et al., 1999; Maluf et al., 1997). Um esquema simplificado de biossíntese de carotenoides, segundo Wong et al. (2003), é mostrado na Figura 2.

O primeiro passo na rota da biossíntese de carotenoides é a condensação de duas moléculas de geranyl geranyl pirofosfato (GGPP) para a formação de carotenoide incolor, fitoeno, que não é comumente acumulado em tecidos. Esta reação é catalisada pela enzima fitoeno sintase (PSY). Em plantas, quatro reações de dessaturação catalisam o fitoeno incolor para a formação do primeiro carotenoide colorido, o licopeno. Estas reações de dessaturação são catalisadas por duas enzimas: fitoeno desaturase sintase (PDS) e ζ -caroteno desaturase (ZDS). A produção de todos os isômeros trans do licopeno, que são o substrato preferido para ciclases, requer também carotenoides isomerasas (CRTISO) (Howitt & Pogson, 2006; Wong et al., 2003).

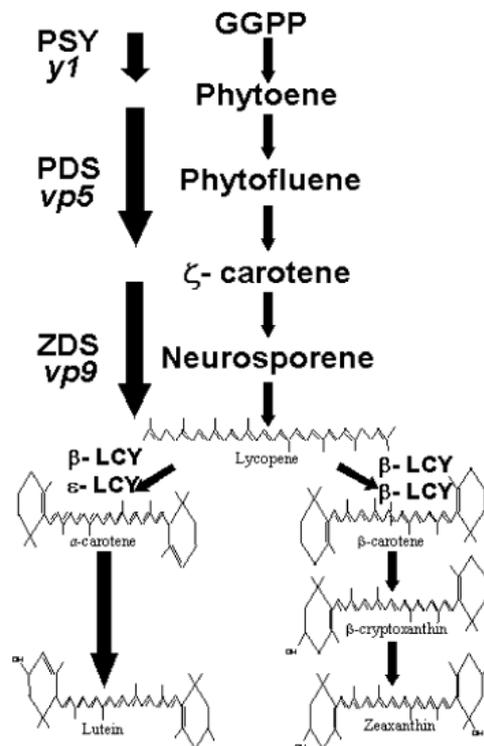


FIGURA 2 Rota simplificada de biosíntese de carotenoides em plantas superiores (Wong et al., 2003). Compostos: GGPP, geranyl-geranyl pirofosfato sintase; ABA, ácido abscísico. Enzimas: PSY, fitoeno sintase; PDS, fitoeno desaturase; Z-ISO, 15-*cis* zetacaroteno isomerase; ZDS, zetacaroteno desaturase; CRISTO, caroteno isomerase; HYD, caroteno hydroxylase enzymes, que inclui ϵ - and β -ring hydroxylases. As enzimas PSY, PDS e ZDS estão associadas com mutantes do milho amarelo (y1), vivaporous 5 (vp5) e vivaporous 9 (vp9). β -LCY é o licopeno beta ciclase e ϵ -LCY é o licopeno épsilon cyclase.

A ciclização do licopeno constitui o ponto de ramificação da rota para a formação de alfa e beta carotenos. O ramo β,β (β -LCY, β -LCY) deriva o β -caroteno e o ramo β,ϵ ; (β -LCY, ϵ -LCY) deriva o α -caroteno. A licopeno β -ciclase catalisa a formação do β -caroteno por meio da introdução de anéis β no final do licopeno. No ramo β,ϵ ; duas enzimas, licopeno β -ciclase e licopeno ϵ -ciclase, convertem o licopeno em α -caroteno (Howitt & Pogson, 2006; Wong et al., 2003).

O β -caroteno e o α -caroteno são modificações superiores para produzir xantofilas que são enzimaticamente formadas por oxidação de produtos. A ação de duas enzimas no ramo β,ϵ resultam na formação de luteína e 3,3'-dihydroxy- α -caroteno. No braço β,β ; β -OH age em dois passos para produzir β -criptoxantina e, depois, a zeaxantina. A luteína é o ponto final do ramo β,ϵ (Howitt & Pogson, 2006) e o ácido abcíssico é ponto final do ramo β,β .

2.4 Variabilidade genética de carotenoides em grãos de milho

O milho apresenta variação de carotenóides no grão, com algumas poucas linhagens acumulando cerca de 66 $\mu\text{g/g}$ de carotenoides totais (Harjes et al., 2008). Num trabalho visando caracterizar e avaliar a variabilidade quanto ao teor e o perfil de carotenoides nos grãos de 134 genótipos de milho, foi encontrada variação de teores de carotenoides totais, carotenos, β -criptoxantina, luteína e zeaxantina (Cardoso et al., 2009). Isso mostra o potencial existente para o melhoramento nesta cultura, para estes constituintes.

Os carotenoides predominantes no grão de milho são, em ordem decrescente: luteína, zeaxantina, β -caroteno, β -criptoxantina e α -caroteno. O valor máximo de β -caroteno observado para linhagens foi de 13,6 $\mu\text{g/g}$.

Contudo, geralmente, o grão amarelo consumido por todas as partes do mundo tem de 0,5 a 1,5 µg/g (Harjes et al., 2008).

Robertson & Anderson (1961), citados por Buckener et al. (1990), relatam que no produto do gene no loco *y1* em milho está também envolvida a biossíntese do β-caroteno. O alelo *Y1* (dominante) condiciona β-caroteno no endosperma. No endosperma com alelos *y1* recessivos e homozigotos, os grãos são brancos.

Ford (2000) evidenciou que três das quatro cores de grão de milho, amarela, vermelha e púrpura, são produzidas por pigmentos sintetizados por um dos dois caminhos metabólicos, os carotenoides (pigmentos amarelos) ou a antocianina (pigmentos vermelhos e púrpuros). A cor branca resulta da fraca síntese desses pigmentos. A síntese de cada um dos pigmentos requer certo número de genes. A cor amarela do endosperma é controlada pelo gene *Y1*, sendo alelo *Y1* (dominante) responsável pela cor amarela e *y1* (recessiva) pela cor branca. O endosperma e o embrião têm diferenças na sua composição genética: o embrião é diploide e o endosperma, triploide. Essa diferença resulta da fusão de dois núcleos polares no saco embrionário e um núcleo espermático do pólen para a formação do endosperma. Contudo, o endosperma tem dois alelos dominantes ou recessivos, o que contribui com um ou dois genótipos, como ilustrado na Tabela 2. Esta desigualdade resulta em diferenças fenotípicas.

TABELA 2 Fenótipo e contribuição dos genitores no endosperma do milho.

<i>Fenótipo</i>	Genótipo do endosperma	Contribuição materna	Contribuição paterna
Amarelo intenso	Y1Y1Y1	Y1Y1	Y1
Amarelo	Y1Y1y1	Y1Y1	y1
Amarelo-claro	y1y1Y1	y1y1	Y1
Branco	y1y1y1	y1y1	y1

Fonte: Ford, 2000.

Vários estudos têm mostrado que o pólen afeta o nível de carotenoides de sementes de F₂ dos cruzamentos recíprocos. Um dos estudos, realizados por Egesel (2001), citado por Egesel et al. (2003), revela que a concentração de carotenoides em F₂ de híbridos amarelos e laranjas está mais próxima dos parentais femininos. Este efeito resulta, provavelmente, da presença de dois alelos maternos no endosperma do milho contra um do pólen.

2.5 Valor genotípico em diferentes ambientes

O valor genotípico é uma medida de desempenho médio do genótipo em uma população referencial num determinado ambiente ou conjunto de ambientes. Ou seja, é o valor fenotípico médio de um determinado genótipo.

Os fatores ambientais têm grande efeito sobre os caracteres quantitativos. Vários genótipos devem ser avaliados em muitos ambientes, antes de serem liberados aos produtores.

A alteração no desempenho relativo dos genótipos devido a diferenças de ambientes denomina-se interação genótipos por ambientes (Borém & Miranda, 2009; Cruz, 2006a; Bernardo, 2002; Chaves, 2001).

A duração da avaliação do desempenho depende da magnitude da interação genótipos por ambientes que ocorre quando os genótipos diferem no desempenho relativo ao longo dos ambientes (Bernardo, 2002).

A interação genótipos por ambientes é um fenômeno biológico e natural que deve ser conhecido e melhor aproveitado para seleção. É importante ressaltar que a variação fenotípica devido às alterações do ambiente é comumente adaptativa. Havendo variabilidade no valor adaptativo dos indivíduos, serão beneficiados, em cada condição ambiental particular, aqueles indivíduos mais adaptados, mesmo que desviem do valor adaptativo médio. Esta adaptação específica a determinados ambientes é a causa evolutiva básica da interação genótipos por ambientes que se manifesta sobre qualquer caráter métrico (Ramalho et al., 2008; Chaves, 2001).

Bernardo (2002) descreve quatro modelos de desempenho dos genótipos em ambientes, considerando um padrão simples de dois ambientes e dois genótipos:

. **primeiro modelo:** um determinado genótipo tem um desempenho superior ao de outro em todos os ambientes de forma constante. Neste caso, não existe nenhuma interação genótipos por ambientes porque a diferença do desempenho deve-se somente ao efeito do ambiente;

. **segundo modelo:** um determinado genótipo tem um desempenho superior em todos os ambientes, mas essa diferença não é constante;

. **terceiro modelo:** representa uma interação em que o melhor genótipo difere entre os ambientes. O desempenho dos genótipos varia, mas a diferença absoluta mantém-se constante;

. **quarto modelo:** este modelo também representa uma interação, mas, ao contrário do terceiro modelo, as diferenças absolutas entre o desempenho de dois genótipos mudam entre os ambientes.

Na literatura, são encontrados, comumente, os mesmos modelos, simplificados em três pela fusão do terceiro e do quarto na descrição de Bernardo (2002), classificando-os em ausência de interação, interação simples ou quantitativa e interação complexa, cruzada ou qualitativa (Borém & Miranda, 2009; Ramalho et al., 2008; Chaves, 2001).

A resposta fenotípica de cada genótipo às variações de ambiente é, em geral, diferente e reduz a correlação entre o fenótipo e o genótipo. Ao se iniciar um programa de melhoramento, é preciso definir logo se o objetivo é desenvolver cultivares produtivas com amplo espectro de ambientes ou uma cultivar adaptada a ambientes específicos. Isso porque, no primeiro caso, deve-se preferir situações de pequena interação e, no segundo, situações de grande interação genótipos por ambientes (Borém & Miranda, 2009).

As variações que ocorrem entre os ambientes podem ser agrupadas em categorias dos fatores previsíveis e em categoria dos fatores não previsíveis. Quando se trata de caracteres métricos de importância para o melhoramento, deve haver uma multiplicidade de fatores atuando nos mais diferentes níveis, desde a regulação gênica até a manifestação final (Borém & Miranda, 2009; Chaves, 2001).

Quando se dispõe de valores fenotípicos observados de vários genótipos avaliados em diversos ambientes, há necessidade de se aplicar modelos estatísticos apropriados para o tratamento da interação porque a avaliação experimental inclui no valor observado variações de natureza não controlada, o que impossibilita uma comparação aritmética dos dados (Chaves, 2001).

Quando variedades, híbridos, linhagens ou clones são avaliados na fase final de um programa de melhoramento, cada genótipo constitui uma entidade bem definida que se pretende testar. Daí que a consideração de que os efeitos de cultivares sejam fixos não traz qualquer tipo de controvérsia, uma vez que, nesta fase do programa, as propriedades genéticas da população estão bem definidas e a cultivar pode ser reproduzida segundo o seu modo de propagação. Com relação aos ambientes, a situação não está tão bem definida porque os fatores ambientais podem ser previsíveis ou não (Chaves, 2001).

A maioria dos métodos de avaliação da resposta diferencial dos genótipos à variação das condições de ambiente utiliza técnicas de regressão medindo a variação de qualquer caráter quantitativo em relação a um índice ambiental. A diferenciação entre métodos se dá pelo modelo de regressão utilizado e pela forma de interpretação dos parâmetros do modelo (Cruz & Carneiro, 2006; Chaves, 2001).

2.6 Cruzamentos dialélicos

O termo dialélico é utilizado para expressar um conjunto de $n(n-1)/2$ híbridos, resultante de cruzamentos de n genitores, dois a dois (linhagens, variedades, clones, entre outros). Essa metodologia de análise dialélica tem por finalidade analisar o delineamento definido e prover estimativas de parâmetros genéticos úteis na seleção de genitores para hibridação e no entendimento da natureza e magnitude dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres (Cruz, 2006a; Miranda Filho & Gorgulho, 2001).

Os cruzamentos dialélicos podem ser completos ou de meia tabela, parciais, circulantes, incompletos.

Os dialelos completos envolvem apenas um grupo de genitores. Incluem todos os híbridos F_1 , podendo ser incluídos os genitores, seus híbridos recíprocos e, algumas vezes, outras gerações relacionadas, como F_2 e retrocruzamentos.

Os dialelos parciais envolvem dois grupos de genitores e seus respectivos cruzamentos e adaptações do modelo de Griffing (1956) e de Gardner e Eberhart (1966), para este tipo de dialelo, têm possibilitado maximizar as informações sobre grupos estudados com um número menor de cruzamentos do que os requeridos no dialelo completo (Cruz et al., 2004). Este esquema também pode ser aplicado quando se tem um conjunto de linhagens em cruzamentos com testadores. Quando não são incluídos os pais, a análise se reduz à capacidade de combinação das linhagens ou genótipos de cada um dos grupos, independentemente. Este esquema foi denominado de dialelo parcial ST, por incluir dois conjuntos tomados aleatoriamente na mesma população base. Essencialmente, esse dialelo equivale a um esquema fatorial (Miranda Filho & Gorgulho, 2001; Venkovsky & Barriga, 1992). A análise da variância pode ser utilizada para testar os efeitos do modelo fixo, utilizando-se os testes de hipóteses, ou para estimar os componentes da variância, quando os dois conjuntos de linhagens ou genótipos constituírem amostras aleatórias das respectivas populações de referência. Embora com dialelo parcial seja possível incluir um maior número de genitores em relação ao dialelo completo, o problema de amostragem também existe quando se trata de estimação de componentes de variância (Miranda Filho & Gorgulho, 2001).

Os dialelos circulantes permitem obter informações sobre os genitores com um número menor de cruzamentos, entretanto, há perda de informações a respeito de certas combinações híbridas, que ficam ausentes. Uma parte dos cruzamentos é utilizada, permitindo a participação de maior número de

genitores. Utiliza-se um sistema de amostragem dos genitores, de modo que todos participam em combinações híbridas. Para um conjunto de n linhagens, são realizados $1/2ns$ cruzamentos, sendo s o número de cruzamentos em que participa cada linhagem e $S \geq 2$. O conjunto de linhagens ou genótipos deve ser aleatório, pois, caso contrário, as s linhagens que servem de testadoras de uma linhagem qualquer podem ser muito diferentes das s linhagens que servem de testadoras de outra linhagem. Além disso, com a amostra aleatória, pressupõe-se que qualquer linhagem estaria sendo testada com uma amostra aleatória de s linhagem da população. O sistema de amostragem dos cruzamentos pressupõe o cálculo de uma constante $k=1/2(n + 1-s)$ (Miranda Filho & Gorgulho, 2001).

