

RONALDO RODRIGUES COIMBRA

**METODOLOGIAS DE OBTENÇÃO DE COLEÇÃO
NÚCLEO DE MILHO E SUA ADEQUAÇÃO
POR MEIO DE MARCADORES AFLP**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C679m
2003

Coimbra, Ronaldo Rodrigues, 1975-

Metodologias de obtenção de coleção núcleo de milho
e sua adequação por meio de marcadores AFLP / Ronaldo
Rodrigues Coimbra. – Viçosa : UFV, 2003.

ix, 120f. : il. ; 29cm.

Orientador: Glauco Vieira Miranda.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 116-120.

1. Milho – Melhoramento genético. 2. Milho – Recursos
do germoplasma. 3. Marcadores genéticos. 4. Bancos de
genes de plantas. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Títu-
lo.

CDD 20.ed. 633.153

RONALDO RODRIGUES COIMBRA

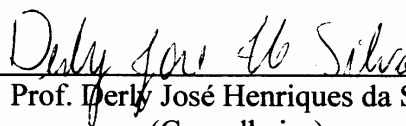
**METODOLOGIAS DE OBTENÇÃO DE COLEÇÃO
NÚCLEO DE MILHO E SUA ADEQUAÇÃO
POR MEIO DE MARCADORES AFLP**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de “Doctor Scientiae”.

APROVADA: 05 de dezembro de 2003.



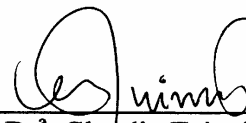
Prof. Cosme Damião Cruz
(Conselheiro)




Prof. Dery José Henriques da Silva
(Conselheiro)



Dr. Newton Pórttilho Carneiro



Dr.ª Claudia Teixeira Guimarães



Prof. Glauco Vieira Miranda
(Orientador)

Aos meus avós.

Aos meus pais, José e Raimunda.

A minha irmã, Adriana.

Dedico.

AGRADECIMENTO

A Deus.

À minha família, pelo amor e incentivo.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, por permitir o desenvolvimento desse trabalho em uma de suas unidades.

Ao Prodetab/Banco Mundial/CNPq, pelo provimento de recursos para execução do projeto de pesquisa.

Ao professor Glauco Vieira Miranda, pelos ensinamentos, pela amizade e por uma década de orientação.

Aos professores Cosme Damião Cruz e Derly José Henriques da Silva, por estarem sempre dispostos a colaborar com o aprimoramento deste trabalho.

Ao pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Ramiro Vilela de Andrade, pelos ensinamentos, pela atenção e colaboração para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo, Newton Portilho Carneiro, Cláudia Teixeira Guimarães, Lilian Padilha, Izabel Regina Prazeres de

Souza e Flávia França Teixeira, pela importante contribuição para a realização deste trabalho.

A todos os professores, por terem me transmitido conhecimento.

Aos funcionários e estagiários da Embrapa Milho e Sorgo, Bira, Miguel, Cíntia, Ana Luiza, Charles, Gilson, Edilson, Magnólia, Edna, Alessandro, Mônica, Denise, Ana Flávia, Tuniquinho e Gilberto, pela colaboração na condução dos trabalhos.

Aos irmãos Leandro, Aurélio, Rodrigo e Lauro, pela amizade, pelo companheirismo e incentivo.

Aos amigos de república, Fernando, Marquinhos, Flávio, Alexandre, Lindenberg e João, pela convivência durante todos estes anos.

Aos amigos do Tocantins, Renato Sarmiento, Rodrigo Vêras, Manoel, Hélio, Raimundinho e Raimundão, pela companhia.

À galera do Programa Milho, Adilson, Anderson, Marília, Julien, José Roberto, Ciro, Éder, Joyce, Alessandro, Flávia, Lucimar e Robert, pelo trabalho sério e pela amizade.

Aos amigos do alojamento da Embrapa, Anderson, Rogério, Marcão, Lú, Alvinho e Imaculada, pela companhia e amizade.

BIOGRAFIA

RONALDO RODRIGUES COIMBRA, filho de José Alves Rodrigues e Raimunda Coimbra Rodrigues, nasceu em 26 de março de 1975, na cidade de Araguaína, Estado do Tocantins.

Em dezembro de 1997, graduou-se em Engenharia Agrônômica, pela Fundação Universidade do Estado do Tocantins.

Em fevereiro de 2000, obteve o título de *Magister Scientiae* em Genética e Melhoramento, na Universidade Federal de Viçosa.

Em março de 2000, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, em nível de doutorado, na Universidade Federal de Viçosa, defendendo tese em 5 de dezembro de 2003. Neste mesmo ano foi contratado como professor pela Fundação Universidade do Estado do Tocantins.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Coleções núcleo	4
2.2. Etapas para o desenvolvimento de coleções núcleo	5
2.2.1. Escolha da espécie a ser representada.....	5
2.2.2. Tamanho da coleção núcleo.....	5
2.2.3. Subdivisão da coleção em grupos geneticamente divergentes ...	6
2.2.4. Número de acessos amostrados por grupo	7
2.2.5. Escolha dos acessos de cada grupo a serem incluídos na coleção núcleo	9
2.2.6. Avaliação da adequação da coleção núcleo.....	10
2.3. Utilidades de coleções núcleo	12
CAPÍTULO 1	14
ESTRATÉGIAS E INTENSIDADES DE AMOSTRAGEM PARA A OBTENÇÃO DE UMA COLEÇÃO NÚCLEO DE MILHO	14

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1. Desenvolvimento da coleção núcleo.....	17
2.1.1. Espécie representada.....	17
2.1.2. Tabulação de dados	17
2.1.3. Determinação do tamanho da coleção núcleo.....	20
2.1.4. Estratégias de amostragem para acessos landraces.....	20
2.1.4.1. Obtenção de grupos geneticamente divergentes	20
2.1.4.2. Determinação da quantidade de acessos amostrados em cada extrato	21
2.1.5. Estratégia de amostragem para acessos melhorados.....	23
2.1.6. Estratégia de amostragem para acessos introduzidos	23
2.1.7. Critérios de avaliação da representatividade das estratégias de amostragem	23
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.1. Germoplasma utilizado	27
3.2. Tabulação de dados.....	27
3.3. Tamanho da coleção núcleo	31
3.4. Estratégias de amostragem para landraces	32
3.4.1. Amostragem de 30% dos acessos landraces	33
3.4.2. Amostragem de 10% dos acessos landraces	51
3.5. Estratégia de amostragem de acessos melhorados.....	55
3.6. Estratégia de amostragem de acessos introduzidos	56
3.7. Avaliação da representatividade das estratégias de amostragem	60
4. CONCLUSÕES	90
CAPÍTULO 2	92
AVALIAÇÃO DA ADEQUAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA COLEÇÃO NÚCLEO DE MILHO DA UFV UTILIZANDO AFLP	92
1. INTRODUÇÃO.....	92

	Página
2. MATERIAL E MÉTODOS	94
2.1. Material vegetal	94
2.2. Extração do DNA.....	94
2.3. Marcador AFLP	96
2.4. Análise dos dados	98
2.4.1. Distância genética entre a coleção núcleo e a amostra da coleção ativa	98
2.4.2. Avaliação do tipo de grão e região ecogeográfica como critério de agrupamento para obtenção de grupos geneticamente divergentes	100
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
3.1. Distância genética entre a coleção núcleo e a amostra da coleção ativa	104
3.2. Avaliação do tipo de grão como critério de agrupamento para obtenção de grupos geneticamente divergentes.....	106
3.3. Avaliação da origem ecogeográfica como critério de agrupamento para obtenção de grupos geneticamente divergentes	109
4. CONCLUSÕES	113
3. RESUMO E CONCLUSÕES	114
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115

RESUMO

COIMBRA, Ronaldo Rodrigues, D.S., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2003. **Metodologias de obtenção de coleção núcleo de milho e sua adequação por meio de marcadores AFLP**. Orientador: Glauco Vieira Miranda. Conselheiros: Cosme Damião Cruz e Derly José Henriques da Silva.

