

Diversidade genética em milho em ambientes com e sem estresse de nitrogênio

Andrade, J. J., Souza, L. V., Oliveira, G. P., Lima, R.O., Médice Junior, H., Adriano, R. C., Miranda, G. V. e Galvão, J. C. C.

Universidade Federal de Viçosa/Departamento de Fitotecnia, jefersonjulio@gmail.com;
souzalv@hotmail.com, gustavoufvm@yahoo.com.br, rliimaagro@yahoo.com.br,
heldermedice@yahoo.com.br, cabralufv@yahoo.com.br, glaucovmiranda@ufv.br e jgalvao@ufv.br

Resumo- O objetivo foi avaliar a diversidade genética de linhagens endogâmicas de milho em dois ambientes com e sem estresse de nitrogênio (N). Foram avaliadas, 30 linhagens endogâmicas de milho, provenientes do banco de germoplasma do Programa Milho® UFV. Avaliaram - se características do sistema radicular, parte aérea e eficiência de utilização de nitrogênio. A divergência genética foi estudada pelo método de Tocher, usando a distância de Mahalanobis como medida de dissimilaridade. A análise da contribuição relativa das características mostrou que as características que mais contribuíram para diversidade genética foram MSR (45,04%) e RARs (47,63%) em alto N e CNR (19,37%), CNA (29,33%) e CNT (45,43%) em baixo N. Já as que menos contribuíram para variabilidade genética foram TNA (0,06%) em alto N e do VRA (0,04%) em baixo N. No ambiente sem estresse, as linhagens foram agrupadas em seis grupos e em estresse formaram – se três grupos. Conclui-se que a análise divergência genética deve-se ser realizada no ambiente específico, visando identificar genitores com potencial para cada ambiente.

Palavras-chave: *Zea mays*, melhoramento, divergência genética, estresse abiótico, nitrogênio.

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Introdução

Normalmente, a metodologia utilizada no melhoramento de milho em países tropicais é fortemente influenciada pelas experiências de países de clima temperado, onde as condições de cultivo são muito distintas das de clima tropical. Nesses, a maioria das lavouras são submetidas a algum tipo de estresse, destacando os de seca e nitrogênio. Assim, nos trópicos a seleção sob condições ótimas pode não ser a melhor maneira de aumentar a produtividade nessas áreas (BÄNZINGER *et al.*, 2000).

Dentre os fatores causadores de estresses abióticos na América do Sul, destaca-se o estresse nutricional, com 47% das áreas com algum tipo de estresse abiótico (DENT, 1980). Em grande parte dessas lavouras o nitrogênio é o fator limitante, influenciando mais do que qualquer outro nutriente (BREDEMEIER & MUNDSTOCK, 2000). A maioria das áreas de cultivo de milho em países de clima tropical são conduzidas sob condições de baixa disponibilidade de nitrogênio (OIKEH & HORST, 2001)

O cruzamento de linhagens selecionadas em condições de baixa disponibilidade de nitrogênio foi relatado por Presterl *et al.* (2002) como uma maneira eficiente de se obter híbridos mais aptos a ambientes com estresse de N. Outro fator relevante na seleção de linhagens é a presença de divergência genética entre essas de modo que possa ter uma maior heterose no cruzamento. Uma ferramenta a qual pode ser utilizada pra este fim é análise de agrupamento a qual tem finalidade reunir os genitores em grupos com

homogeneidade dentro dos grupos e heterogeneidade entre os grupos (CRUZ *et al.*, 2004). Assim, com o objetivo de identificar linhagens divergentes em ambientes com e sem estresse de nitrogênio foi desenvolvido este trabalho.

Metodologia

O ensaio foi instalado na casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa, – MG, Departamento de Fitotecnia, Programa Milho® UFV, durante os meses de julho a agosto de 2006, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com duas repetições.

Foram avaliadas 30 linhagens endogâmicas de milho, provenientes do banco de germoplasma do Programa Milho® UFV. Estas foram semeadas em vasos opacos com volume de 5 dm³, preenchidos com areia lavada. A semeadura foi feita na densidade de dez plantas por vaso à profundidade de 2,5 cm e dez dias após desbastou-se deixando apenas quatro plantas por vaso. As linhagens foram avaliadas em dois ambientes distintos quanto à dose de nitrogênio, alto e baixo N. Dez dias após a emergência das plântulas iniciou-se o fornecimento de 250 mL.vaso⁻¹, a cada quatro dias, de solução nutritiva de Hoagland, (PASSOS, 1996) completa e modificada quanto à concentração de nitrogênio, nos ambientes alto e baixo nitrogênio, respectivamente. Os pratos sob os vasos foram sempre mantidos com água, sendo completados com água deionizada sempre que necessário.