Os dialelos incompletos são aqueles em que os genitores são representados por um número variável de cruzamentos. Geralmente, ocorrem devido a perdas de tratamentos durante a condução do ensaio ou por problemas diversos. Os dialelos desbalanceados apresentam todas as combinações híbridas e também as demais gerações como genitores e recíprocos, porém, em frequência variável, devido a um número desigual de repetições por tratamento (Cruz et al., 2004).

A maior parte dos programas de desenvolvimento de cultivares híbridas baseia-se na hibridação das cultivares e linhagens e, diante de um número bastante alto de germoplasma, surge um problema: a escolha de genitores para a formação dos híbridos superiores. Nos caracteres de baixa herdabilidade, como é o caso da produção de grãos, o desempenho *per se* das linhagens não pode ser utilizado para prever o desempenho dos híbridos que essas linhagens podem formar, uma vez que a correlação entre as linhagens e os híbridos tem pouco valor preditivo. Desse modo, as linhagens são selecionadas para a capacidade de combinação. Assim, espera-se que linhagens com maiores estimativas de

capacidade de combinação resultem em cruzamentos com desempenho superior (Souza Júnior, 2001).

Chaves (2001), citando Sprague & Tatum (1942) utilizou o esquema de dialelo para definir a capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC), em que o termo CGC refere-se ao comportamento médio de cada linhagem em cruzamento com as demais do conjunto e CEC é interpretada como o efeito na expressão do híbrido.

Os efeitos da capacidade de combinação de um conjunto de genitores são, em geral, estimados pelo método de Griffing (1956); o potencial de variedades *per se* e em combinações híbridas obtidos por meio de estimativas de efeitos varietais e da heterose manifestada no híbrido são estimados pelo método de Gardner e Eberhart (1966); os efeitos gênicos, como grau médio da dominância, número de genes, limites de seleção, entre outros, pelo método de Hayman (1954); o potencial de variedades *per se*, bem como a quantificação da influência de efeito recíproco no comportamento dos híbridos, é avaliada pelo método de Cocherhan e Weir (1977) (Cruz, 2006b).

Dentre os diversos modelos de análise de cruzamentos dialélicos e suas variações apresentados anteriormente, somente alguns são apropriados para a utilização nos esquemas de melhoramento (Miranda Filho & Gorgulho, 2001).

Os dialelos podem ser utilizados em todos os delineamentos experimentais (Halauer & Miranda Filho, 1988). Dependendo dos genitores utilizados, pode-se considerar modelo aleatório ou fixo (Griffing, 1956). No modelo aleatório, os tratamentos avaliados constituem uma amostra aleatória de uma população de referência; assim, as inferências sobre a amostra estudada são extrapoladas para a população. Mais ênfase é dada à estimação de parâmetros como variância, covariância, correlação, entre outros do que testes de hipóteses, como, por exemplo, teste F. Sob o modelo fixo, a ênfase é em estimar os efeitos

(componentes de média) e na sua significância com base em testes de hipóteses. No modelo fixo não se estimam parâmetros do tipo variância e covariância porque os elementos não representam uma população de referência (Bernardo, 2002; Miranda Filho & Gorgulho, 2001).

As combinações híbridas são avaliadas em repetições e as médias dos tratamentos, representando as combinações já mencionadas, são utilizadas para formar uma tabela dialélica $n \times n$. As n^2 combinações podem ser divididas em híbridos F_1 e híbridos recíprocos (Miranda Filho & Gorgulho, 2001). A partir desses grupos, Griffing (1956) idealizou quatro possíveis métodos de análise que se diferenciam pelo fato de uns incluírem os genitores, ou recíprocos, ou ambos (Tabela 3).

TABELA 3 Métodos de análise dialélica propostos por Griffing (1956).

Método	Inclusão dos genitores	Inclusão dos recíprocos	Números de genótipos avaliados
1	Sim	sim	n^2
2	Sim	não	$\frac{n(n+1)}{2}$
3	Não	sim	$\frac{n(n-1)}{2}$
4	Não	não	$\frac{n(n-1)}{2}$

Fonte: Adaptado de Wricke & Weber, 1986.

2.7 Seleção assistida por marcadores e desenvolvimento de transgênicos

O princípio da seleção assistida por marcadores é a correlação genética entre a marca e os diferentes genes envolvidos no controle do caráter. Essa

correlação pode ser devido à ligação e à pleiotropia (Ramalho & Lambert, 2004). A agricultura dos transgênicos é uma alternativa para o uso de genótipos em diversas situações, principalmente naqueles casos em que métodos tradicionais de melhoramento genético não são capazes de gerar indivíduos apropriados às condições requeridas (Ramalho et al., 2008; Valois, 2001).

A descoberta das leis da hereditariedade, bem como da natureza química do material genético e a decifração do código genético foram condições primordiais para o surgimento da biotecnologia moderna que, por meio de desenvolvimento de métodos refinados com uso de técnicas de biologia molecular, permitiram a manipulação do material genético. Essa grande façanha técnico-científica trouxe uma grande vantagem para o melhoramento genético por quebrar barreiras do isolamento reprodutivo dentro e entre reinos, facilitando a busca de caracteres desejáveis no fitomelhoramento (Valois, 2001).

Harjes et al. (2008), por meio de análises de associação, mostraram que a variação do loco *lycopene epsilon cyclase* (ϵ -LCY) alterava o fluxo nos dois ramos da rota de biossíntese de carotenoides e que quatro polimorfismos naturais de *lycE* explicavam 58% da variação e triplicava a diferença nos compostos precursores da provitamina A. O loco *lycE* tem grande efeito na divisão dos dois ramos da rota e, conseqüentemente, nos teores de β -caroteno e de β -criptoxantina.

Num outro estudo, Wong et al. (2004) identificaram três QTLs (locos de um caráter quantitativo identificados por marcadores moleculares) que acumulavam carotenoides em milho. Dois deles estavam colocalizados com *y1* e *zeta carotene desaturase* (*zds*) e o terceiro foi mapeado numa outra região sem gene candidato.

Harjes et al. (2008) mapearam o *lycE* e verificaram que ele estava colocalizado com o terceiro QTL mapeado e este mostrou efeito significativo na

modificação da razão do ramo alfa para o ramo beta na biossíntese de carotenoide, explicando 31,7% da variação da luteína. No entanto, este efeito não é significativo para tirar conclusões adicionais na composição de carotenoides.

Naqvi et al. (2009) explicaram que a escassez ou a ausência de vitaminas essenciais no grão de milho podem ser reflexos de os caminhos metabólicos correspondentes estarem ausentes, truncados ou inibidos no endosperma. Portanto, segundo estes autores, uma adequada estratégia para melhorar essas vias seria introduzir genes que codificam enzimas chave.

Diversos trabalhos de engenharia genética são reportados na literatura, como é o caso do arroz e da batata-doce, ricos em beta caroteno, do milho, rico em lisina, entre outros (Christou & Twyman, 2004; Valois, 2001). Embora esses estudos tenham mostrado sucesso, eles estão direcionados para corrigir uma deficiência cada vez. No entanto, Naqvi et al. (2009) fizeram transferência direta de DNA com sucesso e produziram milho transgênico com três produtos de três vias diferentes: beta caroteno, ácido ascórbico e ácido fólico.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material genético

As combinações híbridas foram obtidas a partir de cruzamento de sete linhagens de milho no campo experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG. Essas linhagens foram selecionadas com base no teor de provitamina A (Tabela 4). As 21 combinações resultaram de cruzamento manual das linhagens duas a duas (dialelo completo). Na condução do experimento, foram adicionadas quatro testemunhas.

TABELA 4 Linhagens de milho utilizadas no cruzamento dialélico e testemunhas selecionadas com base nos teores de provitamina A.

Linhagem parental	Provitamina A (µg/g) – primeira análise	Provitamina A (µg/g)- segunda análise	Provitamina A (µg/g) - médio	Pedigree
1	8,1	9,1	8,6	521236
2	6,9	6,9	6,9	2628411-8-2
3	6,7	7,7	7,2	131113-01-1-4-1
4	6,7	6,3	6,5	56800.79
5	6,3	6,0	6,15	L57500.07
6	6,2	.	6,2	521550
7	5,9	.	5,9	531375-1
Testemunhas				
1	.	.	.	561454
2	.	.	.	BRS 1035 – Híbrido Simples
3	.	.	.	BRS 1040 – Híbrido simples
4	.	.	.	CMS2C17EC

3.2 Delineamento experimental

As 21 combinações híbridas, mais as testemunhas, foram avaliadas em quatro ambientes no Brasil.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com duas repetições. Cada parcela era constituída por uma linha de 4 m e espaçamento entre linhas de 80 cm.

As sementes de cada combinação e seu recíproco foram misturadas para formar a semente F_1 . Ao redor de cada experimento foi plantada uma bordadura, com vigor e crescimento similares aos das combinações em avaliação.

3.3 Ambientes utilizados para conduzir experimentos

Os experimentos foram conduzidos, no campo, no ano agrícola 2007/08 (Sete Lagoas, Londrina e Goiânia) e no ano agrícola de 2008 (Londrina, safrinha). As análises laboratoriais de carotenoides foram realizadas em apenas dois ambientes (Goiânia e Sete Lagoas), no ano de 2009.

As informações sobre o tipo de solo, as coordenadas geográficas e os dados sobre o clima de cada ambiente estão resumidas na Tabela 5.

TABELA 5 Tipo de solo e coordenadas geográficas dos ambientes onde foram conduzidos os ensaios para avaliar 25 genótipos de milho, em 2007/08 e 2008 safrinha

Locais	Tipo de solo	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Clima segundo Köppen
Goiânia, GO	Latossolo Vermelho-Amarelo	16°26'S	49°23'50''W	823	Clima quente e úmido com longa estação seca
Londrina, PR	Terra Roxa Estruturada	22°16'S	54°49'00''W	408	Mesotérmico úmido com verão chuvoso
Sete Lagoas, MG	Latossolo Vermelho Escuro	19°28'S	44°15'08''W	732	Savana com inverno seco

3.4 Dados coletados

Depois da maturação do grão e com as plantas secas, foi realizada colheita mecânica, com determinação de peso de grãos e umidade.

Uma amostra da mistura de grãos de cada parcela foi retirada e conservada em câmara fria até a data da realização das análises laboratoriais, para evitar a oxidação dos carotenoides e podridões durante o armazenamento.

Durante a análise de carotenoides, foram quantificados β -caroteno, β -criptoxatina, α -caroteno, zeaxantina e luteína.

Foram avaliadas as características: produtividade de grãos (t/ha), carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$), β -caroteno ($\mu\text{g/g}$), α -caroteno ($\mu\text{g/g}$), zeaxantina ($\mu\text{g/g}$), luteína ($\mu\text{g/g}$), β -criptoxatina ($\mu\text{g/g}$) e provitamina A ($\mu\text{g/g}$). Todos os carotenoides foram expressos em base seca. O total de carotenoides com

atividade provitamina A foi obtido por meio de somatório do total de β -caroteno+1/2 de β -criptoxantina+1/2 de α -caroteno.

3.5 Análise de carotenoides

Foi utilizada a metodologia descrita por Weber (1987) e modificada por Kurilich & Juvik (1999).

Para a análise, foram pesados 0,6 g de farinha de milho, moída a 0,5 mm e conservada em freezer (<20°C) até a análise. Foram adicionados 6 mL de etanol com 0,1% de antioxidante butil hidróxido tolueno (BHT) em tubos de ensaio e homogeneizados a uma velocidade constante por cerca de 20 segundos e, em seguida, as amostras foram deixadas em banho-maria (85 ° C).

Os tubos de ensaio foram removidos do banho-maria, adicionados 500 μ L de KOH a 80% em etanol e homogeneizados por 10 minutos. Foram novamente deixados em banho-maria por 5 minutos para mais tarde serem novamente homogeneizados.

Depois de deixados em banho de gelo por 5 minutos, removidos e adicionada água deionizada para evitar sobreaquecimento e danos potenciais de carotenoides, foram adicionados 4 mL de hexano para extrair os carotenoides.

A mistura em tubos de ensaio foi homogeneizada e centrifugada a 1.200 rotações por minuto, durante 5 minutos. O sobrenadante foi pipetado e transferido para tubos limpos, cobertos de alumínio e devidamente identificados; a homogeneização e a pipetagem foram repetidas duas vezes. Foram adicionados 3 mL de água deionizada pelas paredes do tubo contendo extrato de carotenoides, homogeneizados e os tubos deixados em repouso para haver separação da camada aquosa e não aquosa.

A camada superior do tubo foi coletada e transferida para tubos limpos com fundo cônico. Os carotenoides remanescentes na camada aquosa foram extraídos utilizando-se 2-3 mL de hexano, combinando a camada não aquosa obtida de cada extração com a primeira. Os extratos contendo hexano foram secos sobre a atmosfera de N₂ gasoso e o extrato foi reconstituído em 500 µL 50:50 (v: v) metanol:diclorometano, homogeneizados e, depois, injetaram-se 50µL de amostra HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência) e, finalmente, injetados 20µL da solução β-Apo-8'-carotenal no HPLC.

Antes de se iniciar as análises de laboratoriais, foi obtida a curva padrão a partir de padrões de carotenoides já purificados. Assim, faz-se coincidir curva observada com a padrão, para identificar os carotenoides. O tempo de retenção de cada carotenoide foi o mesmo observado na curva padrão. Por meio da integração da área ocupada pela curva de cada carotenoide foi determinada a quantidade de carotenoides.

O total de carotenoides com atividade provitamina A foi determinado pela soma de total de β-caroteno, metade de β-criptoxantina e metade de α-caroteno.

3.6 Análise estatística dos dados

Todas as análises de variância (individual, conjunta e dialélica) e testes de comparações de médias foram feitos com uso do aplicativo computacional GENES (Cruz, 2006b; Cruz, 2006a).

Para a análise, foi considerado o modelo fixo. Daí, toda a discussão foi baseada em componentes genéticos de média (capacidade geral de combinação e capacidade específica de combinação) e em teste de hipóteses.

A correção do peso de grãos para o estande ideal (20 plantas/parcela) foi realizada utilizando-se o método de correção estratificada (Schimildt et al., 2006).

As análises de variância individual e conjunta foram realizadas considerando a estrutura dos genótipos avaliados: combinações híbridas e testemunhas. Assim, a fonte de variação tratamentos foi decomposta em fontes de variação atribuídas aos genótipos, às testemunhas e ao contraste genótipos versus testemunhas (grupos).

A análise de variância individual para todas as variáveis foi realizada segundo o seguinte modelo estatístico (Cruz, 2006b):

$$Y_{ij} = \mu + g_i + b_j + \varepsilon_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : é o valor do i -ésimo genótipo no j -ésimo bloco;

μ : é a média geral do experimento;

g_i : efeito do i -ésimo genótipo, $i=1,2,3,\dots,25$.

b_j : efeito aleatório do j -ésimo bloco, $j=1,2$.

ε_{ij} : erro aleatório.

Na Tabela 6 é mostrado o esquema de análise de variância individual.

TABELA 6 Esquema de análise de variância individual.