Os objetivos deste trabalho foram a obtenção de coleção núcleo, a partir da Coleção Ativa de Milho da Embrapa Milho e Sorgo, a avaliação de metodologias para obtenção de coleções núcleo de milho e a avaliação de sua adequação por meio de marcadores AFLP. Foi realizado levantamento da situação atual da coleção ativa, sendo considerados dados de passaporte, caracterização e avaliação dos acessos. As estratégias de amostragem foram baseadas em estratificação considerando, principalmente, a origem ecogeográfica e o tipo de grão, variando quanto à intensidade de amostragem, a forma de se determinar o número de acessos amostrados por extrato e no modo de identificar os acessos a serem amostrados nos extratos. A coleção núcleo adotada foi aquela com base em análise multivariada com intensidade de amostragem de 10% dos acessos. A partir das análises de dados moleculares (AFLP) foi verificada adequada representatividade da coleção núcleo adotada.

ABSTRACT

COIMBRA, Ronaldo Rodrigues, D.S., Universidade Federal de Viçosa, December 2003. **Methodologies for obtaining maize nucleus collection and its adequability by means of AFLP markers.** Adviser: Glauco Vieira Miranda. Committee Members: Cosme Damião Cruz and Derly José Henriques da Silva.

The objectives of this work were to obtain a nucleus collection from the Maize Active Collection of Maize and Sorghum Embrapa, to evaluate the methodologies available for obtaining maize nucleus collections and to assess its adequability by means of AFLP markers. The present situation of the active collection was assessed, considering passport, characterization and evaluation data of the accesses. The sampling strategies were based on stratification, considering mainly the ecogeographic origin, and grain type, varying in relation to sampling intensity, mode of determining the number of accesses sampled per extract and mode of identifying the accesses to be sampled in the extracts. The nucleus collection adopted was the one based on multivariate analysis with sampling intensity of 10% of the accesses. Based on the analyses of molecular data (AFLP), an adequate representativity of the nucleus collection adopted was verified.

1. INTRODUÇÃO

A fome é, atualmente, um dos principais problemas da humanidade, sendo considerado um problema complexo, gerado por fatores políticos, econômicos, sociais e ambientais. O aumento da população, a má distribuição dos alimentos produzidos e a degradação ambiental estão entre os principais elementos que tendem a agravar a pobreza e a fome no mundo.

A degradação ambiental põe em risco a conservação dos recursos genéticos vegetais e, conseqüentemente, a segurança alimentar. Estes recursos são de grande importância para a humanidade, pois, é possível que as soluções para inúmeros problemas da agricultura na atualidade e no futuro, sejam encontradas nos recursos genéticos vegetais. Portanto, a conservação e o uso racional dos recursos genéticos podem contribuir para erradicar a fome e a pobreza.

Apesar da grande diversidade, o número de plantas utilizadas pelo homem é mínimo quando comparado com o número de espécies vegetais existentes na natureza. Durante toda a sua história, o homem conheceu aproximadamente 30.000 espécies comestíveis, mas apenas 7.000 foram utilizadas como alimento. Atualmente, apenas 30 espécies contribuem com 95% da nutrição humana, sendo oito delas responsáveis por 75% da contribuição vegetal para a energia humana (Mooney, 1987). A dependência de um número

limitado de culturas mostra o risco da segurança alimentar e destaca a importância do manejo, da conservação e da utilização dos recursos genéticos.

A destruição dos centros de origem e de variabilidade genética como resultado do aumento populacional, industrialização e substituição de cultivares crioulos por cultivares melhorados ocasionam a perda de muitos recursos genéticos. Tal perda evidencia a urgente necessidade de conservação e utilização desses de maneira sustentável, garantindo contínua manutenção e desenvolvimento da agricultura, de modo a beneficiar as gerações presentes e futuras.

Em informe publicado pela FAO em 1998, foi relatada a situação dos recursos fitogenéticos no mundo e constatada insuficiente utilização dos recursos conservados. Os principais motivos seriam a falta de dados de caracterização e a avaliação dos acessos conservados, informações insuficientes sobre quais são e onde estão sendo conservados e a deficiente conexão entre os bancos de germoplasma e os usuários.

A conservação de recursos genéticos pode ser feita mantendo-se as espécies em seus habitats naturais (*in situ*) ou fora deles (*ex situ*). O método de conservação a ser adotado depende das necessidades, da possibilidade de conservação e da espécie-alvo (Jaramillo, 2000). O objetivo da conservação *ex situ* é a manutenção dos acessos sem alterações em suas constituições genéticas. Nesse contexto, a utilização de bancos de germoplasmas garante a conservação de forma segura, geneticamente estável e ao alcance dos usuários. Entretanto, para que os bancos de germoplasmas sejam realmente úteis, esses devem fornecer informações detalhadas e disponíveis sobre os acessos. Contudo, na maioria deles existem poucos dados de caracterização e avaliação. Isto ocorre principalmente devido ao grande número de acessos armazenados, gerando dificuldades na organização e no manejo da coleção. Estima-se que existam 6,1 milhões de acessos conservados *ex situ* nos 1.320 bancos de germoplasmas implantados em várias regiões do planeta (Nass et al., 1997).

A conservação de recursos genéticos é um trabalho contínuo e de longo prazo, requerendo altos investimentos de tempo, pessoal, instalações e recursos financeiros. Por isso, acessos de bancos de germoplasmas devem ter sua

utilização otimizada, já que os programas de melhoramento dependem de um banco simplificado de genes de importância econômica para o desenvolvimento de cultivares adaptados e produtivos. Uma forma de se conseguir isso é o desenvolvimento de coleções núcleo, a partir de coleções de germoplasmas já existentes, de modo a se representar, com um mínimo de repetitividade, a diversidade genética de uma determinada espécie utilizando-se um número bem menor de acessos. Essa estratégia concentra esforços na caracterização e avaliação do germoplasma, reduzindo custos e facilitando o acesso à variabilidade genética da coleção.