As plantas foram colhidas no estágio da quarta folha completamente desenvolvida, aos 38 dias após a emergência no ambiente de alto N e aos 45 dias no ambiente de baixo N, sendo aplicados um total de 1,75 L.vaso⁻¹ e 2,25 L.vaso⁻¹ de solução nutritiva nos dois ambientes, respectivamente, totalizando 15,75 g de nitrogênio por vaso em alto N e zero de nitrogênio em baixo N. Na colheita separou-se a raiz da parte aérea, pesou-se a matéria fresca, mediu-se o volume radicular - pelo deslocamento de água em uma proveta graduada - contou-se o número de raízes com inserção na base do colmo e mediu-se o comprimento total destas. Posteriormente, o material vegetal foi seco em estufa a 72 °C até atingir peso constante e pesado, com isso obtiveram-se a matéria seca da raiz (MSR, g.vaso⁻¹), matéria seca da parte aérea (MSA, g.vaso⁻¹), matéria seca total (MST, g.vaso⁻¹), volume de raízes (VRA, mL), número de raízes (NRA, raízes.vaso⁻¹) e comprimento de raízes (CPR, cm). Depois de pesado, o material vegetal foi moído e submetido à análise química do teor de nitrogênio total pelo método de digestão sulfúrica. Assim mensurou-se o conteúdo de N na raiz (CNR, mg.vaso⁻¹), conteúdo de N na parte aérea (CNA, mg.vaso⁻¹) e o conteúdo de N total (CNT, mg.vaso⁻¹). A partir das características MST e CNT, foram estimados os índices de eficiência de utilização de nitrogênio (EUN, g².mg), dado pela expressão $EUN=(MST)^2/CNT$, de acordo com Siddiqi & Glass (1981).

Foram feitas análises de variância usual e o estudo da diversidade genética pelo método de Tocher, utilizando-se a distância generalizada de Mahalanobis como medida de dissimilaridade. Todas as análises foram feitas utilizando-se o Aplicativo Computacional em Genética e Estatística Programa Genes, (CRUZ, 2001).

Resultados

Utilizando o método de Singh (1981) estimou-se a importância relativa dos caracteres para o estudo da diversidade genética. A análise da contribuição relativa das características mostrou que as características que mais contribuíram para diversidade genética foram MSR (45,04%) e RARs (47,63%) em alto N e CNR (19,37%), CNA (29,33%) e CNT (45,43%) em baixo N (Tabela 1). Já as que menos contribuíram para variabilidade genética foram TNA (0,06%) em alto N e do VRA (0,04%) em baixo N.

A análise de agrupamento agrupou as linhagens de modo diferente entre os ambientes, sendo formados seis grupos em alto N e apenas três em baixo N (Tabela 2). Sendo que em ambas se formaram apenas um grupo maior e os restantes formados por poucas linhagens. No entanto apenas o grupo formado pela linhagem 2 foi comum em ambos os ambientes.

Tabela 1 – Contribuição relativa, em porcentagem, das características, razão parte aérea/raiz da matéria fresca (RARf), da parte aérea (MSA), matéria seca da raiz (MSR), razão parte aérea/raiz da matéria seca (RARs), matéria seca total (MST), volume de raízes (VRA), número de raízes (NRA), comprimento de raízes (CPR), teor de N na raiz (TNR), conteúdo de N na raiz (CNR), teor de N na parte aérea (TNA), conteúdo de N na parte aérea (CNA), conteúdo de N total (CNT) e eficiência de utilização do nitrogênio (EUN)

| Variável | Alto N | Baixo N |
|----------|--------|---------|
| RARf | 0,29 | 0,23 |
| MAS | 1,14 | 0,67 |
| MSR | 45,04 | 1,45 |
| RARs | 0,23 | 0,65 |
| MST | 47,63 | 0,19 |
| VRA | 0,45 | 0,04 |
| NRA | 0,54 | 0,75 |
| CPR | 0,12 | 0,17 |
| TNR | 0,54 | 0,20 |
| CNR | 0,44 | 19,37 |
| TNA | 0,06 | 0,57 |
| CNA | 0,36 | 29,33 |
| CNT | 2,51 | 45,43 |
| EUN | 0,68 | 0,95 |

Tabela 2 - Formação dos grupos com base na distância generalizada de Mahalanobis utilizando o método de otimização de Tocher

| Grupo | Linhagens | |
|-------|---|--|
| | Alto N | Baixo N |
| 1 | 17; 18; 19; 8; 5; 7; 13; 3; 10; 11; 29; 28; 1; 20; 6; 27; 9; 23; 26; 15; 22; 30; 24 | 10; 11; 7; 8; 9; 1; 3; 30; 29; 28; 14; 22; 21; 24; 26; 20; 27; 15; 25; 19; 16; 12; 13; 6; 23; 4; 17 |
| 2 | 21; 25 | 5; 18 |
| 3 | 4; 16 | 2 |
| 4 | 14 | |
| 5 | 12 | |
| 6 | 2 | |

Discussões

A formação de diferentes grupos pela análise de agrupamento nos ambiente de alto e baixo N mostrou diferente manifestação da variabilidade genética entre esses ambientes, resultados semelhantes foram encontrados por Hébert *et al.*