FV	GL	QM
Blocos	b-1	QMB
Tratamentos (Tr)	t-1	QMTr
Genótipos (G)	g-1	QMG
Testemunhas (T)	t-1	QMT
Grupos (Gr)	1	QMGr
Resíduo	(b-1)(g-1)	QMR

A análise de variância conjunta foi realizada segundo o modelo estatístico a seguir (Cruz, 2006b), depois de verificada a homogeneidade de variâncias do erro pelo teste de F máximo (Pimentel-Gomes & Garcia, 2002):

$$y_{ijk} = \mu + a_k + b_{j(k)} + g_i + ag_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

em que:

y_{ijk} : observação do genótipo i no bloco j dentro do ambiente k.

μ : média geral.

a_k : efeito do ambiente k; k=1,2,3,4 (para produção de grãos) e k=1,2 (para carotenoides totais).

$b_{j(k)}$: efeito do bloco j no ambiente k; k=1,2.

g_i : efeito do genótipo i; i=1,2,3,...,25.

ag_{ik} : efeito da interação entre o genótipo i e o ambiente k.

ε_{ijk} : erro aleatório médio associado à observação ijk.

Na Tabela 7 mostra-se o esquema do resultado da análise de variância conjunta.

TABELA 7 Esquema de análise de variância conjunta para os caracteres avaliados.

FV	GL	QM
Blocos/ambientes	a(b-1)	QMB
Tratamentos (Tr)	Tr-1	QMTr
Genótipos (G)	G-1	QMG
Testemunhas (T)	T-1	QMT
Grupos (Gr)	1	QMGr
Ambientes (A)	a-1	QMA
TrxA	(Tr-1)(a-1)	QMTrA
GxA	(G-1)(a-1)	QMGA
TxA	(T-1)(a-1)	QMTA
GrxA	a-1	QMGr
Resíduo	(b-1)(G-1)a	QMR

As estimativas de coeficiente de variância experimental (CV%), coeficiente de variação genético (CVg), coeficiente de variação ambiental (Cve) e coeficiente de determinação (R²) foram obtidas a partir das seguintes fórmulas:

$$cv\% = \frac{100\sqrt{QMR}}{\mu}$$

$$CVg\% = \frac{100\sqrt{\frac{QMG - QMGA}{ab}}}{\mu}$$

$$CV_e = \frac{100 \sqrt{\frac{QMR}{b}}}{MG}$$

$$R^2 = \frac{QMG - QMGA}{QMG}$$

A análise dialélica foi feita considerando o método IV de Griffing (1956), que inclui apenas $(n(n-1))/2$ híbridos possíveis.

O resultado da análise de variância dialélica conjunta dos ambientes foi obtido com a decomposição de quadrados da soma dos híbridos em somas de quadrados atribuídas aos efeitos de capacidade geral e específica de combinação. A análise foi realizada a partir da média resultante da análise de variância conjunta, por meio do seguinte modelo (Cruz, 2006a):

$$Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + \bar{\epsilon}_{ij}$$

em que:

y_{ij} : observação da combinação híbrida envolvendo os genitores i e j ; sendo i, j variando de 1 a 7

μ : média geral;

g_i e g_j : efeitos da capacidade geral de combinação (CGC), associados aos genitores i e j , respectivamente

s_{ij} : efeito da capacidade específica de combinação (CEC) entre os genitores i e j .

$\bar{\epsilon}_{ij}$: erro aleatório médio associado à combinação híbrida de ordem ij .

Para obter a proporção da contribuição dos efeitos aditivos e dos não aditivos foi estimada a contribuição relativa da capacidade geral de combinação e a contribuição relativa da capacidade específica de combinação, por meio dos componentes da soma de quadrados da CGC e da CEC (Tabela 6):

TABELA 8 Esquema das análises individuais e esperanças dos quadrados médios, para experimento de avaliação de dialelo.

FV	GL	QM	E(QM)
Blocos	r-1	Q1	
Tratamentos	{[n(n-1)]/2}-1	Q2	
CGC	n-1	Q3	$\sigma_e^2 + \frac{n-2}{n-1} \sum_i g_i^2$
CEC	[n(n-3)]/2	Q4	$\sigma_e^2 + \frac{2}{n(n-3)} \sum_{i \in j} s_{ij}^2$
Erro	(r-1){[n(n-1)]/2}-1	Q5	σ_e^2

Os componentes associados à capacidade geral de combinação (\square CGC) podem ser determinados pela seguinte equação:

$$\phi_{CGC} = \frac{1}{n-1} \sum_i g_i^2 = (Q_3 - Q_5)/(n-2)$$

Os componentes genéticos associados à capacidade específica de combinação (ϕ_{CEC}) podem ser encontrados por meio da seguinte fórmula:

$$\phi_{CEC} = \frac{2}{n(n-3)} \sum_{i < j} s_{ij}^2 = (Q_4 - Q_5)$$

A contribuição relativa da capacidade geral ($\phi_{CGC\%}$) e específica de combinação ($\phi_{CEC\%}$) foi determinada pelas seguintes equações:

$$\phi_{CGC\%} = \left[\frac{1}{n-1} \sum_i g_i^2 / \left(\frac{2}{n(n-3)} \sum_{i < j} s_{ij}^2 + \frac{1}{n-1} \sum_i g_i^2 \right) \right] \times 100$$

$$\phi_{CEC\%} = \left[\frac{2}{n(n-3)} \sum_{i < j} s_{ij}^2 / \left(\frac{2}{n(n-3)} \sum_{i < j} s_{ij}^2 + \frac{1}{n-1} \sum_i g_i^2 \right) \right] \times 100$$

A análise dialélica foi realizada associada à análise de estabilidade e adaptabilidade pelo método de Eberhart & Russell (1966), considerando a seguinte equação de regressão múltipla linear (Pacheco et al., 1999):

$$Y_{ijk} = \beta_{0ij} + \beta_{1ij}l_k + \delta_{ij} + \bar{\epsilon}_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} : média da combinação híbrida ij no ambiente k;

β_0 : média da combinação híbrida ij;

β_1 : coeficiente de regressão que expressa a adaptabilidade do tratamento

ij;

l_k : índice ambiental, sendo $l_k = \bar{y}_{.k} - \bar{y}_{..}$

δ_{ij} : desvio da regressão

$\bar{\epsilon}_{ijk}$: erro experimental médio.

O coeficiente de regressão β_1 foi decomposto da seguinte forma:

$$\tilde{\beta}_1 = \tilde{\beta}_\mu + \tilde{\beta}_{1gi} + \tilde{\beta}_{1gj} + \tilde{\beta}_{1sij}$$

em que

$$\tilde{\beta}_{1\mu} = 1,0$$

$$\hat{\beta}_{1gi} = \frac{\sum_{k=1}^a \hat{g}_{ik} l_k}{\sum_{k=1}^a l_k^2}$$

$$\hat{\beta}_{1gj} = \frac{\sum_{k=1}^a \hat{g}_{jk} l_k}{\sum_{k=1}^a l_k^2}$$

$$\hat{\beta}_{1sij} = \frac{\sum_{k=1}^a \hat{s}_{ijk} l_k}{\sum_{k=1}^a l_k^2}$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Total de carotenoides com atividade provitamina A

Pode ser considerada provitamina A toda a substância carotenoide que o organismo humano pode transformar em vitamina A durante a digestão dos alimentos. São considerados carotenoides com atividade provitamina A no milho β -caroteno, β -criptoxantina e α -caroteno.

As estruturas químicas dos três carotenoides, como está ilustrado na Figura 1, apresentam especificidade de ter uma ou duas estruturas similares da vitamina A. Assim, o total de carotenoides com atividade provitamina A pode ser obtido a partir da seguinte equação: β -caroteno + $1/2$ β -criptoxantina + $1/2$ α -caroteno.

As análises de variância individual e conjunta dos dados obtidos em dois ambientes para o caráter provitamina A estão apresentadas na Tabela 9.

TABELA 9 Análise de variância individual e conjunta do caráter provitamina A (somatório de carotenoides com atividade provitamina), em µg/g, em grãos de milho conduzidos em dois ambientes, no ano agrícola 2007/08.

FV	GL	QM		
		Goiânia	Sete Lagoas	Conjunta
Blocos/ambiente	1/2 ¹	0,406	4,97	2,69
Tratamentos (Tr)	24	1,029**	1,30**	1,94**
Genótipos (G)	20	0,924*	1,04**	1,60**
Testemunha (T)	3	1,046ns	0,42ns	1,08*
Grupos (Gr)	1	3,075**	9,04**	11,33**
Ambientes (A)	1			8,50ns
TrxA	24			0,39ns
GXA	20			0,37ns
TxA	3			0,39ns
GrxA	1			0,78ns
Resíduo	24/48 ²	0,381	0,36	0,37
Média geral		5,53	4,95	5,24
Média dos genótipos		5,64	5,14	5,39
Média das testemunhas		4,96	3,98	4,47
CV (%)		11,15	12,11	11,61
CVg (%)		9,24	11,37	10,29
CVg/Cve		0,85	0,97	0,91
R ² (%)				76,86

¹ 1 Corresponde a graus de liberdade da análise individual (blocos) e 2 da análise conjunta (blocos/ambientes); ² 24corresponde a graus de liberdade da análise individual e 48 da conjunta; * e ** significativos a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Observa-se um comportamento diferencial das combinações híbridas (P<0,05), porém, não diferencial (P>0,05) das testemunhas, nos dois ambientes e

na análise conjunta. Isso é um indicativo de que as combinações híbridas apresentam variabilidade genética para o caráter provitamina A nos grãos de milho.

A razão CV_g/CV_e , que mede a variabilidade genética numa população, foi próxima de 1 nos dois ambientes e no conjunto dos ambientes (Tabela 9).

Pouco mais de 76% da variação observada pode ser explicado pelo modelo usado (Tabela 9).

A precisão experimental medida pelo coeficiente de variação foi boa, registrando-se 12,11% em Sete Lagoas, 11,15% em Goiânia e 11,61% no conjunto dos dois ambientes.

A relação entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo foi de 1,06, evidenciando a existência de homogeneidade das estimativas das variâncias residuais.

Não foram detectadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os ambientes, sugerindo que a variação observada deve-se, fundamentalmente, aos genótipos avaliados.

A interação genótipos por ambientes não foi significativa ($P > 0,05$), indicando que não houve mudanças significativas nas posições dos genótipos em relação aos ambientes.

Rios et al. (2009), em trabalho realizado em cinco ambientes distintos e que visava estudar a interação genótipos por ambientes para a composição de carotenoides em cultivares de milho, observaram diferenças significativas para a interação. Isso pode indicar inconsistência do comportamento entre os tratamentos nos ambientes em que foram avaliados.

Alguns trabalhos encontrados na literatura reportam que a composição de carotenoides nos alimentos é afetada por diversos fatores biológicos e não biológicos (Campos & Rosado, 2005). Outras evidências sugerem que a

expressão de provitamina A é relativamente estável sob diferentes condições de cultivos, por ser um caráter controlado por poucos genes e, provavelmente, a causa fundamental de não mudança de ranqueamento dos tratamentos nos dois ambientes em questão. Por um lado, a avaliação em dois ambientes não é suficiente para afirmar com precisão o comportamento estável deste caráter em diferentes ambientes.

As estimativas médias obtidas com base na média dos dois ambientes indicam que a combinação híbrida 3x5 ficou posicionada no grupo dos que apresentaram maiores teores de provitamina A, alcançando 6,74 µg/g de total de carotenoides com atividade dessa provitamina (Tabela 10). Porém, essa combinação apresentou baixa produtividade de grãos (3,56 t/ha). A combinação híbrida com maior produtividade do grão (9,80 t/ha) apresentou 5,17 µg/g de totais de carotenoides provitamina A.

A média geral de teores da provitamina A foi de 5,24 µg/g; a média para Sete Lagoas foi de 4,95 µg/g e para Goiânia, de 5,53 µg/g (Tabela 9).

Resultados reportando parâmetros genéticos para carotenoides de grãos são escassos na literatura. Dados reportados por Rios et al. (2009) apresentam uma amplitude de 1,73 a 2,36 µg/g. Berardo et al. (2004) realizaram trabalho em que visavam avaliar a concentração de carotenoides, cujos valores que oscilaram de 1,13 a 5,81 µg/g e média de 3,47 µg/g.

O primeiro e o único dialelo sobre carotenoides até então encontrado na literatura foi apresentado por Egesel et al. (2003), cujo objetivo era analisar a variação genética de níveis de carotenoides e tocoferol. Em dois ambientes de avaliação (1998 e 1999), foram observadas as seguintes variações: 1,05 a 4,2 µg/g e média de 2,15 µg/g no primeiro ano e 1,60 a 4,05 µg/g e média de 3,55 µg/g no segundo ano da avaliação. As médias de provitamina A apresentadas neste estudo tendem a ser superiores, 2,15 µg/g vs 5,24 µg/g e 3,55

$\mu\text{g/g}$ vs $5,24 \mu\text{g/g}$. Quando se compara com carotenoides totais, pode se observar que as médias apresentadas por Egesel et al. (2003) tendem a ser superiores, $27,91 \mu\text{g/g}$ vs $28,3 \mu\text{g/g}$ e $27,91 \mu\text{g/g}$ vs $35,4 \mu\text{g/g}$. Isso indica uma tendência de o germoplasma utilizado no presente estudo apresentar maior porção de provitamina A em carotenoides totais, em comparação com o resultado apresentado no primeiro dialelo.

As análises realizadas neste trabalho permitiram identificar combinações híbridas que apresentaram mais de $5 \mu\text{g/g}$ de provitamina A. Mas, esses resultados promissores estão ainda longe de alcançar níveis satisfatórios para mitigar a deficiência da vitamina A em humanos.

TABELA 10 Estimativas de provitamina A em grãos de milho ($\mu\text{g/g}$), em dois ambientes avaliados.

Híbrido	Pedigree	Goiânia	Sete Lagoas	Conjunta
1x2	521236/2628411-8-2	5,17ab	5,18abc	5,17abc
1x3	521236/I31113-01-1-1-4-1	7,11a	5,88ab	6,50ab
1x4	521236/56800.79	5,77ab	5,23abc	5,50abc
1x5	521236/L57500.07	5,17ab	5,30abc	5,23abc
1x6	521236/521550	6,89a	5,33abc	6,11abc
1x7	521236/531375-1	5,34ab	4,24bc	4,79abc
2x3	2628411/I31113-01-1-1-4-1	6,11ab	4,70bc	5,41abc
2x4	2628411/56800.79	5,80ab	5,64abc	5,72abc
2x5	2628411/L57500.07	5,04ab	4,68bc	4,86abc
2x6	2628411/521550	5,60ab	4,95abc	5,27abc
2x7	2628411/531375-1	4,80ab	4,27bc	4,54abc
3x4	I31113/56800.79	6,06ab	5,08abc	5,57abc
3x5	I31113/L57500.07	6,26ab	7,22a	6,74a
3x6	I31113/521550	6,07ab	6,19ab	6,13ab
3x7	I31113/531375-1	5,33ab	5,27abc	5,30abc
4x5	56800.79/L57500.07	5,33ab	5,14abc	5,24abc
4x6	56800.79/521550	6,08ab	5,22abc	5,65abc
4x7	56800.79/531375-1	4,98ab	4,05bc	4,52abc
5x6	L57500.07/521550	6,03ab	5,27abc	5,65abc
5x7	L57500.07/531375-1	4,34b	4,32bc	4,33bc
6x7	521550/531375-1	5,15ab	4,66bc	4,91abc
	561454	5,49ab	3,79bc	4,64abc
	BRS 1035	5,63ab	4,35bc	4,99abc
	BRS 1040	4,64ab	4,35bc	4,49abc
	CMS2C17EC	4,10b	3,41c	3,76c
	Média geral	5,53	4,95	5,24
	Mínimo	4,10	3,41	3,76
	Máximo	7,11	7,22	6,74

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Pela análise dialélica (Tabela 11), verificou-se que, de maneira geral, o componente associado ao efeito da capacidade geral de combinação demonstrou ser de maior importância, ao apresentar diferenças altamente significativas ($P < 0,01$). Assim, pode-se dizer que pelo menos uma das sete linhagens de milho difere das demais, no que concerne à concentração de alelos favoráveis para teores de provitamina A. Desse modo, espera-se que a resposta do híbrido seja determinada, principalmente, pelo seu efeito aditivo.