Após o desenvolvimento de uma coleção núcleo, é necessário verificar se essa realmente representa a variabilidade disponível no banco de germoplasma, ou seja, avaliar a sua adequação. A avaliação da adequação é feita realizando-se comparações entre a coleção núcleo obtida e a coleção de germoplasma original. Para isso, geralmente, utilizam-se médias, variâncias, frequências e marcadores moleculares.

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de coleção núcleo de milho e a avaliação da adequação da mesma utilizando marcadores moleculares AFLP.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Coleções núcleo

O uso dos recursos genéticos armazenados em coleções de germoplasma pode ser otimizado se mais informações sobre estes forem disponibilizadas. Para isso, é necessária uma coleção racionalizada, refinada e estruturada. Essa tarefa pode ser mais facilmente realizada pelo uso de subamostras da coleção total, chamada de coleção ativa de trabalho, por Harlan (1972), e coleção núcleo, por Frankel e Brown (1984). Segundo esses últimos autores, uma coleção núcleo deve representar, com um mínimo de repetitividade, a diversidade genética de uma espécie e seus parentes. Essa coleção núcleo seria o conjunto mais importante de acessos de toda a coleção-base (Brown, 1989a).

O objetivo da coleção núcleo não é substituir a coleção-base, e sim, reter grande parte da diversidade genética em uma coleção menor de forma mais acessível aos usuários. Essa coleção pode ser considerada como uma amostra permanentemente disponível, ou pode ser criada em resposta a uma necessidade específica (Spagnoletti Zeuli, 1993).

2.2. Etapas para o desenvolvimento de coleções núcleo

2.2.1. Escolha da espécie a ser representada

Coleções núcleo podem ser desenvolvidas a partir de qualquer tipo de recursos genéticos, sejam eles animais, microorganismos ou vegetais. Geralmente, a espécie (ou espécies) escolhida apresenta relevante importância na atualidade ou tende a ser importante no futuro.

Geralmente, coleções núcleo são criadas para representar toda a variabilidade genética existente em uma coleção de germoplasma, entretanto, pode-se também desenvolvê-las com o intuito de representar apenas parte desta coleção, visando, assim, atender a objetivos específicos (Brown e Spillane, 1999).

Segundo Brown e Spillane (1999), aproximadamente 60% das coleções núcleo são formadas exclusivamente por acessos da espécie de interesse. Entretanto, coleções núcleo também podem ser desenvolvidas utilizando-se acessos da espécie de interesse e de espécies silvestres ou exclusivamente de espécies silvestres.

2.2.2. Tamanho da coleção núcleo

Na prática, a maioria das coleções núcleo contém entre 5 e 20% dos acessos da coleção total. Em coleções muito grandes essa porcentagem pode ser menor, como é o caso da Coleção Núcleo Internacional de Cevada (1.600 acessos) que contém menos de 0,3% dos acessos de cevada conservados no mundo.

Com base na teoria de alelos neutros, Kimura et al. (1964) e Brown (1989b) simularam diferentes cenários para diferentes números e frequências de alelos, considerando vários locos de uma população. Com isso Brown (1989a) propôs que uma coleção núcleo deve conter aproximadamente 10% dos acessos presentes na coleção total, desde que essa não contenha toda a variabilidade

genética da espécie, e no máximo de 3000 acessos. Com esse procedimento espera-se reter pelo menos 70% da variação contida na coleção total.

Bisth et al. (1998), analisando o tamanho de coleções e as estratégias de agrupamento concluíram que o tamanho ótimo varia entre 5 a 10%, capturando de 75 a 90% da diversidade. Já Noirot et al. (1996) sugerem que altas porcentagens sejam amostradas (20-30%), particularmente quando o objetivo é capturar a diversidade genética de caracteres com herança quantitativa.

Yonezawa et al. (1995) concluíram que o tamanho ótimo da coleção núcleo depende muito do grau de redundância genética entre os acessos, dos recursos disponíveis para manutenção das entradas da coleção núcleo e da frequência com que se realiza a regeneração das entradas. Os autores não encontraram um tamanho ótimo, mas a proporção de 20 a 30% foi recomendada.

Diante do exposto, verifica-se que não existe proporção ou tamanho fixo para uma coleção núcleo, sendo um estudo prévio para se determinar o tamanho apropriado.

2.2.3. Subdivisão da coleção em grupos geneticamente divergentes

A variação genética em populações de plantas não ocorre de forma aleatória, mas, sim, estruturada de acordo com uma série de fatores como sistema de melhoramento e origem geográfica. Portanto, é de fundamental importância para o desenvolvimento de coleções núcleo, a aplicação de estratégias de amostragem que identifiquem e particionem o máximo possível da variação, realizando a separação dos acessos em grupos geneticamente divergentes. Esse procedimento é chamado de estratificação.

A estratificação deve ser realizada de modo a maximizar a variação entre grupos e minimizar a variação dentro de grupos. Com isso, espera-se que sejam formados grupos geneticamente distintos. Essa etapa é fundamental para o desenvolvimento de uma boa coleção núcleo (van Hintun, 2000), sendo utilizada na maioria das coleções desenvolvidas. Segundo Johnson et al. (1999), a estratificação também pode ser utilizada para reduzir o volume de dados para a

realização de análises estatísticas, pois, algumas coleções possuem grande número de acessos, como é o caso da coleção de arroz do IRRI (*International Rice Research Institute*), que possui mais de 86.750 acessos de espécies cultivadas e selvagens, dificultando em alguns casos a utilização de alguns *softwares*.

Geralmente, realizam-se procedimentos hierárquicos para a obtenção dos grupos. Os grupos formados são, em seguida, divididos em subgrupos (van Hintum, 1994). De modo geral, as primeiras divisões são baseadas em taxonomia, separando-se espécies selvagens de espécies cultivadas e dentro destes grupos realiza-se subdivisão em espécies e subespécies. Usando taxonomia, conhecimentos sobre domesticação, distribuição geográfica ou ecológica, história do melhoramento, caracteres neutros ou não-neutros e forma de utilização. Assim, uma estrutura hierárquica pode ser desenvolvida, formando uma “árvore de diversidade”. A estratificação termina quando não é mais possível a divisão em subgrupos. Isto pode acontecer por falta de informações disponíveis ou devido à obtenção de grupos homogêneos geneticamente.

Aproximadamente 95% das coleções desenvolvidas utilizam a origem geográfica dos acessos para a formação de grupos, tendo como critérios adicionais para o agrupamento, caracteres morfológicos (77%), taxonomia (63%), zonas ambientais (34%) e marcadores genéticos (10%). Procedimentos como análises multivariadas têm sido utilizados com menor frequência, devido, principalmente, à ausência de dados (Brown e Spillane, 1999).

2.2.4. Número de acessos amostrados por grupo

O número de acessos amostrados em cada extrato pode ser escolhido aleatoriamente; entretanto, vários fatores afetam a escolha, como a variabilidade dentro do extrato, a disponibilidade de sementes, a autenticidade dos dados de passaporte e origem, e se os acessos já foram estudados ou utilizados por melhoristas.

Brown (1989a) propôs três estratégias com base no tamanho do grupo, que são usualmente chamadas de constante (C), proporcional (P) e logarítmica (L).