(2001) e Gallais&Hirel (2004), onde se relatou que os genes responsáveis pelo controle genético da eficiência no uso do nitrogênio são expressos de acordo com o nível de suprimento do nutriente. Esse controle genético é feito por um grande número de loci modo individual ou juntos, dependendo da disponibilidade de carbono e nitrogênio (HIREL *et al*/2001)

As características TNA (0,06%) em alto N e do VRA (0,04%) em baixo N, tiveram baixa contribuição para a variabilidade genética, podendo assim ser descartadas em futuros estudos para fins de análise de divergência genética nestes ambientes. Essa diferenciação da importância quanto ao ambiente onde é avaliado são condizente com os resultados obtidos por Ma Wyer (1998) confirmando a necessidade de se fazer os estudos de divergência sempre sejam feitos nos ambiente específico no qual deseja-se trabalhar.

Conclusão

Conclui-se que a análise divergência genética deve-se ser realizada no ambiente específico, visando identificar genitores com potencial para cada ambiente.

Referências

- BÄNZINGER, M., F. J.; BEARN. LAFFITTE, H. R. (1997). Efficiency of high nitrogen selection environments for improving maize for low nitrogen target environments. *Crop Sci.* 37, 1103—1109.
- BÄNZINGER, M.; EDMEADES, G.O.; BECK, D., e Bellon, M. Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance in Maize From Theory to Practice. CIMMYT. 2000.
- BREDEMEIER, C e MUNDSTOCK, M. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.
- CHUN, L.; MI, G.; LI, J.; CHEN, F.; ZHANG, F. (2005) Genetic analysis of maize root characteristics in response to low nitrogen stress. *Plant and Soil.* 276:369–382.
- CRUZ, C. D. (2001) Programa GENES: aplicativo computacional em genética e estatística versão Windows. Viçosa - MG. UFV, 442 p- ACCIOLY, F.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, a. J. e CARNEIRO, P. C. S. Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético. Viçosa-MG. Editora UFV. v. 2. 2004
- DENT, F.J. Major production system and soil related constraints in southeast Asia. In:

INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE (Los Banos, Filipinas). **Priorities for alleviating food production in the tropics.** Los Banos, 1980. p. 79-106.

- GALLAIS, A. e HIREL, B. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 55, No. 396, pp. 295-306, February 2004.
- HÉBERT, Y.; GUNGO, E.; LOUDET, O.; The response of Root/Shoot partitioning and root morphology to light reduction in maize genotypes. *Crop Science.* Vol. 41, pp 363-371, 2001.
- HIREL, B.; BERTIN, P.; QUILLERÉ, I.; BOURDONCLE, W.; ATTAGNANT, C.; DELLY, C.; GOUY, A.; CADIO, S.; RETAILLIAU, C.; FALQUE, M.; GALLAIS, A. Towards a better understanding of the genetic and physiology basis for nitrogen use efficiency in maize. *Plant Physiology*, Vol. 125, pp. 1258-1270, 2001.
- LAFFITTE, H. R., G. O. EDMEADES. (1994). Improvement for tolerance to low soil nitrogen in tropical maize. II. Grain yield, biomass production, and N accumulation. *Field Crop Res.* 39, 15—25.
- MA, B. L. e DWYER, L. M. Nitrogen uptake and use of contrasting maize hybrids differing in leaf senescence. *Plant Soil* 199: 283-291. 1998.
- MIRANDA, G. V; GODOY, C.L.; GALVÃO, J.C.C.; SANTOS, I.C.; ECKERT, F.R.; SOUZA, L.V. (2005) Selection of discrepant maize genotypes for nitrogen use efficiency by chlorophyll meter. *Crop Breeding and Applied Biotechnology.* v. 5, n.4.
- Oikeh, S.O., and Horst, W.J.. 2001. Agro-physiological responses of Physiol. 68:1180–1185. tropical maize cultivars to nitrogen fertilization in the moist savanna of West Africa. p. 804–805 In W.J. Horst et al. (ed.) *Plant nutrition: Food security and sustainability of agro-ecosystems.* Kluwer Academic Publ., Dordrecht, the Netherlands.
- PASSOS, L.P. (1996) Métodos analíticos e laboratórios em fisiologia vegetal. EMBRAPA. Coronel Pacheco - MG.
- PRESTERL, T.; SEITZ, G.; LANDBECK, M.; Thiemt, E. M.; Schmidt, W.; and Geiger, H. H. (2003) Improving nitrogen-use efficiency in European maize: estimation of quantitative genetic parameters. *Crop Sci.* 43, 1259–1265.
- SIDDIQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization Index: A modified approach to the estimations and comparison of nutrient utilization efficiency in

plants. Journal of Plant Nutrition, New York, v.4, n.3, p.289-302, 1981.

- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, New Delhi, v.41, n.2, p.237-245, 1981.