Não foram detectadas diferenças significativas ($P > 0,05$) para os componentes associados à capacidade específica. Assim, pode-se concluir que as linhagens estudadas não apresentam apreciável grau de complementaridade.

Os componentes aditivos, associados aos efeitos da capacidade geral de combinação e os componentes não aditivos, associados à capacidade específica de combinação não apresentaram comportamento diferencial diante das variações ambientais, indicando que as respostas das combinações híbridas avaliadas podem ser atribuídas apenas às variações ambientais (Tabela 11).

TABELA 11 Resumo da análise individual e conjunta do dialelo envolvendo híbridos oriundos de sete linhagens para o caráter provitamina A, em dois ambientes.

FV	GL	QM		
		Goiânia	Sete Lagoas	Conjunta
Tratamento	20	0,92*	1,04**	1,60**
CGC	6	2,39**	2,17**	4,18**
CEC	14	0,30ns	0,56ns	0,49ns
Ambiente	1			5,37
TratxAmb	20			0,37ns
CGCxAmb	6			0,38ns
CECxAmb	14			0,36ns
Resíduo	24/48 ¹	0,38	0,36	0,37

*e** significativos a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F; ¹ 24 GL da análise individual e 48 da conjunta.

O genitor 3 apresenta altas concentrações de alelos favoráveis para o incremento da provitamina A.

As combinações híbridas 3x5, 1x3 e 3x6 apresentaram maiores médias, devido à elevada concentração de alelos favoráveis para provitamina A da linhagem citada anteriormente (Tabela 12).

TABELA 12 Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação do caráter provitamina A (total de carotenóides com atividade provitamina A) obtidas em dialelo completo envolvendo híbridos de sete linhagens em dois ambientes.

Linhagem	Pedigree	Goiânia	Sete Lagoas	Conjunta
1	521236	0,322ab	0,068ab	0,195ab
2	2628411-8-2	-0,263ab	-0,276ab	-0,270ab
3	131113-01-1-4-1	0,621a	0,705a	0,664a
4	L57500.076800.79	0,037ab	-0,089ab	-0,026ab
5	L57500.07	-0,33ab	0,225ab	-0,055ab
6	521550	0,396ab	0,162ab	0,28ab
7	531375-1	-0,778b	-0,796b	-0,788b

Valores seguidos pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.2 Carotenoides com atividade provitamina A

Entre os vários carotenoides identificados no grão de milho, β -caroteno, β -criptoxantina e α -caroteno desempenham atividade provitamina A no organismo.

As análises de variância individuais e conjunta para os caracteres β -caroteno, β -criptoxantina e α -caroteno encontram-se na Tabela 13.

Foram detectadas diferenças altamente significativas ($P < 0,01$) para as combinações híbridas, tanto na análise individual como na conjunta. Isto é indicativo de existência de variabilidade das combinações híbridas nos três caracteres.

Para as testemunhas, só foram detectadas diferenças altamente significativas ($p < 0,01$) do caráter β -caroteno em Goiânia e diferenças significativas ($p < 0,05$) do mesmo caráter no conjunto dos ambientes.

Na análise individual, o parâmetro CV_g/CV_e só é inferior a 1 no caráter β -criptoxantina e β -caroteno, em Goiânia. Na análise conjunta, só é inferior a 1 no caráter β -caroteno. Isso é indicativo de uma situação favorável para a seleção, principalmente para β -criptoxantina e α -caroteno (Tabela 13).

A precisão experimental medida pelo coeficiente de variação, no conjunto dos ambientes, foi de 10,86% para β -caroteno, 19,56% para β -criptoxantina e 13,7% para α -caroteno (Tabela 13). Segundo Pimentel-Gomes & Garcia (2002), esses valores podem ser considerados médios.

Pode-se visualizar, também, que 78,69%, 84,98% e 94,30% da variação são explicados pelo modelo nos variáveis β -caroteno, α -caroteno e, β -criptoxantina, respectivamente.

TABELA 13 Resumo da análise de variância dos caracteres β -caroteno (BC), β -criptoxantina (Bcript) e α -caroteno (AC), em grãos de milho.

FV	GL	QM								
		Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC
Blocos/ambiente	1/2 ¹	0,416	0,0005	0,00005	3,08	0,82	0,0015	1,75	0,41	0,00079
Tratamentos (Tr)	24	0,635**	0,905*	0,0003**	0,89**	0,76**	0,0005**	1,35**	1,37**	0,00068**
Genótipos (G)	20	0,461*	0,983**	0,0003**	0,59**	0,87**	0,0005**	0,88**	1,56**	0,00069**
Testemunhas (T)	3	0,485**	0,479ns	0,00006ns	0,21ns	0,29ns	0,0001ns	0,55*	0,47ns	0,000010ns
Grupos (Gr)	1	4,55**	0,623ns	0,0008**	8,92**	0,00ns	0,0015**	13,11**	0,31ns	0,0021**
Ambientes (A)	1	3,05ns	5,63ns	0,0011ns
TrxA	24	0,18ns	0,29ns	0,0001ns
GxA	20	0,18ns	0,29ns	0,0001**
TxA	3	0,14ns	0,30ns	0,0001ns
GrxA	1	0,36ns	0,31ns	0,0001ns
Resíduo	24/48 ²	0,160	0,351	0,00002	0,21	0,12	0,0001	0,19	0,23	0,00004
Média geral		4,16	2,71	0,04	3,81	2,24	0,049	3,98	2,47	0,045
Média dos genótipos		4,29	2,66	0,04	3,99	2,24	0,051	4,14	2,44	0,047
Média das testemunhas		3,46	2,97	0,03	2,84	2,24	0,037	3,15	2,60	0,035
CV		9,62	21,86	11,20	12,16	15,31	15,24	10,86	19,56	13,70
CVg		9,05	21,10	26,07	10,91	27,39	29,02	10,03	23,50	26,68
CVg/Cve		0,97	0,95	2,42	0,94	1,79	1,99	0,96	1,19	2,03
R ²		78,69	84,98	94,30

¹ 1 Corresponde a graus de liberdade da análise individual (bloco) e 2 da análise conjunta (blocos/ambiente); ² 24corresponde a graus de liberdade da análise individual e 48 da conjunta; ns: não significativo; * e ** significativos a 1% e a 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

A relação entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo foi de 2,49 para α -caroteno, de 1,34 para β -caroteno e de 2,99 para β -criptoxantina, indicando, assim, homogeneidade das estimativas das variâncias residuais para todos os caracteres.

Não foram detectadas diferenças significativas ($P>0,05$) entre os ambientes de condução dos experimentos.

Para complementar o estudo da análise de variância, foi feito o teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Tabela 14). Em geral, foram observados: mínimo de 2,68 $\mu\text{g/g}$, máximo de 5,09 $\mu\text{g/g}$ e média de 3,98 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno; amplitude de 0,03 a 0,08 $\mu\text{g/g}$ e média de 0,05 de α -caroteno, além de amplitude de 1,66 a 3,92 $\mu\text{g/g}$ e média de 2,47 $\mu\text{g/g}$ de β -criptoxantina. Os híbridos 3x5, 5x6 e 1x3 se posicionaram nos grupos com maiores teores de β -caroteno, α -caroteno e β -criptoxana, respectivamente. Enquanto o híbrido CMS2C17EC apresentou menores teores de β -caroteno, as combinações híbridas 2x5, 2x6, 2x7, 4x7, 5x6, 5x7, 6x7 apresentaram os teores mais baixos de β -criptoxantina e os híbridos 1x7, 2x3 e CMS2C17EC os teores mais baixos de α -caroteno. O híbrido 3x5 ficou posicionado no grupo de maiores teores tanto de provitamina A como de β -caroteno e o híbrido 5x6 se posicionou no grupo de maiores teores de α -caroteno e de menores teores de β -criptoxantina.

Outros resultados com três caracteres são encontrados na literatura (Berardo et al., 2004; Egesel et al., 2003).

Berardo et al. (2004) reportaram valores que variaram de 0,14 a 1,62 $\mu\text{g/g}$ e média de 0,88 $\mu\text{g/g}$ de β -caroteno, amplitude de 0,73 a 3,37 $\mu\text{g/g}$ e média de 2,05 $\mu\text{g/g}$ de α -caroteno e amplitude de 1,24 a 5,00 $\mu\text{g/g}$ e média de 3,12 $\mu\text{g/g}$ de β -criptoxantina. Dados apresentados neste estudo mostraram tendência de ser superior em relação ao β -caroteno (0,88 $\mu\text{g/g}$ vs 3,98 $\mu\text{g/g}$), porém, tendência de

ser inferior em relação à β -criptoxantina (3,12 $\mu\text{g/g}$ vs 2,47 $\mu\text{g/g}$) e ao α -caroteno (2,05 $\mu\text{g/g}$ vs 0,05 $\mu\text{g/g}$).

Por seu turno, Egesel et al. (2003) reportaram valores que oscilaram de 0,5 a 2,4 $\mu\text{g/g}$ e média de 1,2 $\mu\text{g/g}$, no primeiro ano e amplitude de 0,8 a 3,4 $\mu\text{g/g}$ e média de 1,8 $\mu\text{g/g}$, no segundo ano de avaliação, para o caráter β -caroteno e média de 1,9 $\mu\text{g/g}$, num intervalo que oscilou de 1,1 a 3,6 $\mu\text{g/g}$ de β -criptoxantina, no primeiro ano e média de 3,1 $\mu\text{g/g}$ e amplitude de 1,6 a 4,9 $\mu\text{g/g}$ de β -criptoxantina, no segundo de avaliação. Tal como discutido anteriormente, existe uma tendência de valores apresentados no presente serem superior para β -caroteno (1,2 $\mu\text{g/g}$ vs 3,98 $\mu\text{g/g}$) no primeiro ano e (1,8 $\mu\text{g/g}$ vs 3,98 $\mu\text{g/g}$) no segundo e os de β -criptoxantina (1,9 $\mu\text{g/g}$ vs 2,47 $\mu\text{g/g}$) no primeiro, porém, tendência de serem inferiores para β -criptoxantina (3,1 $\mu\text{g/g}$ vs 2,47 $\mu\text{g/g}$), no segundo ano de avaliação.

TABELA 14 Estimativas de β -caroteno (BC), β -criptoxantina (Bcript) e α -caroteno (AC) em grãos de milho ($\mu\text{g/g}$), em dois ambientes avaliados.

Híbrido	Pedigree	Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC
1x2	521236/2628411-8-2	3,70abcd	2,91ab	0,031ef	3,78abcd	2,75abcd	0,043cde	3,74abcd	2,83ab	0,037de
1x3	521236/I31113-01-1-1-4-1	4,96a	4,26ab	0,040def	4,07abcd	3,58ab	0,038de	4,52abc	3,92a	0,039de
1x4	521236/56800.79	3,99abcd	3,52ab	0,040def	3,66abcd	3,09abc	0,043cde	3,82abcd	3,31ab	0,042de
1x5	521236/L57500.07	4,10abcd	2,10ab	0,038def	3,97abcd	2,61abcde	0,047bcde	4,03abcd	2,36ab	0,043de
1x6	521236/521550	4,68abc	4,37a	0,050bcde	4,04abcd	2,54abcde	0,047bcde	4,36abc	3,46ab	0,049bcde
1x7	521236/531375-1	3,86abcd	2,94ab	0,028f	3,02cd	2,42abcde	0,028e	3,44abcd	2,68ab	0,028e
2x3	2628411/I31113-01-1-1-4-1	4,74abc	2,72ab	0,028f	3,66abcd	2,04cde	0,033e	4,20abcd	2,38ab	0,031e
2x4	2628411/56800.79	4,49abcd	2,59ab	0,043cdef	4,45abc	2,33abcde	0,038de	4,47abc	2,46ab	0,040de
2x5	2628411/L57500.07	4,09abcd	1,81b	0,038def	3,72abcd	1,88cde	0,052bcde	3,91abcd	1,87b	0,045cde
2x6	2628411/521550	4,65abc	1,83b	0,066ab	4,16abcd	1,51de	0,076ab	4,40abc	1,67b	0,071ab
2x7	2628411/531375-1	3,85abcd	1,89b	0,038def	3,40bcd	1,69de	0,052bcde	3,62abcd	1,79b	0,045cde
3x4	I31113/56800.79	4,58abc	2,92ab	0,038def	3,92abcd	2,27bcde	0,043cde	4,25abcd	2,60ab	0,040de
3x5	I31113/L57500.07	4,85ab	2,77ab	0,057abcd	5,34a	3,71a	0,042cde	5,09a	3,24ab	0,049bcde
3x6	I31113/521550	4,75abc	2,61ab	0,043cdef	5,03ab	2,24bcde	0,071abc	4,89ab	2,42ab	0,057abcd
3x7	I31113/531375-1	4,11abcd	2,39ab	0,043cdef	4,20abcd	2,09cde	0,045cde	4,16abcd	2,25ab	0,044de
4x5	56800.79/L57500.07	3,97abcd	2,68ab	0,047bcdef	4,01abcd	2,20bcde	0,066abcd	3,99abcd	2,44ab	0,057abcd
4x6	56800.79/521550	4,61abc	2,87ab	0,062abc	4,14abcd	2,09cde	0,076ab	4,37abc	2,48ab	0,069abc
4x7	56800.79/531375-1	3,80abcd	2,31ab	0,047bcdef	3,29bcd	1,48de	0,047bcde	3,55abcd	1,89b	0,047bcde

‘... Continua...’

“TABELA 14, cont.”