A estratégia constante (C) simplesmente obtém igual número de entradas em cada grupo, independentemente do número de acessos por grupo. Na estratégia proporcional (P), o número de entradas em cada grupo é proporcional ao número de acessos por grupo. O número de entradas de cada grupo tem que ser inteiro, portanto, uma apropriada função de arredondamento pode ser utilizada. Na estratégia logarítmica (L), o número de entradas de cada grupo é proporcional ao logaritmo do número de acessos por grupo. O número de entradas de cada grupo é arredondado para o próximo número inteiro, garantindo que o número total de entradas alocadas seja igual ao número disponível.

Marcadores genéticos também podem ser utilizados, pois estes procedimentos baseiam-se em dados sobre a quantidade de diversidade dentro e entre grupos (Brow e Schoen, 1994). Marcadores como aloenzimas ou marcadores de DNA fornecem estimativas da frequência alélica e de polimorfismo para o cálculo de índices de diversidade. Tal estratégia considera que a contribuição relativa de cada grupo para a coleção núcleo deve ser diretamente proporcional à diversidade de cada grupo.

Procedimentos subjetivos, com base em conhecimentos informais, também podem ser utilizados para determinar o número de acessos que cada grupo contribuirá e podem também ser usados para ajustar o número obtido por outros procedimentos.

Os curadores de bancos de germoplasma muitas vezes realizam alterações no seu tamanho com o objetivo de aumentar o tamanho de grupos tidos como importantes para a comunidade de usuários e diminuem o tamanho de grupos com pequeno interesse para a comunidade de usuários, apesar da alta variabilidade. Diminui-se o tamanho de grupos grandes, pois se acredita que eles têm maior diversidade, porém aumenta-se o tamanho de grupos que se acredita ter altos níveis de diversidade, mas são pobremente representados na coleção total.

Análises multivariadas também são utilizadas para se determinar o número de acessos amostrados em cada extrato. Entretanto, são utilizadas em menos de 10% das coleções núcleo desenvolvidas (Brown e Spillane, 1999); isso se deve, principalmente, à falta de dados.

2.2.5. Escolha dos acessos de cada grupo a serem incluídos na coleção núcleo

O passo final para o estabelecimento de uma coleção núcleo é a escolha de quais acessos irão formá-la. Nesse ponto, a coleção total encontra-se dividida em subgrupos e o número de acessos que cada grupo contribuirá para a coleção núcleo está previamente. A questão agora é definir quais acessos serão escolhidos em cada grupo.

A seleção das entradas não é feita somente com base na divergência genética, mas, leva-se também em consideração a qualidade da documentação dos mesmos, a disponibilidade de sementes ou o papel de alguns acessos como padrão ou parentes importantes em programas de melhoramento.

A escolha pode ser aleatória ou com base em procedimentos analíticos formais ou pragmáticos. Quando a escolha é entre cultivares bem conhecidas de um grupo, a decisão pode ser tomada utilizando-se as informações disponíveis. Mas, quando a escolha é entre acessos de um grupo contendo materiais silvestres de uma mesma região, e não se têm dados adicionais, somente procedimentos aleatórios podem ser utilizados.

Quando se têm dados adicionais sobre os acessos de um grupo, como marcas, dados de caracterização e avaliação, podem-se realizar análises multivariadas, como, por exemplo, análises de componentes principais ou de agrupamento. Se informações sobre o *pedigree* de certos grupos são conhecidas, essas informações podem ser utilizadas para maximizar a diversidade de entradas. Alguns critérios adicionais podem ser utilizados, como:

a) confiabilidade de classificação: como regra geral, as entradas que compõem a coleção núcleo devem apresentar dados confiáveis. Acessos cuja classificação nos grupos é incerta não devem ser amostrados;

b) quantidade de informação adicional: acessos contendo muitas informações adicionais devem ser preferidos;

c) importância: acessos importantes na história do melhoramento de determinada cultura devem ser incluídos na coleção;

d) disponibilidade do material: acessos com maior disponibilidade de sementes devem ser preferidos; e,

e) política: devido a alguma restrição sobre a distribuição de alguns acessos, esses podem ser omitidos da coleção núcleo.

2.2.6. Avaliação da adequação da coleção núcleo

Após o estabelecimento da coleção núcleo, é importante avaliar a sua adequação, ou seja, avaliar a sua representatividade e o seu grau de repetitividade. Para isso, realiza-se a comparação entre uma mostra da coleção total e a coleção núcleo desenvolvida, uma vez que, comparar a coleção núcleo com toda a coleção total é inviável e muitas vezes impraticável (van Hintum, 2003). Essa comparação pode levar em consideração as características envolvidas no estabelecimento da coleção ou das características que não foram levadas em consideração. Em geral, ambos os tipos de considerações são desejáveis para tal finalidade. Uma análise para se verificar se as entradas satisfazem aos objetivos da coleção núcleo também pode ser útil (Ortiz et al., 1999).

Uma análise preliminar pode ser feita comparando-se médias, frequências e variâncias de caracteres específicos em diferentes grupos da coleção núcleo com estas informações referentes à coleção total. Marcadores bioquímicos e moleculares também podem ser úteis para tal propósito, por serem eficientes na avaliação da representatividade da diversidade genética de coleções núcleo. A comparação entre a coleção núcleo e toda coleção total com base em marcadores moleculares é impraticável e desnecessária. Entretanto, amostras da coleção núcleo e da coleção total podem ser comparadas para se verificar a presença de alelos em comum (van Hintum, 2003).

Marcadores moleculares são muito utilizados em estudos de diversidade genética para vários tipos de espécies vegetais. Por exemplo, Pejic et al. (1998) compararam os resultados de dissimilaridade genética entre 33 linhagens de milho obtidos por marcadores RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), RAPDs (*Random Amplified Polymorphic DNA*), SSRs (*Single Sequence Repeats*) e AFLPs (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), utilizando o índice e a dissimilaridade de Dice e agrupamento por UPGMA. Os dendrogramas obtidos foram similares, com exceção do obtido com dados gerados por RAPD. Os autores destacaram o grande número de bandas polimórficas geradas em única reação de PCR. Bohn et al. (1999) avaliaram a similaridade genética entre cultivares de trigo utilizando marcadores RFLPs, AFLPs e SSRs e recomendaram a utilização de AFLPs para *fingerprinting* de cultivares de trigo. Lima et al. (2002) verificaram eficiência de marcadores AFLPs na análise de similaridade entre 79 genótipos de cana-de-açúcar. Zhu et al. (1998) destacaram a eficiência de marcadores AFLPs em estudos de biodiversidade em arroz.

Existem inúmeros estudos de diversidade com milho, que utilizam RFLP, mas alguns fatores têm contribuído para significativa redução de sua utilização, como a necessidade de grande quantidade de DNA ser uma técnica de difícil automação, gerar menor quantidade de polimorfismo quando comparado com técnicas baseadas em PCR. Entre as técnicas baseadas em PCR, destacam-se marcadores AFLP, principalmente devido à pequena quantidade de DNA molde requerido, o elevado nível de polimorfismo gerado em uma única reação de PCR e a possibilidade de automação.