Híbrido	Pedigree	Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC
5x6	L57500.07/521550	4,98a	2,03ab	0,071a	4,59abc	1,28e	0,090a	4,78ab	1,66b	0,081a
5x7	L57500.07/531375-1	3,23bcd	2,20ab	0,028f	3,56abcd	1,48de	0,045cde	3,39bcd	1,84b	0,037de
6x7	521550/531375-1	4,05abcd	2,17ab	0,047bcdef	3,80abcd	1,66de	0,057bcde	3,92abcd	1,92b	0,052bcde
	561454	3,89abcd	3,15ab	0,038def	2,77cd	2,01cde	0,043cde	3,33bcd	2,58ab	0,040de
	BRS 1035	3,87abcd	2,88ab	0,028f	3,20bcd	2,25bcde	0,043cde	3,54abcd	2,87ab	0,036de
	BRS 1040	3,18cd	2,88ab	0,038def	2,95cd	2,77abcd	0,033e	3,06cd	2,83ab	0,036de
	CMS2C17EC	2,92d	2,34ab	0,028f	2,44d	1,91cde	0,028e	2,68d	2,13ab	0,028e
	Média	4,16	2,71	0,04	3,81	2,24	0,05	3,98	2,47	0,05
	Mínimo	2,92	1,81	0,03	2,44	1,28	0,03	2,68	1,66	0,03
	Máximo	4,98	4,37	0,07	5,34	3,71	0,09	5,09	3,92	0,08

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Pela análise de variância dialélica (Tabela 15), verificou-se que, de maneira geral, o componente aditivo associado ao efeito da capacidade geral de combinação demonstrou ser de maior importância ao apresentar diferenças altamente significativas ($P < 0,01$) nos três caracteres. Assim, pode-se inferir que pelo menos uma das sete linhagens difere das demais, no que concerne à concentração de alelos favoráveis para os caracteres. Desse modo, espera-se que a resposta do híbrido seja determinada, principalmente, pelo seu efeito aditivo.

Os componentes não aditivos associados à capacidade específica de combinação só apresentaram diferenças significativas nas análises individuais para os caracteres α -caroteno e β -criptoxantina.

Tanto os componentes aditivos associados aos efeitos da capacidade geral de combinação como os não aditivos associados à capacidade específica de combinação para o caráter α -caroteno apresentaram comportamento diferencial ($P < 0,01$) diante das variações ambientais. Isso indica que a resposta dos genótipos avaliados pode ser atribuída a diferentes componentes genéticos. No entanto, para os caracteres β -caroteno e β -criptoxantina, os componentes aditivos associados à capacidade geral de combinação e os não aditivos associados à capacidade específica de combinação não apresentaram comportamento diferencial ($p > 0,05$) diante das variações ambientais, indicando que as respostas das combinações híbridas podem ser atribuídas apenas à variação ambiental.

TABELA 15 Resultado da análise de variância individual e conjunta do dialelo, envolvendo 21 combinações híbridas em dois locais, nos caracteres β -caroteno, β -criptoxantina e α -caroteno.

FV	GL	Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC
Tratamento	20	0,46**	0,98**	0,00025**	0,59**	0,87**	0,0005**	0,88**	1,56**	0,0007**
CGC	6	1,18**	2,36**	0,0006**	1,33**	2,12**	0,0013**	2,36**	4,10**	0,0018**
CEC	14	0,15ns	0,39ns	0,0001**	0,28ns	0,33*	0,00009**	0,24ns	0,47ns	0,0002ns
Ambiente	1	1,85	3,81	0,001
TratxAmb	20	0,18ns	0,29ns	0,0001**
CGCxAmb	6	0,15ns	0,38ns	0,00001*
CECxAmb	14	0,19ns	0,25ns	0,0001**
Resíduo	24/48	0,16	0,35	0,00002	0,21	0,12	0,00006	0,19	0,23	0,00004

*e** significativos, a 1% e a 5% de probabilidade; respectivamente, pelo teste F; ns: não significativo pelo teste F.

O potencial genético de cada genitor para os três caracteres foi estimado e os resultados estão apresentados na Tabela 16.

Entre as linhagens utilizadas como genitoras, a 6 apresentou maiores concentrações de alelos favoráveis no caráter β -caroteno. Maiores concentrações de alelos favoráveis para o caráter α -caroteno em todos os ambientes foram apresentados pela linhagem 6 e maiores concentrações de alelos favoráveis para o caráter β -criptoxantina foram apresentados pela linhagem 1. A linhagem 1 apresentou maiores concentrações de alelos favoráveis para o caráter produtividade de grãos e as linhagem 3, para o caráter provitamina A, como também são genitoras dos três híbridos (1x2, 1x3 e 3x7) que apresentaram boa CEC para produtividade de grãos e que não diferiram em produtividade com três testemunhas, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 16 Estimativas da capacidade geral de combinação para os caracteres β -caroteno (BC), β -criptoxantina e α -caroteno (AC).

Linhagens	Genitores	Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC	BC	Bcript	AC
1	521236	-0,086ab	0,822a	-0,007c	-0,283ab	0,715a	-0,012bc	-0,184ab	0,769a	-0,01b
2	2628411-8-2	-0,041ab	-0,439b	-0,004bc	-0,154ab	-0,243bc	-0,0029bc	-0,097ab	-0,341ab	-0,003b
3	l31113-01-1-4-1	0,453a	0,340ab	-0,003bc	0,457a	0,505a	-0,0074b	0,455ab	0,423ab	-0,005b
4	L57500.076800.79	-0,056ab	0,185ab	0,0027b	-0,09ab	0,011a	0,0008bc	-0,076ab	0,098ab	0,002a
5	L57500.07	-0,102ab	-0,469b	0,003b	0,248ab	-0,052bc	0,0068abc	0,073ab	-0,261ab	0,005b
6	521550	0,398a	-0,019b	0,015a	0,361ab	-0,419bc	0,0217a	0,38a	-0,219b	0,018a
7	531375-1	-0,566b	-0,419b	-0,006c	-0,535b	-0,518c	-0,0067bc	-0,55b	-0,468b	-0,007ab

Valores seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.3 Carotenoides totais, luteína e zeaxantina

As análises de variância individual e conjunta dos dois ambientes para os caracteres carotenoides totais, luteína e zeaxantina encontram-se na Tabela 17.

Tanto nas análises de variância individuais como nas conjuntas foram detectadas, entre os tratamentos, pelo teste *F*, diferenças altamente significativas ($P < 0,01$) apenas para os caracteres carotenoides totais e luteína.

O parâmetro que mede a variabilidade (CV_g/CV_e) aponta 0,62 para carotenoides totais e 1,18 para luteína, o que é indicativo de situação favorável para a seleção no caráter luteína.

Os coeficientes de variação experimental ($CV\%$) variaram de 10,86% de carotenoides totais em Goiânia a 16,96% de luteína também em Goiânia, os quais, segundo Pimentel-Gomes & Garcia (2002), podem ser considerados médios.

A relação entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo foi de 1,11 para carotenoides totais, de 2,18 para luteína e de 1,00 para zeaxantina, demonstrando que as variâncias do erro experimental podem ser consideradas homogêneas.

TABELA 17 Análise de variância dos caracteres carotenoides totais (CT), luteína e zeaxantina em grãos de milho.

FV	GL	QM								
		Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		CT	Luteína	Zeaxantina	CT	Luteína	Zeaxantina	CT	Luteína	Zeaxantina
Blocos/ambientes	1/4 ¹	4,78	0,06	3,26	127,33	0,67	60,30	66,06	0,36	31,78
Tratamentos (Tr)	24	15,51ns	2,07**	11,14ns	30,33**	1,50**	16,56ns	37,19ns	3,19**	23,70ns
Genótipos (G)	20	11,97ns	2,12**	10,68ns	23,47*	1,44**	14,10ns	26,20ns	3,11**	20,34ns
Testemunhas (T)	3	6,38ns	0,73ns	1,39ns	4,20ns	0,34ns	3,93ns	7,21ns	1,03**	4,49**
Grupos (Gr)	1	113,63**	5,02**	49,65**	245,89	6,12**	103,67**	346,91**	11,11**	148,40ns
Ambientes (A)	1	152,37ns	0,041ns	71,62**
TrxA	24	8,65ns	0,38*	4,00ns
GxA	20	9,24ns	0,45*	4,44ns
TxA	3	3,37ns	0,04ns	0,83ns
GrxA	1	12,60ns	0,03ns	4,92ns
Resíduo	24/48 ²	9,19	0,28	5,48	10,22	0,13	5,49	9,71	0,21	5,48
Média geral		27,91	3,14	17,86	25,44	3,18	16,17	26,68	3,15	17,02
Média dos genótipos		28,57	3,28	18,30	26,41	3,33	16,80	27,49	3,30	17,54
Média das testemunhas		24,46	2,41	15,58	20,36	2,38	12,87	22,41	2,40	14,23
CV		10,86	16,96	13,10	12,56	11,33	14,48	11,68	14,39	13,76
CVg		4,12	29,25	8,81	9,75	24,27	12,35	7,39	25,79	10,98
CVg/Cve		0,39	1,80	0,69	0,81	2,24	0,89	0,62	1,88	0,82
R ²		62,95	93,36	73,05

¹ 1 Corresponde a graus de liberdade da análise individual (Blocos) e 2 da análise conjunta (Blocos/ambiente); ² 24corresponde a graus de liberdade da análise individual e 48 da conjunta; ns: não significativo; * e ** significativos a 1% e a 5 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

O coeficiente de variação experimental (CV%) encontrado na análise de variância conjunta para os quatro caracteres foi de 11,68% para carotenoides totais, 14,39% para luteína e 13,76% para zeaxantina. Segundo Pimentel-Gomes & Garcia (2002), esses coeficientes podem ser considerados médios.

Na análise conjunta de variância dos caracteres carotenoides total e zeaxantina não foram detectadas diferenças significativas ($P>0,05$).

Diferenças altamente significativa ($P<0,01$) foi observada entre os tratamentos, sugerindo a existência de grande diversidade entre eles.

Para a fonte de variação tratamentos, a diferença altamente significativa do caráter luteína indica a presença de variabilidade genética entre os tratamentos. A fonte de variação genótipos, que envolve todos os 21 cruzamentos, foi altamente significativa, indicando variabilidade genética entre os mesmos. Detectaram-se diferenças entre os genótipos vs testemunhas, o que indica que as testemunhas diferem geneticamente e que, em média, os genótipos e testemunhas apresentam valores médios diferentes para luteína e zeaxantina (Tabela 17).

Com relação à interação com o ambiente, todas as fontes de variação citadas anteriormente, com a exceção do caráter luteína, não foram significativamente diferentes ($P>0,05$), indicando que os 21 cruzamentos, assim como as testemunhas, não apresentaram desempenho diferencial nos diversos ambientes de avaliação.

A média geral, a média dos genótipos e das testemunhas, os valores máximos e mínimos dos caracteres carotenoides totais e luteína estão apresentados na Tabela 18.

Rios et al. (2009) reportaram valores de carotenoides totais que variaram de 19,32 a 25,38 $\mu\text{g/g}$, com média de 23,11 $\mu\text{g/g}$. Berardo et al. (2004)

apresentaram valores médios de 42,07µg/g e Egesel et al. (2003), valores com amplitude de 21,7 a 51,4 e média de 31,9µg/g.

Egesel et al. (2003) reportaram valores de luteína que variam de 6,1 a 17,5 µg/g e média de 11,5µg/g e Berardo et al. (2004), valores médios de 13,10µg/g.

TABELA 18 Valores médios de carotenoides totais (CT), luteína e zeaxantina ($\mu\text{g/g}$).

Híbrido	Pedigree	Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		CT	Luteína	Zeaxantina	CT	Luteína	Zeaxantina	CT	Luteína	Zeaxantina
1x2	521236/2628411-8-2	27,76a	3,47bcde	17,66a	29,60ab	3,44cde	19,59a	28,68a	3,45bcde	18,63a
1x3	521236/I31113-01-1-1-4-1	31,67a	3,52bcde	18,88a	30,26ab	4,19abcd	18,39a	30,97a	3,85bcd	18,64a
1x4	521236/56800.79	27,77a	3,30bcde	16,92a	25,50ab	3,27cdef	15,44a	26,64a	3,28bcdef	16,18a
1x5	521236/L57500.07	28,79a	2,27cde	20,28a	29,47ab	3,13cdef	19,71a	29,13a	2,70cdef	19,99a
1x6	521236/521550	31,81a	3,06bcde	19,65a	28,24ab	2,79cdef	18,83a	30,03a	2,92bcdef	19,24a
1x7	521236/531375-1	28,29a	2,31cde	19,16a	24,16ab	2,48ef	16,20a	26,23a	2,40def	17,68a
2x3	2628411/I31113-01-1-4-1	32,89a	6,53a	18,87a	25,53ab	5,02ab	14,77a	29,21a	5,78a	16,82a
2x4	2628411/56800.79	26,38a	3,93bcd	15,33a	27,09ab	4,21abc	16,06a	26,74a	4,07abcd	15,69a
2x5	2628411/L57500.07	29,32a	4,14bc	19,20a	24,09ab	2,89cdef	15,54a	26,71a	3,52bcde	17,37a
2x6	2628411/521550	29,44a	2,47cde	20,43a	23,58ab	2,32ef	15,52a	26,51a	2,39def	17,97a
2x7	2628411/531375-1	29,32a	3,55bcde	20,00a	24,59ab	2,93cdef	16,52a	26,95a	3,24bcdef	18,26a
3x4	I31113/56800.79	26,39a	4,68ab	14,17a	21,52ab	4,25abc	11,03a	23,95a	4,46abc	12,60a
3x5	I31113/L57500.07	30,65a	3,91bcd	19,05a	33,40a	5,30a	18,99a	32,02a	4,61ab	19,02a
3x6	I31113/521550	25,90a	2,51bcde	15,99a	30,04ab	3,32cde	19,37a	27,97a	2,92bcdef	17,68a
3x7	I31113/531375-1	28,48	3,31bcde	18,61a	28,53ab	3,62bcde	18,58a	28,51a	3,47bcde	18,60a
4x5	56800.79/L57500.07	27,62a	2,89bcde	18,03a	25,91ab	3,01cdef	16,62a	26,77a	2,95bcdef	17,32a
4x6	56800.79/521550	25,53a	2,58bcde	15,39a	21,65ab	2,57ef	12,78a	23,59a	2,57def	14,09a
4x7	56800.79/531375-1	22,24a	2,73bcde	13,35a	19,17b	2,57ef	11,78a	20,70a	2,65def	12,56a
5x6	L57500.07/521550	29,58a	1,77de	20,73a	28,73ab	2,36ef	20,41a	26,16a	2,07ef	20,57a
5x7	L57500.07/531375-1	29,39a	3,28bcde	20,66a	27,71ab	3,66bcde	18,97a	28,55a	3,47bcde	19,81a

“...continua...”

“TABELA 18, cont.”

Híbrido	Pedigree	Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		CT	Luteína	Zeaxantina	CT	Luteína	Zexantina	CT	Luteína	Zeaxantina
6x7	521550/531375-1	30,73a	2,59bcde	21,88a	25,88ab	2,66ef	17,70a	28,31a	2,62def	19,79a
	561454	24,98a	2,90bcde	15,00a	18,55b	2,72def	11,00a	21,76a	2,81cdef	13,00a
	BRS 1035	26,73a	2,71bcde	16,62a	22,04ab	2,59ef	13,96a	24,38a	2,65def	15,29a
	BRS 1040 5	23,43a	2,51bcde	14,82a	20,74ab	2,41ef	12,58a	22,08a	2,46def	13,70a
	CMS2C17EC	22,70a	1,54e	15,87a	20,12b	1,79f	13,95a	21,41a	1,66f	14,91a
	Média	27,91	3,14	17,86	25,44	3,18	16,17	26,68	3,16	17,02
	Mínimo	22,24	1,54	13,35	18,55	1,79	11,01	20,70	1,66	12,56
	Máximo	32,89	6,53	21,88	33,40	5,30	20,41	32,02	5,78	20,57

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para a zeaxantina, foi observada média de 17,02 $\mu\text{g/g}$, numa amplitude de 12,56 a 20,57 $\mu\text{g/g}$. Berardo et al. (2004) apresentam valores médios de 20,83 $\mu\text{g/g}$ e Egesel et al. (2003), valores com amplitude de 9,9 a 30,7 $\mu\text{g/g}$ e média de 16,3 $\mu\text{g/g}$.

As estimativas médias com base em médias dos dois ambientes mostram que a combinação híbrida 3x5 apresentou melhor média para carotenoides totais, a combinação 2x3 para luteína e a 5x6 para zeaxantina (Tabela 18).

O coeficiente de determinação medido nos caracteres oscilou de 62,95 % a 93,36% (Tabela 17).

Pela análise dialélica (Tabela 19) verifica-se, de maneira geral, que o componente associado ao efeito da capacidade geral de combinação demonstrou ser de maior importância para os três caracteres, ao apresentar diferenças altamente significativas ($P < 0,01$). Assim, pode-se inferir que pelo menos uma das sete linhagens difere das demais, no que concerne à concentração de alelos favoráveis para os teores de carotenoides totais, luteína e zeaxantina. Desse modo, pode-se esperar que a performance dos híbridos seja determinada, principalmente, nos componentes aditivos. Os componentes não aditivos, associados aos efeitos da capacidade específica, não apresentaram comportamento diferencial para os carotenoides totais e zeaxantina e comportamento diferencial ($p < 0,05$) para a luteína. Resultado da contribuição relativa similar foi reportado por Egesel et al. (2003), com proporção variando de 72% a 87%.

TABELA 19 Resultado da análise de variância individual e conjunta, envolvendo 21 combinações híbridas em dois ambientes.

FV	GL	Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		CT	Luteína	Zexantina	CT	Luteína	Zexantina	CT	Luteína	Zexantina
Tratamento	20	11,97ns	2,12**	10,68ns	23,47*	1,44**	14,10*	26,20*	3,11**	20,34**
CGC	6	21,53ns	4,89**	26,88**	47,26**	3,60**	30,64**	62,11**	7,86**	54,58**
CEC	14	7,87ns	0,94**	3,73ns	13,28ns	0,51**	7,01ns	10,81ns	1,08*	5,67ns
Ambiente	1	97,88	0,06	47,19
TratxAmb	20	9,24ns	0,44*	4,43ns
CGCxAmb	6	6,68ns	0,63*	2,94ns
CECxAmb	14	10,34ns	0,37ns	5,07ns
Resíduo	24/48	9,19	0,28	5,48	10,22	0,13	5,49	9,71	0,21	5,48

*e** significativos a 1% e a 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F ; ns: não significativo pelo teste F.

O potencial genético de cada genitor para os três caracteres foi estimado e o resultado está apresentado na tabela 20.

Entre as linhagens usadas como genitoras, valores aditivos positivos para o caráter luteína em todos os ambientes foram apresentados pelas linhagens 2 e 3. Estas linhagens tem maiores concentrações de alelos favoráveis para os estes caracteres.

Interessa salientar que, as linhagens 1, 3 e 6 em todos os carotenóides com a exceção da 3 que não apresentou em zeaxantina. Portanto, mais uma vez, estes constituem genitores de cinco híbridos (1x2, 1x3, 3x7, 4x7, 5x6) que não diferiram em produtividade com três testemunhas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 20 Estimativas da capacidade geral de combinação por ambiente para os caracteres Carotenóides total (CT), luteína e zeaxantina.

Linhagem	Pedigree	Goiânia			Sete lagoas			Conjunta		
		CT	Luteína	Zeaxantina	CT	Luteína	Zeaxantina	CT	Luteína	Zeaxantina
1	521236	0,936a	-0,346b	0,552ab	1,753a	-0,140ab	1,473a	1,34a	-0,24bc	1,012a
2	2628411-8-2	0,739a	0,884a	0,340ab	-0,799a	0,162ab	-0,562ab	-0,03a	0,52ab	-0,111a
3	l31113-01-1-4-1	0,912a	0,962a	-0,839ab	2,161a	1,141a	0,065ab	1,537a	1,05a	-0,387a
4	L57500.076800.79	-3,097a	0,089ab	-3,317b	-3,526a	-0,023b	-3,419b	-3,31a	0,03bc	-3,368a
5	L57500.07	0,788a	-0,276b	1,633a	2,166a	0,0717b	1,892a	1,477a	-0,10bc	1,762a
6	521550	0,315a	-0,938b	0,858ab	-0,069a	-0,796a	0,762ab	0,123a	-0,87c	0,81a
7	531375-1	-0,593a	-0,376b	0,774ab	-1,685a	-0,415b	-0,211ab	-1,14a	-0,39c	0,282a

Valores seguidos pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de Probabilidade.

O genitor 3 apresentou alta concentração de alelos favoráveis em todos os ambientes para luteína. A combinação 2x3 apresentou melhor complementaridade em Goiânia e no conjunto dos ambientes. Apesar de os genitores 1, 5, 6 e 7 apresentarem CGC negativa, as combinações 1x6 e 5x7 apresentaram uma boa complementaridade em todos os ambientes.

TABELA 21 Estimativas da capacidade específica de combinação para o caráter luteína.

Híbrido	Pedigree	Goiânia	Sete Lagoas	Conjunta
1x2	521236/2628411-8-2	-0,3491cde	0,0831abcdef	-0,133bcdef
1x3	521236/I31113-01-1-1-4-1	-0,369cde	-0,1479bcdef	-0,258def
1x4	521236/56800.79	0,277bcde	0,0984abcde	0,188abcdef
1x5	521236/L57500.07	-0,379cde	-0,1356bcdef	-0,257def
1x6	521236/521550	1,0636ab	0,3939abc	0,729ab
1x7	521236/531375-1	-0,2437cde	-0,2921cdef	-0,268def
2x3	2628411/I31113-01-1-1-4-1	1,4083a	0,3876abcd	0,898a
2x4	2628411/56800.79	-0,323cde	0,7357a	0,206abcdef
2x5	2628411/L57500.07	0,2576bcde	-0,6741f	-0,208cdef
2x6	2628411/521550	-0,7589de	-0,3815ef	-0,57f
2x7	2628411/531375-1	-0,2351cde	-0,151bcdef	-0,193cdef
3x4	I31113/56800.79	0,3503abcd	-0,2022bcdef	0,074abcdef
3x5	I31113/L57500.07	-0,0491bcde	0,7582a	0,355abcde
3x6	I31113/521550	-0,7912e	-0,3548cdef	-0,573f
3x7	I31113/531375-1	-0,5494de	-0,4412ef	-0,495ef
4x5	56800.79/L57500.07	-0,1968cde	-0,3683def	-0,283def
4x6	56800.79/521550	0,1524bcde	0,0539abcdef	0,103abcdef
4x7	56800.79/531375-1	-0,2601cde	-0,3178cdef	-0,289def
5x6	L57500.07/521550	-0,2935cde	-0,247cdef	-0,27def
5x7	L57500.07/531375-1	0,6607abc	0,6666a	0,664abc
6x7	521550/531375-1	0,6274abc	0,5353ab	0,581abcd

Valores seguidos pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.4 Produtividade de grãos

As análises de variância individual e conjunta dos quatro ambientes para o caráter produtividade de grãos encontram-se na Tabela 22.

TABELA 22 Resumo de análise de variância do caráter produtividade de grãos, em quatro ambientes, no ano agrícola de 2007/08 e na safrinha 2008.

FV	GL	QM				
		Goiânia	Londrina	Sete Lagoas	Londrina Safrinha	Conjunta
Blocos/ambiente	1/4 ¹	0,06	0,27	4,81	0,10	1,31
Tratamentos (Tr)	24	5,69**	7,64**	6,12**	4,30*	14,03**
Genótipos (G)	20	5,29**	6,30**	6,27**	3,86ns	11,84**
Testemunha (T)	3	8,91**	7,69**	6,51**	5,08ns	20,26**
Grupos (Gr)	1	4,14ns	34,27**	1,90ns	10,65*	39,26**
Ambientes (A)	3	70,41**
TrxA	72	3,24**
GxA	60	3,30**
TxA	9	2,65ns
GrxA	3	3,90*
Resíduo	24/96 ²	1,32	1,04	1,20	2,18	1,43
Média geral	.	6,72	8,59	7,35	9,34	8,00
Média dos genótipos	.	6,59	8,23	7,26	9,14	7,81
Média das testemunhas	.	7,38	10,49	7,80	10,40	9,02
CV	.	17,08	11,89	14,91	15,80	14,93
CVg	.	21,37	19,69	21,92	10,04	14,61
CVg/Cve	.	1,23	1,59	1,45	0,62	0,95
Coef.de determinação	87,87

¹ 1 Corresponde a graus de liberdade da análise individual (Blocos) e 2 da análise conjunta (Blocos/ambiente); ²24 correspondem a GL do resíduo da análise individual e 96 da análise conjunta; * e ** significativos a 1% e a 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F; ns: não significativo, pelo teste F.

Nas análises de variância individuais para a produtividade de grãos, foram detectadas diferenças altamente significativas ($P < 0,01$) entre os tratamentos, por meio do teste F , em Goiânia, Londrina e Sete Lagoas, e diferenças significativas ($P < 0,05$) em Londrina.

Esses resultados demonstram a existência de variabilidade genética entre os tratamentos utilizados nos cruzamentos dialélicos. O parâmetro utilizado para quantificar a variabilidade genética na população (CV_g/CV_e) foi superior a 1 em Goiânia, Londrina e Sete Lagoas, indicando boa variabilidade para o caráter.

A precisão experimental medida pelos coeficientes de variação experimental ($CV\%$) variou de 11,89%, em Londrina a 17,08%, em Goiânia. Segundo Pimental-Gomes & Garcia (2002), esses valores podem ser considerados médios.

O modelo é suficiente para explicar a variação da produtividade de grãos, pois 87,94% da variação observada pode ser explicada pelo modelo.

A relação entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo foi de 2,08, evidenciando a existência de homogeneidade das estimativas variâncias residuais.

Pela análise de variância conjunta, verificou-se que há comportamento diferencial na resposta, tanto de combinações híbridas como de testemunhas avaliadas, mostrando a existência da variabilidade genética dos tratamentos para o caráter produtividade de grãos.

Verificou-se efeito significativo para ambiente, a 1% de probabilidade, pelo teste de F , demonstrando diferença entre os ambientes nos quais foram conduzidos os ensaios (Tabela 22). Para tal, foi realizado um estudo mais apropriado, a partir de análises de estabilidade e adaptabilidade e, nessa análise, o comportamento dos tratamentos, diante das variações ambientais, é

pormenorizado. Verifica-se que Goiânia foi o ambiente menos favorável e Londrina safrinha o mais favorável para o caráter (Tabela 23).

TABELA 23 Caracterização dos ambientes de avaliação dos dialelos.

Ambiente	Índice ambiental
Goiânia	-1,21591
Londrina	0,426161
Sete Lagoas	-0,54355
Londrina safrinha	1,333304

Alguns dados encontrados na literatura, considerando genótipos diferentes e mais ambientes apontam Goiânia e Sete Lagoas como sendo, em média, ambientes favoráveis no caráter produtividade do grão, atingindo valores médios acima de 7,00 t/ha (Gama et al., 2000).

Foram observadas diferenças significativas na interação genótipos por ambientes (Tabela 7), indicando um comportamento diferencial diante das variações ambientais.

Para complementar o estudo da análise de variância, foi feito o teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Tabela 24). Foi observada amplitude de variação maior entre os ambientes; mínimo de 0,96 t/ha em Goiânia, máximo de 12,78 t/ha em Sete Lagoas e média geral de 8,00 t/ha. O híbrido BRS 1040 e 1x2 ficaram posicionados no grupo dos mais produtivos, enquanto o híbrido 3x5, no de menor produtividade.

TABELA 24 Produtividade média do grão (t/ha) em quatro ambientes conduzidos no ano agrícola 2007/08.

Híbrid	Pedigree	Goiânia	Londrina	Sete Lagoas	Londrina safrinha	Conjunta
1x2	521236/2628411-8-2	7,51ab	9,61abc	9,74a	12,34ab	9,80ab
1x3	521236/I31113-01-1-1-4-1	8,54ab	9,99ab	7,63ab	9,76ab	8,98bc
1x4	521236/56800.79	6,71ab	8,50bc	7,08ab	9,32ab	7,90bcd
1x5	521236/L57500.07	6,68ab	5,69cd	9,54a	10,17ab	8,02bcd
1x6	521236/521550	7,58ab	9,12abc	8,64a	10,04ab	8,85bcd
1x7	521236/531375-1	8,13ab	9,09abc	8,53a	8,78ab	8,63bcd
2x3	2628411/I31113-01-1-1-4-1	7,13ab	8,08bc	6,90abc	9,22ab	7,83bcd
2x4	2628411/56800.79	6,43ab	8,12bc	6,67abc	7,95ab	7,29cd
2x5	2628411/L57500.07	5,70ab	8,31bc	3,44bc	9,18ab	6,66d
2x6	2628411/521550	8,52ab	7,33bc	7,28ab	6,41b	7,38cd
2x7	2628411/531375-1	5,74ab	8,46bc	7,44ab	9,23ab	7,72bcd
3x4	I31113/56800.79	6,28ab	7,29bc	6,34abc	9,61ab	7,38cd
3x5	I31113/L57500.07	0,96c	2,26bc	2,47c	8,54ab	3,56e
3x6	I31113/521550	6,01ab	7,91bc	6,74abc	6,50b	6,79cd
3x7	I31113/531375-1	6,52ab	8,29bc	6,38abc	10,11ab	7,82bcd
4x5	56800.79/L57500.07	6,96ab	7,94bc	7,46ab	10,53ab	8,22bcd
4x6	56800.79/521550	7,09ab	7,86c	7,77ab	9,19ab	7,98bcd
4x7	56800.79/531375-1	6,48ab	10,81ab	8,68a	8,98ab	8,74bcd
5x6	L57500.07/521550	6,18ab	8,61abc	9,44a	7,94ab	8,04bcd
5x7	L57500.07/531375-1	4,81abc	9,37abc	7,79ab	10,69ab	8,16bcd
6x7	521550/531375-1	8,45ab	10,27ab	6,58abc	7,49ab	8,20bcd
	561454	7,99ab	7,98bc	7,62ab	9,49ab	8,27bcd
	BRS 1035	7,54ab	10,94ab	6,43abc	9,57ab	8,62bcd
	BRS 1040	9,50a	12,73a	10,40a	12,78a	11,35a
	CMS2C17EC	4,47bc	10,32ab	6,74abc	9,76ab	7,82bcd
Média geral		6,72	8,59	7,35	9,34	8,00
Mínimo		0,96	2,26	2,47	6,41	3,56
Máximo		9,50	12,73	10,40	12,78	11,35

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Pela análise dialélica (Tabela 25) observa-se que, excluindo o ambiente de Londrina safrinha, os componentes aditivos associados aos efeitos de capacidade de combinação e os componentes não-aditivos associados à

capacidade específica de combinação demonstraram, simultaneamente, ser importantes, apresentando comportamento diferencial ($p < 0,01$), indicando que a resposta das combinações híbridas pode ser atribuída, simultaneamente, aos componentes genéticos aditivos e não aditivos (Tabela 25).