Verificar a presença de acessos duplicados é difícil e depende de uma vasta experiência, podendo-se utilizar marcadores bioquímicos e moleculares quando o custo de manutenção é muito elevado. Esse procedimento é importante por permitir uma avaliação de toda a coleção, possibilitando uma eficiente identificação de acessos duplicados.

Existem vários critérios para avaliar a representatividade de uma coleção núcleo. A comparação de médias e variâncias entre a coleção núcleo e a coleção

total é um procedimento muito utilizado. Balfourier et al. (1999) utilizaram a capacidade de restaurar a estrutura geográfica ou espacial da coleção inicial, a capacidade de capturar a variabilidade fenotípica mensurada pelo índice de diversidade de Shannon e o seu efeito sobre a conservação de alelos neutros através de análises com isoenzimas.

Skinner et al. (1999) utilizaram a amplitude para avaliar a representatividade de uma coleção núcleo, obtendo grandes desvios padrões das características na coleção núcleo em relação à coleção total, o que seria esperado devido a amostragem dos extremos.

2.3. Utilidades de coleções núcleo

Coleções núcleo podem otimizar a conservação e o uso dos recursos genéticos, permitindo que usuários utilizem a diversidade genética mais efetivamente, facilitando a identificação das características ou propriedades em que estão interessados, e acessos de interesse imediato para o melhoristas podem ser identificados.

Hamon et al. (1995) citam que a coleção núcleo facilita e incrementa a acessibilidade dos usuários, desde melhoristas de plantas até geneticistas fundamentais aos recursos genéticos contidos em bancos de germoplasma, obtendo, assim, avanços na qualidade e na eficiência de seus trabalhos.

Ao reduzir o tamanho da coleção total, a avaliação, a caracterização e o manejo dos acessos são facilitados, reduzindo o número de acessos que necessitam ser regenerados, com significativa redução de custos.

Fornece material teste para o desenvolvimento e aplicação de novos métodos de conservação e para o desenvolvimento de descritores.

Facilita a distribuição dos acessos, pois, grande quantidade de sementes pode ser produzida para um menor número de entradas.

Permite a identificação de acessos duplicados, garantindo maior segurança no fornecimento de acessos em nível nacional e internacional, além de garantir a obtenção de um grupo com o qual novos acessos possam ser comparados.

Facilita a identificação de germoplasmas exóticos, permitindo o aumento da base genética de populações em programas de melhoramento, na esperança de identificação de “novos” genes. Além de permitir a introdução de genótipos em novas áreas de expansão, são ótimos materiais para serem utilizados em estudo de herança de caracteres, estimação da capacidade combinatória e em estudos de interação genótipo x ambiente.

Também podem ser úteis no estudo de expressão gênica, por serem estudos que necessitam de genótipos altamente divergentes. São ideais para situações de emergência, como, guerras civis ou desastres ambientais, onde apenas parte dos acessos do banco de germoplasma pode ser mantida em segurança.

CAPÍTULO 1

ESTRATÉGIAS E INTENSIDADES DE AMOSTRAGEM PARA A OBTENÇÃO DE UMA COLEÇÃO NÚCLEO DE MILHO

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas observou-se grande progresso na obtenção e conservação de recursos genéticos vegetais. Esse progresso tem-se dado como resposta das instituições de pesquisa, principalmente públicas, à grande perda de recursos genéticos, pelo mau uso e destruição dos centros de origem e variabilidade genética, sendo essa perda um dos motivos para a conservação e utilização dos mesmos de maneira sustentável.

As coleções de germoplasma foram propostas para preservar a diversidade genética de espécies cultivadas, devido a adoção de cultivares modernas em substituição aos cultivares primitivos (Brown, 1989a). Entretanto, muitos acessos têm sido acumulados em bancos de germoplasma, dando origem a coleções com grande número de acessos. O grande tamanho das coleções dificulta a organização e o manejo, resultando em insuficiente utilização dos recursos conservados devido à falta de dados de caracterização e avaliação, e dados de passaporte ausentes ou insuficientes. Essa falta de informação a respeito dos acessos pode levar à existência de duplicatas dentro da coleção de germoplasma.

Um dos principais objetivos dos curadores de bancos de germoplasma é promover a utilização da coleção por um grande número de usuários. Uma forma de alcançar esses objetivos é o desenvolvimento de coleções núcleo (*core collections*).

De acordo com o conceito clássico, proposto por Frankel e Brown (1984) e Brown (1989a, b), coleção núcleo é uma amostra limitada de acessos da coleção de germoplasma escolhida para representar a variação genética da mesma (coleção-base, coleção ativa, coleção de trabalho etc). Essa coleção deve representar com o mínimo de repetitividade a diversidade genética da espécie e seus parentes, sendo esse o conjunto mais importante de acessos de toda a coleção de germoplasma.

O IPGRI (*International Plant Genetics Resources Institute*) vem estimulando a coleta de germoplasma e, atualmente, incentiva também o desenvolvimento de coleções núcleo. O programa de germoplasma do USDA (*United States Department of Agriculture*) está entre os primeiros a reconhecer a importância deste tipo de coleção (Brown e Spillane, 1999).

O desenvolvimento da coleção núcleo permite a concentração de esforços na caracterização e avaliação de germoplasma, proporciona diminuição de custos e possibilita o direcionamento de recursos para outras atividades, como teste de germinação, regeneração e análises moleculares, facilitando o acesso dos usuários à coleção de germoplasma.

Coleções núcleo podem ser desenvolvidas a partir de qualquer tipo de recurso genético, sejam eles vegetais, animais ou microorganismos. Geralmente, a espécie (ou espécies) escolhida apresenta relevante importância na atualidade ou tende a ser importante no futuro. Essa escolha também pode ser realizada de acordo com a disponibilidade de informações e com os objetivos que levaram ao desenvolvimento da coleção núcleo.

Deve-se entender que coleções núcleo não são desenvolvidas com o objetivo de substituir a coleção de germoplasma, mas, reter grande parte da diversidade genética em uma coleção menor, de forma mais acessível aos usuários, podendo ser considerada como amostra permanentemente disponível,

ou criada em resposta a uma necessidade específica (Spagnoletti Zeuli, 1993).

Como a variação genética em populações de plantas não ocorre de forma aleatória, e sim estruturada de acordo com uma série de fatores como sistema de melhoramento e origem geográfica, um importante ponto a ser considerado no desenvolvimento de coleções núcleo é a aplicação de estratégias de amostragem que identifiquem e particionem o máximo possível da variação. Para isto, diversas metodologias podem ser utilizadas, sendo a disponibilidade de dados o fator determinante para a escolha da metodologia a ser adotada.

Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo desenvolver uma coleção núcleo de milho, comparando-se dez estratégias de amostragem para obtenção de coleções núcleo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Desenvolvimento da coleção núcleo

2.1.1. Espécie representada

Foram utilizados acessos de milho pertencentes à Coleção Ativa de Germoplasma de Milho da Embrapa Milho e Sorgo, apresentando grãos do tipo dentado, semidentado, duro e semiduro. Não foram utilizados acessos de milhos especiais (milho-pipoca, milho-doce etc.) ou prováveis ancestrais do milho.