Como CGC acusa diferenças significativas, pode se inferir que pelo menos uma das sete linhagens difere das demais, no que concerne à concentração de alelos favoráveis para o caráter produtividade de grãos. Pelo CEC, pode-se inferir que as linhagens para o caráter produtividade de grãos apresentaram um grau de complementaridade apreciável entre as linhagens, em relação à frequência de alelos favoráveis.

TABELA 25 Resultado da análise de variância individual e conjunta do dialelo envolvendo híbridos oriundos de sete genitores para o caráter produtividade do grão em quatro ambientes.

FV	GL	QM				
		Goiânia	Londrina	Sete Lagoas	Londrina safrinha	Conjunta
Tratamento (Tr)	20	5,29**	6,30**	6,27**	3,86ns	11,83**
C.G.C.	6	9,14**	9,46**	9,07**	6,07ns	19,34**
C.E.C.	14	3,63*	4,95**	5,07**	2,91ns	8,62**
Ambiente (A)	3	52,26
Tr X A	60	3,30**
CGC X A	18	4,80**
CEC X A	42	2,65**
Resíduo	24/48 ¹	1,32	1,04	1,20	2,18	1,43

¹24 GL por ambiente e 48 GL da conjunta * e** significativos a 1% e a 5 % de probabilidade, respectivamente, pelo teste F; ns: não significativo, pelo teste F.

Para complementar essa informação, foi calculada a contribuição da capacidade geral de combinação e da capacidade específica de combinação e verificou-se que tanto os componentes aditivos como os não aditivos são igualmente importantes na manifestação do caráter (Tabela 26).

Machado (2007) teria observado maior importância dos componentes não aditivos sobre os aditivos.

Tanto os efeitos da CGC quanto os da CEC apresentaram interação significativa com ambientes, indicando que houve alteração no valor relativo desses efeitos em função dos ambientes (Tabela 10).

TABELA 26 Contribuição relativa da capacidade geral e específica de combinação do caráter produtividade de grãos.

	Goiânia	Londrina	Sete Lagoas	Londrina safrinha	Conjunta
□CGC	0,7828	0,8461	0,7869	0,3892	0,340081
□CEC	11,569	19,754	19,36	0,3686	0,359943
%□CGC	40,36	29,99	28,90	51,36	48,58
%□CEC	59,64	70,01	71,10	48,64	51,42

O potencial genético de cada genitor pode ser avaliado pelas estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação apresentadas na Tabela 27. Entre as sete linhagens utilizadas como genitoras, a linhagem 1 apresenta, em média, maior concentração de alelos favoráveis para o caráter.

TABELA 27 Estimativas da capacidade geral de combinação para o caráter produtividade de grão nos quatro ambientes.

Linhagem	Pedigree	Sete			Londrina	
		Goiânia	Londrina	Lagoas	Safrinha	Conjunta
1	521236	1,119a	0,522a	1,515a	1,113a	1,067a
2	2628411-8-2	0,296ab	0,100a	-0,42ab	-0,104a	-0,033a
3	131113-01-1-4-1	-0,82ab	-1,116ab	-1,423b	-0,225a	-0,896a
4	56800.79	0,079ab	0,223ab	0,083ab	0,149a	0,134a
5	L57500.07	-1,651b	-1,445b	-0,688b	0,439a	-0,836a
6	521550	0,855ab	0,341ab	0,574ab	-1,456a	0,078a
7	531375-1	0,120ab	1,376a	0,363ab	0,083a	0,486a

Valores seguidos pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As combinações específicas refletem o grau de complementaridade entre dois genitores. Assim, interessam as combinações híbridas com estimativas da capacidade específica de combinação mais favoráveis e que envolvam pelo menos um dos genitores com elevada capacidade geral de combinação para o caráter. Nesse sentido, podem-se destacar as combinações híbridas: 1x3 e 1x2.

Apesar de os genitores 2 e 3 apresentarem efeito médio negativo para a CGC, sua combinação híbrida mostrou efeito específico de combinação positiva, indicando que ocorreu complementaridade gênica. Esse híbrido 2x3 apresentou bom desempenho médio (Tabela 24), fazendo parte do mesmo grupo de três híbridos testemunhas (561454, BRS 1035 e CMS2C17EC).

As combinações híbridas 1x2, 1x3, 3x7, 4x7 e 5x6, que apresentam boa capacidade específica de combinação (Tabela 28), estão no mesmo grupo com três testemunhas, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Tabela 24).

Dois genitores (4 e 6) que apresentaram boa CGC participaram também da formação dos melhores híbridos. Do genitor 6, o híbrido 5x6 do genitor 4 o

híbrido 4x5 apresentaram efeito positivo na CEC no conjunto dos ambientes avaliados, indicando que esses genitores podem ter bom desempenho devido ao bom potencial genético aditivo e à boa complementaridade gênica com os demais genitores.

Em geral, pode-se verificar que os híbridos 1x2, 1x3, 2x3, 3x4, 3x7, 4x5,4x7, 5x6 e 5x7 apresentaram bom desempenho. Os híbridos 1x2 e 1x3 têm seu bom desempenho fundamentado na complementação gênica do alto CGC da linhagem 1.

O híbrido 5x7 apresentou bom desempenho, devido à boa CGC das duas linhagens.

TABELA 28 Estimativas da capacidade geral de combinação para a produtividade de grãos nos quatro ambientes avaliados.

Híbrido	Pedigree	Goiânia	Londrina	Sete		Londrina	Conjunta
				Lagoas	Safrinha		
1x2	521236/2628411-8-2	-0,501bc	0,752abcdef	1,385ab	2,195a	0,958a	
1x3	521236/I31113-01-1-1-4-1	1,653ab	2,353a	0,277abc	-0,273a	1,002a	
1x4	521236/56800.79	-1,085cd	-0,474bcdef	-1,782cd	-1,08a	-1,105ab	
1x5	521236/L57500.07	0,618abc	-1,622gh	1,448ab	-0,526a	-0,02a	
1x6	521236/521550	-0,987cd	0,028bcdefg	-0,718bcd	1,245a	-0,108a	
1x7	521236/531375-1	0,303abc	-1,038defg	-0,61bcd	-1,561a	-0,727ab	
2x3	2628411/I31113-01-1-4-1	1,063abc	0,861abcde	1,482ab	0,403a	0,952a	
2x4	2628411/56800.79	-0,536bc	-0,441bcdefg	-0,258bc	-1,233a	-0,617ab	
2x5	2628411/L57500.07	0,464abc	1,425ab	-2,708d	-0,295a	-0,279ab	
2x6	2628411/521550	0,775abc	-1,347fgh	-0,135bc	-1,175a	-0,47ab	
2x7	2628411/531375-1	-1,264cd	-1,251efg	0,235abc	0,105a	-0,544ab	
3x4	I31113/56800.79	0,431abc	-0,05bcdefg	0,416abc	0,546a	0,336a	
3x5	I31113/L57500.07	-3,157d	-3,408h	-2,679d	-0,819a	-2,516b	
3x6	I31113/521550	-0,62bc	0,452bcdefg	0,329abc	-0,963a	-0,2ab	
3x7	I31113/531375-1	0,631abc	-0,208bcdefgh	0,175abc	1,106a	0,426a	
4x5	56800.79/L57500.07	1,939 ^a	0,924abcd	0,801ab	0,803a	1,117a	
4x6	56800.79/521550	-0,439abc	-0,935cdefg	-0,149bc	1,358a	-0,041a	
4x7	56800.79/531375-1	-0,31abc	0,975abcd	0,973ab	-0,395a	0,311a	
5x6	L57500.07/521550	0,384abc	1,479ab	2,291a	-0,187a	0,992a	
5x7	L57500.07/531375-1	-0,247abc	1,201abc	0,846ab	1,024a	0,706a	
6x7	521550/531375-1	0,888abc	0,322bcdefg	-1,618cd	-0,279a	-0,172a	

Valores seguidos pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A resposta média em todos os ambientes dado pelo coeficiente de regressão (β_1) é descrito na TABELA 29.

As combinações híbridas 1x2, 2x5, 3x5, 3x7 e 5x7 podem ser consideradas favoráveis ao ambiente.

Para o híbrido 1x2 a sua boa adaptabilidade pode estar condicionada à capacidade específica de combinação. Para os híbridos 3x5, 3x7 e 5x7 a adaptabilidade pode estar condicionada à capacidade geral das duas linhagens envolvidas e à capacidade específica de combinação em simultâneo. Para o híbrido 2x5 a boa adaptabilidade pode estar condicionada à capacidade geral de combinação da linhagem 2 e à capacidade específica de combinação.

TABELA 29 Decomposição do estimador β_1 em componentes de natureza genética aditiva e não aditiva.

	Pedigree	β_1	$\beta_1(m)$	$\beta_1(cgci)$	$\beta_1(cgcj)$	$\beta_1(cecij)$
1x2	521236/2628411-8-2	1,642ab	1	-0,12817	-0,06066	0,831018
1x3	521236/I31113-01-1-1-4-1	0,731abc	1	-0,12817	0,266187	-0,40753
1x4	521236/56800.79	1,086abc	1	-0,12817	0,040859	0,172896
1x5	521236/L57500.07	0,717abc	1	-0,12817	0,629798	-0,78504
1x6	521236/521550	0,903abc	1	-0,12817	-0,84296	0,874
1x7	521236/531375-1	0,281bc	1	-0,12817	0,094946	-0,68583
2x3	2628411/I31113-01-1-1-4-1	0,886abc	1	-0,06066	0,266187	-0,31952
2x4	2628411/56800.79	0,7014abc	1	-0,06066	0,040859	-0,27876
2x5	2628411/L57500.07	1,869ab	1	-0,06066	0,629798	0,300522
2x6	2628411/521550	-0,709c	1	-0,06066	-0,84296	-0,80585
2x7	2628411/531375-1	1,306abc	1	-0,06066	0,094946	0,272109
3x4	I31113/56800.79	1,295abc	1	0,266187	0,040859	-0,01176
3x5	I31113/L57500.07	2,633a	1	0,266187	0,629798	0,736696
3x6	I31113/521550	0,285bc	1	0,266187	-0,84296	-0,13848
3x7	I31113/531375-1	1,50ab	1	0,266187	0,094946	0,140105
4x5	56800.79/L57500.07	1,315abc	1	0,040859	0,629798	-0,35578
4x6	56800.79/521550	0,741abc	1	0,040859	-0,84296	0,543081
4x7	56800.79/531375-1	1,066abc	1	0,040859	0,094946	-0,07016
5x6	L57500.07/521550	0,430bc	1	0,629798	-0,84296	-0,3567
5x7	L57500.07/531375-1	2,185ab	1	0,629798	0,094946	0,59821
6x7	521550/531375-1	0,136bc	1	-0,84296	0,094946	-0,11653

Valores seguidos pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.5 Potencial genético para o melhoramento

Para se obter materiais genéticos realmente superiores, é necessário que o material selecionado reúna, simultaneamente, uma série de atributos favoráveis.

Uma maneira de aumentar a chance de êxito de um programa de melhoramento é por meio de seleção simultânea de um conjunto de caracteres de importância econômica.

Um resumo da capacidade geral de combinação dos oito caracteres avaliados é apresentado na Tabela 30. Os valores observados mostram a variabilidade existente entre os genitores, contribuindo, assim, diferentemente, para a manifestação do caráter. Isso pode ser indicativo de que a seleção pela CGC pode êxito.

Para os carotenoides, a ação aditiva dominou o controle dos caracteres e, para a produtividade de grãos, tanto a ação aditiva como a não aditiva contribuíram simultaneamente no controle do caráter.

Nos oito caracteres estudados, a linhagem 1 apresentou valor aditivo positivo em 62,25% das estimativas totais; a linhagem 3 apresentou valor aditivo positivo em 62,25% das estimativas totais e a linhagem 6 apresentou valor aditivo positivo em 75% das estimativas totais. Portanto, estas linhagens (1, 3 e 6) constituem genitoras das combinações híbridas que se apresentaram nos melhores grupos em seis dos oito caracteres, indicando que, além de apresentarem boa CGC, também apresentaram boa complementaridade com outras linhagens. Isto é indicativo de maiores concentrações de alelos favoráveis na maioria dos caracteres estudados.

TABELA 30 Capacidade geral de combinação de Produtividade do grão (Prod), provitamina A (Provit A), β -caroteno (BC), β -criptoxantina (Bcrip), α -caroteno (AC), zeaxantina (Zeaxa), luteína (Lut) e carotenóides totais (CT).

Linhagem	Pedigree	Provit A	BC	Bcrip	AC	Zeaxa	Lut	CT	Prod
1	521236	0,195ab	-0,184ab	0,769a	-0,010b	1,012a	-0,243bc	1,344a	1,067a
2	2628411-8-2	-0,270ab	-0,097ab	-0,341ab	-0,003b	-0,111a	0,523ab	-0,030a	-0,033a
3	131113-01-1-4-1	0,664a	0,455ab	0,423ab	-0,005b	-0,387a	1,052a	1,537a	-0,896a
4	56800.79	-0,026ab	-0,076ab	0,098ab	0,002a	-0,368a	0,033b	-3,312a	0,134a
5	L57500.07	-0,055ab	0,073ab	-0,261b	0,005b	1,762a	-0,102bc	1,477a	-0,836a
6	521550	0,280ab	0,380a	-0,219b	0,018a	0,810a	-0,867c	0,122a	0,078a
7	531375-1	-0,788b	-0,550b	-0,468b	-0,007ab	0,282a	-0,396c	-1,139a	0,486a

Valores seguidos pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As médias da análise conjunta de todos os caracteres avaliados encontram-se na Tabela 31.

As estimativas médias indicam que a combinação híbrida 3x5 ficou posicionada no grupo dos que apresentaram maiores teores de provitamina A, alcançando 6,74 µg/g de total de carotenoides com atividade provitamina A. Porém, essa combinação apresentou baixa produtividade de grãos (3,56 t/ha). A combinação híbrida com maior produtividade de grãos (9,80 t/ha) apresentou 5,17 µg/g de totais de carotenoides provitamina A.

Resultados reportando parâmetros genéticos para carotenoides de grãos são escassos na literatura.

No dialelo sobre carotenoides em grãos de milho, o primeiro, e até então o único, apresentado por Egesel et al. (2003) foram observadas as seguintes variações: 1,05 a 4,2 µg/g e média de 2,15 µg/g no primeiro ano e 1,60 a 4,05 µg/g e média de 3,55µg/g no segundo ano da avaliação.

As médias de provitamina A apresentadas neste estudo tendem a ser superiores (2,15 µg/g vs 5,24 µg/g e 3,55 µg/g vs 5,24 µg/g). Quando se compara com carotenoides totais, pode-se observar que as médias apresentadas por Egesel et al. (2003) tendem a ser superiores (27,91 µg/g vs 28,3 µg/g e 27,91 µg/g vs 35,4 µg/g). Isso pode ser indicativo de uma tendência de o germoplasma utilizado no presente estudo apresentar maior porção de total de carotenoides com atividade provitamina A em carotenoides totais, na comparação com o resultado apresentados no primeiro dialelo.

Zeaxantina foi o carotenoide que apresentou a média superior a 50% (63,84%) do total de carotenoides. Resultado similar havia sido reportado por Egesel et al. (2003).

TABELA 31 Médias de teores de provitamina A (Provit. A), β -caroteno (BC), β -criptoxantina (Bcript), α -caroteno (AC), carotenoides totais (CT), luteína, zeaxantina e produtividade de grãos.

Híbrido	Pedigree	Provit. A	BC	Bcript	AC	CT	Luteína	Zexantina	Prod
1x2	521236/2628411-8-2	5,17abc	3,74abcd	2,83ab	0,037de	28,68a	3,45bcde	18,63a	9,80ab
1x3	521236/I31113-01-1-1-4-1	6,50ab	4,52abc	3,92a	0,039de	30,97a	3,85bcd	18,64a	8,98bc
1x4	521236/56800.79	5,50abc	3,82abcd	3,31ab	0,042de	26,64a	3,28bcdef	16,18a	7,90bcd
1x5	521236/L57500.07	5,23abc	4,03abcd	2,36ab	0,043de	29,13a	2,70cdef	19,99a	8,02bcd
1x6	521236/521550	6,11abc	4,36abc	3,46ab	0,049bcde	30,03a	2,92bcdef	19,24a	8,85bcd
1x7	521236/531375-1	4,79abc	3,44abcd	2,68ab	0,028e	26,23a	2,40def	17,68a	8,63bcd
2x3	2628411/I31113-01-1-4-1	5,41abc	4,20abcd	2,38ab	0,031e	29,21a	5,78a	16,82a	7,83bcd
2x4	2628411/56800.79	5,72abc	4,47abc	2,46ab	0,040de	26,74a	4,07abcd	15,69a	7,29cd
2x5	2628411/L57500.07	4,86abc	3,91abcd	1,87b	0,045cde	26,71a	3,52bcde	17,37a	6,66d
2x6	2628411/521550	5,27abc	4,40abc	1,67b	0,071ab	26,51a	2,39def	17,97a	7,38cd
2x7	2628411/531375-1	4,54abc	3,62abcd	1,79b	0,045cde	26,95a	3,24bcdef	18,26a	7,72bcd
3x4	I31113/56800.79	5,57abc	4,25abcd	2,60ab	0,040de	23,95a	4,46abc	12,60a	7,38cd
3x5	I31113/L57500.07	6,74a	5,09a	3,24ab	0,049bcde	32,02a	4,61ab	19,02a	3,56e
3x6	I31113/521550	6,13ab	4,89ab	2,42ab	0,057abcd	27,97a	2,92bcdef	17,68a	6,79cd
3x7	I31113/531375-1	5,30abc	4,16abcd	2,25ab	0,044de	28,51a	3,47bcde	18,60a	7,82bcd
4x5	56800.79/L57500.07	5,24abc	3,99abcd	2,44ab	0,057abcd	26,77a	2,95bcdef	17,32a	8,22bcd
4x6	56800.79/521550	5,65abc	4,37abc	2,48ab	0,069abc	23,59a	2,57def	14,09a	7,98bcd
4x7	56800.79/531375-1	4,52abc	3,55abcd	1,89b	0,047bcde	20,70a	2,65def	12,56a	8,74bcd
5x6	L57500.07/521550	5,65abc	4,78ab	1,66b	0,081a	26,16a	2,07ef	20,57a	8,04bcd

“...Continua...”

“TABELA 31, cont.”

Híbrido	Pedigree	Provit. A	BC	Bcript	AC	CT	Luteína	Zexantina	Prod
5x7	L57500.07/531375-1	4,33bc	3,39bcd	1,84b	0,037de	28,55a	3,47bcde	19,81a	8,16bcd
6x7	521550/531375-1	4,91abc	3,92abcd	1,92b	0,052bcde	28,31a	2,62def	19,79a	8,20bcd
	561454	4,64abc	3,33bcd	2,58ab	0,040de	21,76a	2,81cdef	13,00a	8,27bcd
	BRS 1035	4,99abc	3,54abcd	2,87ab	0,036de	24,38a	2,65def	15,29a	8,62bcd
	BRS 1040	4,49abc	3,06cd	2,83ab	0,036de	22,08a	2,46def	13,70a	11,35a
	CMS2C17EC	3,76c	2,68d	2,13ab	0,028e	21,41a	1,66f	14,91a	7,82bcd
	Média	5,24	3,98	2,47	0,05	26,68	3,16	17,02	8,00
	Mínimo	3,76	2,68	1,66	0,03	20,70	1,66	12,56	3,56
	Máximo	6,74	5,09	3,92	0,08	32,02	5,78	20,57	11,35

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5 CONCLUSÕES

Em todos os carotenoides avaliados, os efeitos aditivos foram mais importantes no controle dos caracteres. Mas, para a produtividade de grãos, tanto os efeitos aditivos como os não aditivos foram simultaneamente importantes.

Os genitores utilizados na formação dos híbridos diferiram quanto à concentração de alelos favoráveis, para todos os caracteres. Diferiram também quanto à complementaridade no caráter produtividade de grãos.

Os genitores 521236, I31113-01-1-4-1 e 521550 apresentaram maior concentração de alelos favoráveis para teores de provitamina A. Para a produtividade de grãos, os genitores 521236, I31113-01-1-4-1 e L57500.07 apresentaram maior concentração de alelos favoráveis.

Os híbridos avaliados diferiram quanto à performance, em todos os caracteres avaliados.

O híbrido 521236/262811-8-2, para o caráter produtividade de grãos, apresentou boa média e estabilidade favorável aos ambientes de avaliação.

O híbrido 521236/I1113-01-1-4-1 combina boa produtividade de grãos e altos teores de provitamina A.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERARDO, N.; BRENNNA, O. V.; AMATO, A.; VALOTI, P.; PISACANE, V.; MOTTO, M. Carotenoids concentration among maize genotypes measured by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Netherlands, v. 5, p. 393-398, mar. 2004.

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma, 2002. 369 p.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 5. ed. Viçosa, MG: UFV, 2009. 529 p.

BUCKENER, B.; KELSON, T. L.; ROBERTSON, D. S. Cloning of the y1 locus of maize, a gene involved in the biosynthesis of carotenoids. **American Society of Plant Physiologists**, Lancaster, v. 2, p. 867-876, Sept. 1990.

CAMPOS, F. M.; ROSADO, G. P. Novos fatores de conversão de carotenóides provitaminicos A. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 571-578, jul./set. 2005.

CARDOSO, W. S.; PAES, M. C. D.; GALVÃO, J. C. C.; RIOS, S. de A.; GUIMARÃES, P. E. de O.; SHAFFERT, R. E.; BORÉM, A. Variabilidade de genótipos de milho quanto à composição de carotenóides nos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 2, p. 164-173, fev. 2009.

CHAVES, L. J. Interação de genótipos com ambientes. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C. de; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento-plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 673-713.

CHRISTOU, P.; TWYMAN, R. M. The potential of genetically enhanced plants to address food insecurity. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 17, p. 23-42, 2004.

CRUZ, C. D. **Programa GENES: biometria**. Viçosa, MG: UFV, 2006a. 285 p.

CRUZ, C. D. **Programa GENES**: estatística experimental e matrizes. Viçosa, MG: UFV, 2006b. 285 p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. v. 2, 585 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. v. 1, 480 p.

EGESEL, C. O.; WONG, R. J.; ROCHEFORD, T. R. Combining ability of maize hybrids for carotenoids and tocopherols. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 818-823, May/June 2003.

FORD, R. H. Inheritance of kernel color in corn: explanations and investigations. **The American Biology Teacher**, Reston, v. 6, n. 3, p. 181-188, mar. 2000.

GAMA, E. E. G. e; PARENTONI, S. N.; PACHECO, C. A. P.; OLIVEIRA, A. C. de; GUIMARÃES, P. E. de O.; SANTOS, M. X. dos. Estabilidade da produção de germoplasma de milho avaliado em diferentes regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 6, p. 1143-1149, jun. 2000.

GRIFFING, B. A. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 9, p. 463-493, 1956.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, O. D. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2 ed. Iowa: Iowa State University/Ames, 1988. 468 p.

HARJES, E. C.; ROCHEFORD, T. R.; BAI, L.; BRUTNELL, T. P.; KANDIANIS, C. B.; SOWINSKI, S. G.; STAPLETON, A. E.; VALLABHANENI, R.; WILLIAMS, M.; WURTTZEL, E. T.; YAN, J.; BUCKLER, E. S. Natural genetic in lycopene epsilon tapped for maize biofortification. **American Association for the Advancement of Science**, Philadelphia, v. 319, p. 330-333, jan. 2008.

- HARVESTPLUS. **Micronutrient malnutrition**: vitamin A. Disponível em: <<http://www.harvestplus.org/>>. Acesso em: 12 ago. 2008.
- KHUMALO, T. **Consumer acceptability and perception s of maize meal in Giyani, South Africa**. 2007. 106 p. Dissertation (Master in Consumer Science) - University of Pretória, Pretória.
- HOWITT, C. A.; POGSON, B. J. Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 29, p. 435-445, 2006.
- KURILICH, A. C.; JUVIK, J. A. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 47, p. 1948-1955, Apr. 1999.
- LI, F.; MURILLO, C.; WURTZEL, E. T. Maize y9 Encodes a product essential for 15-cis- ζ -carotene isomerization. **American Society of Plant Biologists**, Bethesda, v. 144, p. 1181-1189, jun. 2007.
- LONG, J. K.; BANZIGER, M.; SMITH, M. Diallel analysis of grain iron and zinc density in southern Africa-adapted maize inbreds. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 2019-2026, Nov./Dec. 2004.
- MACHADO, J. C. **Estabilidade de produção e da capacidade de combinação em híbridos de milho**. 2007. 68 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MALUF, M. P.; SAAB, I. N.; WURTZEL, E. T.; SACHS, M. M. The viviparous 12 maize mutant is deficient in abscisic acid, carotenoids, and chlorophyll synthesis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 48, n. 311, p. 1259-1268, 1997.
- MILAGRES, R. C. R. M.; NUNES, L. C.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. A deficiência de vitamina A em crianças no Brasil e no mundo. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 5, p. 1253-1266, set./out. 2007.
- MIRANDA FILHO, J. B.; GORGULHO, E. P. Cruzamentos com testadores e dialelos. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento-plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 650-671.

MUZHINGI, T.; LANGYINTUO, A. S.; MALABA, L. C.; BANZIGER, M. Consumer acceptability of yellow maize products in Zimbabwe. **Food Policy**, Guildford, v. 33, p. 352-361, Aug. 2008.

NAQVI, S.; ZHU, C.; FARRE, G.; RAMESSAR, K.; BASSIE, L.; BREITENBACH, J.; CONESA, D. P.; ROS, G.; SANDMANN, G.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P. Transgenic multivitamin corn through biofortification of endosperm with three vitamins representing three distinct metabolic pathways. **Applied biological sciences**. Davis: Early, 2009. p. 1-6.

NASCIMENTO, A. L.; SILVA, D. A.; ARRUDA, I. K. G. de. Deficiência de vitamina A em idosos do Programa de Saúde da Família de Camaragibe, PE, Brasil. **Archivos Latino-Americanos de Nutrition**, Caracas, v. 57, n.3, p. 213-218, ago. 2007.

NESTEL, P.; BOUIS, H. E.; MEENAKSHI, J.V.; PFEIFFER, W. Biofortification of staple food crops. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 136, p. 1064-1067, Apr. 2006.

PACHECO, C. A. P.; CRUZ, C. D.; SANTOS, M. X. dos. Association between Griffing's diallell and the adaptability and stability analyses of Eberhart na Russel. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 3, p. 421-456, 1999.

PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C. H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais**: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos. Piracicaba: FEALQ, 2002. v. 11, 309 p.

RAMALHO, M. A. P.; LAMBERT, E. de S. Biometria e o melhoramento de plantas na era da genômica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 2, p. 228-249, 2004.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. 4. ed. Lavras: UFLA, 2008. 463 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: aplicação ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RAMALHO, R. A.; FLORES, H.; SAUNDERS, C. Hipovitaminose A no Brasil: um problema de saúde pública. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 12, n. 2, p. 117-123, Apr. 2002.

RIOS, S. de A.; PAES, M. C. D.; BORÉM, A.; CRUZ, C. D.; GUIMARÃES, P. E. de O.; SCHAFFERT, R. E.; CARDOSO, W. S.; PACHECO, C. A. P. P. Adaptability and stability of carotenoids in maize cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 9, p. 313-319, nov. 2009.

SAÚDE. **Dicas em saúde**: deficiência da vitamina A. Disponível em: <http://bvsm.s.saude.gov.br/html/pt/dicas/70vitamina_a.html>. Acesso em: 1 out. 2009.

SCHMILDT, E. R.; KRAUSE, W.; CRUZ, C. D. Melhoria na eficiência dos experimentos de indicação de cultivares de milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 72-80, jan./fev. 2006.

SHEWMARKER, C. K.; SHEEHY, J. A.; DALEY, M.; COLBURN, S.; KE, D. Y. Seed-specific overexpression of phytoene syntase: increase in carotenoids and other metabolic effects. **The Plant Journal**, Bethesta, v. 20, n. 4, p. 401-412, nov. 1999.

SOUZA JÚNIOR, R. Melhoramento de espécies alógamas. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento-plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.159-199.

STEVENS, R.; WINTER-NELSON, A. Acceptance of provitamin A-biofortified maize in Maputo, Mozambique. **Food Policy**, Guildford, v. 33, p. 341-351, Feb. 2008.

VALOIS, A. C. C. Importância dos transgênicos para a agricultura. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 18, n. 1, p. 27-53, jan./abr. 2001.

VENKOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 486 p.

WEST, K. P. Extent of vitamin a deficiency among preschool children and women of reproductive age. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 132, p. 2857S-2866S, Sept. 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **GEMS/Food Regional Diets**: regional per capita consumption of raw and semi-processed agricultural commodities. Geneva, 2003. Disponível em: <<http://www.fshn.hs.iastate.edu/research/monthlyhighlight.pdf/>>. Acesso em: 25 set. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005**. Geneva, 2009. Disponível em: <http://whqlibdoc.WHO.int/publications/2009/9789241598019_eng.pdf/>. Acesso em: 25 set. 2009.

WONG, J. C.; LAMBERT, R. J.; WURTZEL, E. T.; ROCHEFORD, T. R. QTL and candidate genes phytoene synthase and ζ -carotene desaturase associated with the accumulation of carotenoids in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 108, p. 349-359, 2004.

WRICKE, G.; WEBER, W. E. **Quantitative genetics and selection in plant breeding**. Berlin: Walter of Gruyter, 1986. 406 p.