2.1.2. Tabulação de dados

Foram reunidas todas as informações disponíveis sobre os acessos da Coleção Ativa de Germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo, sendo considerados os dados de passaporte, caracterização e avaliação.

As seguintes atividades foram realizadas para a organização do banco de dados:

a) Identificação do tipo de grão dos acessos, sendo considerados apenas acessos contendo grãos do tipo dentado, semidentado, duro e semiduro;

- b) Estratificação quanto ao tipo de acesso:
 - Landrace: originário de coleta no Brasil;
 - Melhorado: submetido a, pelo menos, um ciclo de seleção; e
 - Introduzido: originário de coleta em outros países.
- c) Identificação da instituição responsável pelo desenvolvimento dos acessos melhorados, sendo estes divididos em acessos desenvolvidos pela Embrapa e acessos desenvolvidos por outras instituições.
- d) Identificação do país de origem dos acessos introduzidos.
- e) Classificação dos acessos quanto à região em que se realizou a avaliação de campo (Sete Lagoas-MG ou Janaúba-MG).
- f) Identificação do Estado da Federação em que cada acesso landrace foi coletado e classificação dos mesmos quanto a origem ecogeográfica em acessos da região Sul, Cerrados, Cerrados-Norte, Amazônia, Caatinga e Agreste-Litoral.
- g) Identificação e exclusão de compostos derivados de mistura de acessos landraces.
- h) Identificação dos acessos introduzidos originários de regiões de clima temperado e posterior exclusão destes.
- i) Verificação da quantidade de sementes disponível de cada acesso, onde os acessos com pequena quantidade de sementes e baixa porcentagem de germinação foram desconsiderados.
- j) Identificação do número de características disponíveis para cada acesso.
- k) Auditoria de dados: eliminação de características que apresentaram dados discrepantes.

As características previamente avaliadas no banco ativo de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo e consideradas no presente trabalho foram:

- 1) Tipo de grão (TG): 1 – dentado, 2 – semidentado, 3 – duro e 4 – semiduro.
- 2) Dias para o florescimento masculino (FM, dias): número de dias da emergência das plântulas ao florescimento masculino, contado quando 50% das plantas da parcela possuíam florescimento masculino.

3) Dias para florescimento feminino (FF, dias): número de dias da emergência das plântulas ao florescimento feminino, contado quando 50% das plantas na parcela possuíam florescimento feminino.

4) Posição da espiga (POE): posição da espiga em relação ao colmo (1 – ereta, 2 – oblíqua e 3 – decumbente).

5) Número de ramificações do pendão (NRP): número de ramificações primárias na haste principal do pendão.

6) Altura da planta (AP, cm): medida em centímetros após o florescimento masculino, do nível do solo à inserção da folha bandeira.

7) Altura da primeira espiga (AE, cm): medida em centímetros após o florescimento, do nível do solo à inserção da espiga superior no colmo.

8) Porcentagem de plantas quebradas (PPQ): relação entre o número de plantas quebradas na parcela e o estande final, sendo consideradas plantas quebradas aquelas que apresentaram o colmo quebrado abaixo da espiga superior em cada parcela, por ocasião da colheita.

9) Porcentagem de plantas acamadas (PPA): relação entre o número de plantas acamadas na parcela e o estande final, sendo consideradas plantas acamadas, aquelas que apresentaram ângulo de inclinação superior a 45 graus em relação à vertical, na ocasião da colheita.

10) Número de folhas acima da espiga superior (NFE).

11) Número de folhas por planta (NF).

12) Diâmetro do colmo (DC, cm): medido logo acima das raízes adventícias.

13) Número de espigas (NE): número de espigas por parcela.

14) Comprimento da espiga (CE, mm): comprimento da espiga sem palha.

15) Diâmetro da espiga (DE, mm): medida na parte central da espiga.

16) Número médio de fileiras de grãos (NFG): média do número de fileiras de grãos por parcela.

17) Número médio de grãos por fileira (NGF): média do número de grãos por fileira na parcela.

18) Peso médio de espiga por planta (PEP, mg): média do peso de espigas por planta.

19) Peso de grãos por planta na parcela (PGP, mg).

20) Diâmetro do sabugo (DS, mm): média do diâmetro do sabugo na parcela, medido na parte central do sabugo.

21) Peso de 1000 grãos (PMG, mg).

2.1.3. Determinação do tamanho da coleção núcleo

Visando identificar o tamanho adequado da coleção núcleo, foram avaliadas duas intensidades de amostragem para os acessos landraces, sendo realizadas amostragens de 30 e 10% dos acessos. Para os acessos melhorados e introduzidos, foi realizada amostragem de 20% dos acessos.

2.1.4. Estratégias de amostragem para acessos landraces

2.1.4.1. Obtenção de grupos geneticamente divergentes

Os acessos landraces foram estratificados quanto à origem ecogeográfica e tipo de grão. Foram consideradas as regiões ecogeográficas Sul, Cerrados, Cerrados-Norte, Amazônia, Caatinga e Agreste-Litoral, sendo estas as mesmas utilizadas por Cordeiro et al. (1995) e Abadie et al. (2000).

Os tipos de grãos considerados foram os dentados, semidentados, duros e semiduros.

Foram avaliadas cinco estratégias de amostragem para obtenção de grupos geneticamente divergentes e duas intensidades de amostragem (30 e 10%), sendo obtidas dez estratégias de amostragem.

2.1.4.2. Determinação da quantidade de acessos amostrados em cada extrato

As estratégias de amostragem utilizadas foram:

a) Constante (C): quantidade de acessos amostrados dentro de cada extrato constante e amostragem aleatória dos acessos nos extratos.

b) Proporcional (P): quantidade de acessos amostrados proporcional ao tamanho do extrato e amostragem aleatória dos acessos nos extratos.

c) Logarítmica (L): quantidade de acessos amostrados proporcional ao logaritmo da frequência dos acessos dentro de cada extrato e amostragem aleatória em cada extrato.

d) Aleatória (A): nesta estratégia não foi considerada a estratificação quanto à origem ecogeográfica e tipo de grão, realizando-se a amostragem dos acessos através do procedimento de geração de números aleatórios.

e) Multivariada (MV): para a realização desta estratégia, os acessos foram estratificados primeiramente em relação ao local de avaliação (Sete Lagoas-MG ou Janaúba-MG) e, posteriormente, em relação à região ecogeográfica e ao tipo de grão. O número de acessos avaliados em Janaúba e em Sete Lagoas foi proporcional ao tamanho do extrato.

Em cada extrato, foram realizadas as seguintes análises:

a) Análise de componentes principais: o número de variáveis utilizadas variou de acordo com a disponibilidade de informações em cada extrato. Foi realizada a padronização dos dados para média zero e variância um.

b) Distância euclidiana “invertida”: calculou-se a distância euclidiana e, posteriormente, realizou-se a inversão de valores, ou seja, a maior distância na matriz de dissimilaridade foi subtraída de todas as demais distâncias. Assim, a maior distância passou a ter o menor valor (zero) e, conseqüentemente, a menor distância passou a ter o maior valor.

c) Método de agrupamento de Tocher: utilizou-se como medida de dissimilaridade a matriz de distâncias euclidianas “invertidas”. Por isso, ao se

realizar o agrupamento por essa metodologia, foram agrupados os genótipos mais divergentes.

d) Análise de dispersão gráfica: foram realizados gráficos a partir dos escores dos primeiros componentes principais. Os acessos mais divergentes de acordo com o método de otimização de Tocher foram plotados nestes gráficos, sendo possível utilizar as duas metodologias de forma combinada. Desta forma foram amostrados os acessos mais divergentes dentro de cada extrato.

e) A importância relativa das características dentro de cada extrato foi determinada pelo método de Singh (1981).

Assim foram avaliadas dez estratégias de amostragem para acessos landraces:

1) C30: estratificação quanto à região ecogeográfica e ao tipo de grão. Quantidade de acessos amostrados em cada extrato constante, amostragem aleatória dos acessos e intensidade de amostragem de 30%.

2) P30: estratificação quanto à região ecogeográfica e ao tipo de grão. Quantidade de acessos amostrados em cada extrato proporcional, amostragem aleatória dos acessos e intensidade de amostragem de 30%.

3) L30: estratificação quanto à região ecogeográfica e ao tipo de grão. Quantidade de acessos amostrados em extrato cada igual ao logaritmo da frequência, amostragem aleatória dos acessos e intensidade de amostragem de 30%.

4) A30: amostragem aleatória de 30% dos acessos.

5) MV30: estratificação quanto ao local de avaliação, à região ecogeográfica e ao tipo de grão. Quantidade de acessos amostrados proporcional ao tamanho do extrato, amostragem dos acessos com base em análises multivariadas e intensidade de amostragem de 30%.

6) C10: estratificação quanto à região ecogeográfica e ao tipo de grão. Quantidade de acessos amostrados em cada extrato constante, amostragem aleatória dos acessos e intensidade de amostragem de 10%.

7) P10: estratificação quanto à região ecogeográfica e ao tipo de grão. Quantidade de acessos amostrados em cada extrato proporcional, amostragem aleatória dos acessos e intensidade de amostragem de 10%.

8) L10: estratificação quanto à região ecogeográfica e ao tipo de grão. Quantidade de acessos amostrados em cada extrato igual ao logaritmo da frequência, amostragem aleatória dos acessos e intensidade de amostragem de 10%.

9) A10: amostragem aleatória de 10% dos acessos.

10) MV10: estratificação quanto ao local de avaliação, à região ecogeográfica e ao tipo de grão, quantidade de acessos amostrados proporcional ao tamanho do extrato, amostragem dos acessos com base em análises multivariadas e intensidade de amostragem de 10%.

2.1.5. Estratégia de amostragem para acessos melhorados

Os acessos melhorados foram estratificados quanto ao local de melhoramento (Embrapa Milho e Sorgo ou outras instituições). Foram realizadas as mesmas análises multivariadas realizadas para acessos landraces, sendo adotada intensidade de amostragem de 20% dos acessos em cada extrato.

2.1.6. Estratégia de amostragem para acessos introduzidos

Os acessos introduzidos foram estratificados somente em relação ao local de avaliação. As análises multivariadas utilizadas foram as mesmas utilizadas nos extratos landraces, amostrando-se 20 % dos acessos.

2.1.7. Critérios de avaliação da representatividade das estratégias de amostragem

Foram realizadas comparações entre a coleção ativa e as coleções núcleo desenvolvidas, levando em consideração as alterações nas frequências dos

acessos em cada extrato em decorrência da amostragem, médias e variâncias das características e o índice de retenção de variabilidade. Para verificar se as frequências dos acessos em cada extrato da coleção núcleo mantiveram-se iguais à frequência da coleção ativa, foi utilizado o teste de χ^2 .

Visando verificar se as variâncias das características da coleção núcleo são iguais ou diferentes das variâncias da coleção ativa, utilizou-se o teste F, sendo adotada a tabela unilateral para $F > 1$, como descrito por Ribeiro Júnior (2001). Considerando duas populações (X e Y), em que s_x^2 e s_y^2 são respectivamente as variâncias da população ativa e da coleção núcleo para a mesma característica, formularam-se as seguintes hipóteses:

$$H_0 = s_x^2 = s_y^2 = s^2 \text{ vs } H_A = s_x^2 > s_y^2.$$

Assim, O valor de F calculado foi obtido da seguinte forma:

$$F \text{ calculado} = \frac{S_x^2}{S_y^2}, \text{ com } n_1 = (n_x - 1) \text{ e } n_2 = (n_y - 1) \text{ graus de liberdade,}$$

sendo adotada a maior variância como S_x^2 e a menor como S_y^2 , de modo a se obter sempre o valor de F calculado maior que 1.

A comparação entre médias foi realizada pelo teste t, de Student, pois o conjunto de dados utilizados refere-se a uma amostra da coleção ativa, e não de toda a coleção.

Em caso de igualdade de variâncias, para se realizar o teste t, considerou-se a variância comum dada pela seguinte fórmula:

$$S_C^2 = \frac{(n_x - 1)S_x^2 + (n_y - 1)S_y^2}{n_x + n_y - 2},$$

em que

S_C^2 = variância amostral comum;

S_x^2 = variância da coleção ativa;

S_y^2 = variância da coleção núcleo;

n_x = número de acessos na coleção ativa; e

n_y = número de acessos na coleção núcleo.

Nesse caso, o t calculado foi dado pela fórmula:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{\sqrt{S_C^2 \left(\frac{1}{n_x} + \frac{1}{n_y} \right)}}, \text{ com: } n_x + n_y - 2 \text{ graus de liberdade,}$$

em que

\bar{X} = média da coleção ativa; e

\bar{Y} = média da coleção núcleo.

No caso de variâncias diferentes, o teste t foi realizado da seguinte forma:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{\sqrt{\frac{S_X^2}{n_x} + \frac{S_Y^2}{n_y}}}, \text{ com } n^* \text{ graus de liberdade, sendo } n^* \text{ dado por:}$$

$$n^* = \frac{\left(\frac{S_X^2}{n_x} + \frac{S_Y^2}{n_y} \right)^2}{\frac{\left(\frac{S_X^2}{n_x} \right)^2}{n_x - 1} + \frac{\left(\frac{S_Y^2}{n_y} \right)^2}{n_y - 1}}$$

O índice de retenção de variabilidade foi calculado segundo Diwan et al. (1995), utilizando-se a seguinte equação:

$$IRV = \frac{\sum_{i=1}^t \frac{A_i CN}{A_i CA}}{t},$$

em que

IRV = índice de retenção de variabilidade;

A_iCN = amplitude da característica i na coleção núcleo;

A_iCA = amplitude da característica i na coleção ativa; e

t = número de características.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Germoplasma utilizado

Para o desenvolvimento da coleção núcleo foram considerados apenas acessos de milho comum. A utilização de parte de uma coleção de germoplasma para o desenvolvimento de uma coleção núcleo é um procedimento bastante comum, por exemplo, Diwan et al. (1994), trabalhando com alfafa possuíam 3.159 acessos, mas devido a limitações de espaço, tempo e sementes, utilizaram apenas 1.240 acessos. Skinner et al. (1999), também trabalhado com acessos de alfafa, tiveram como ponto de partida 20.997 acessos; após vários anos de estudos (1969-1994), obtiveram informações sobre 27 descritores para 16.306 acessos, sendo esses utilizados para o desenvolvimento de uma coleção núcleo.

3.2. Tabulação de dados

A Coleção Ativa de Germoplasma de Milho da Embrapa foi criada com o objetivo de suprir os programas de melhoramento com adequada variabilidade genética. Tem como atividades principais a conservação a curto e médio prazo, além da caracterização, avaliação, coleta, intercâmbio e documentação de germoplasma.

A coleção ativa de germoplasma, conta atualmente com 3.804 acessos de milho (*Zea mays* L. ssp *mays*). A coleção-base, preservada a longo prazo, é mantida na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

No ano 2000, a coleção ativa de germoplasma de milho possuía 2.280 acessos. Neste mesmo ano, 1.371 acessos foram repatriados do CIMMYT (Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo) e cerca de 150 acessos landraces anteriormente coletados, foram registrados. Para estes acessos repatriados e recém-registrados, existem poucos dados de passaporte e não se têm dados de caracterização e avaliação, além de uma pequena quantidade de sementes, por isso não foram considerados no presente estudo. Entretanto, à medida que forem obtidas informações à respeito destes acessos, estes poderão ser utilizados.

De acordo com Abadie (2000), dos 2.280 acessos, aproximadamente 1.753 são provenientes de coletas em várias regiões do país (landraces), 222 são acessos submetidos a, pelo menos, um ciclo de seleção (melhorados) e 288 são introduzidos de outros países (introduções). Boa parte destes acessos apresenta informações em quantidade suficiente para que possam ser utilizadas no desenvolvimento de coleções núcleo com base em estratificação.

Os ensaios de caracterização e avaliação dos acessos do BAG-Embrapa Milho e sorgo são realizados em Sete Lagoas-MG e Janaúba-MG, adotando-se 32 descritores previamente estabelecidos para a cultura do milho. O delineamento experimental utilizado é o látice simples, em parcelas de 10 m² (50 plantas) e os dados relativos às espigas e sementes são determinados no laboratório de análise de sementes da Embrapa Milho e Sorgo (Andrade et al., 2001). Os principais descritores avaliados são: emergência, floração masculina, floração feminina, altura de planta, altura da 1^a espiga, número de ramificações secundárias do pendão, número de grãos por fileira, arranjo das sementes, diâmetro do sabugo, peso de espiga por planta, diâmetro de espiga, peso de 1.000 sementes, cor do endosperma, qualidade e sanidade da espiga, reação às principais pragas e doenças.

Em relação ao tipo de grão, existem acessos do tipo dentado, semidentado, duro, semiduro, enrugado, amiláceo, opaco, córneo (pipoca) e ceroso. Dos 2.280 acessos, aproximadamente 1.737 acessos apresentam grãos do tipo dentado, semidentado, duro ou semiduro, sendo que a grande maioria dos acessos apresenta grãos do tipo dentado e semidentado.

Na coleção ativa existem acessos provenientes de 39 países (Quadro 1) e acessos oriundos do CIMMYT, para os quais não se dispõe de dados referentes a origem geográfica.

Quadro 1 – Países que contribuem com acessos para a Coleção Ativa de Milho da Embrapa Milho e Sorgo

Países		
África do Sul	Guiana Francesa	Paquistão
Argentina	França	Paraguai
Bolívia	Haiti	Peru
Bulgária	Honduras	Porto Rico
Caribe	Hungria	Portugal
Chile	Índia	República Dominicana
Cuba	Itália	Romênia
CIMMYT*	Jamaica	Suriname
Colômbia	Japão	Tailândia
El Salvador	México	Checoslováquia
Espanha	Namíbia	Uruguai
Guatemala	Nicarágua	Estados Unidos
Guiana	Panamá	Venezuela

*, Acessos com origem geográfica não identificada.

Considerando-se os acessos landraces, os únicos estados não representados na coleção ativa são: Espírito Santo, Piauí e Tocantins, sendo necessária a realização de coletas nestes Estados. Os estados de São Paulo, Bahia, Roraima e Rio Grande do Sul, são nesta ordem, os que possuem maior número de acessos na coleção ativa (Quadro 1).

Ao final de todas as etapas de organização do banco de dados, 918 acessos apresentaram informações em quantidade suficiente para o

desenvolvimento de uma coleção núcleo com base em estratificação, assim como para a comparação entre diferentes estratégias de amostragem. Destes 918 acessos (Tabela 1), 806 são landraces (87,80 %), 58 introduzidos (6,32 %) e 54 melhorados (5,88 %).

Tabela 1 – Relação do número de acessos landraces, melhorados e introduzidos quanto ao tipo de endosperma

Tipo de Acesso	Tipo de Endosperma				Total
	Dentado	Semidentado	Duro	Semiduro	
Landraces	374	316	83	33	806
Melhorados	27	21	6	0	54
Introduzidos	18	19	16	5	58
Total	419	356	105	38	918

Análises climáticas, ecológicas e informações geográficas sobre as espécies podem ser utilizadas para identificar diferentes ambientes, além de identificar onde foram realizadas coletas excessivas e locais onde devem ser realizadas as futuras coletas. Em trabalho realizado por Abadie et al. (1997), foi observado que a origem ecogeográfica e o tipo de grão são eficazes para discriminar os acessos landraces brasileiros, por isto este foi o procedimento aqui adotado. A estratificação quanto ao tipo de grão fundamentou-se no trabalho de Brieger et al. (1958), onde se mencionou que acessos com tipo de grãos diferentes possuem origem evolucionária diferente.

Dos 918 acessos utilizados, a maioria apresentou grãos do tipo dentado ou semidentado (775), o que de certa forma refletiu a realidade da coleção ativa (Tabela 1). Quanto ao local de avaliação dos acessos landraces e introduzidos, a maioria foi avaliada em Sete Lagoas (Tabela 2). Todos os acessos melhorados foram avaliados em Sete Lagoas, sendo oito acessos desenvolvidos pela Embrapa Milho e Sorgo e 46 por outras instituições.

Tabela 2 – Relação do número de acessos landraces, melhorados e introduzidos quanto ao local de avaliação

Tipo de acesso	Local de avaliação	
	Janaúba	Sete Lagoas
Landraces	198	608
Melhorados	0	54
Introduzidos	7	51
Total	205	713

As regiões ecogeográficas com maior número de acessos foram as regiões Cerrados e Caatinga (Tabela 3), sendo as regiões Cerrados-Norte e Agreste-Litoral as regiões com menores números de acessos.

Tabela 3 – Regiões cogeográficas consideradas e número de acessos por região ecogeográfica

Região	Número de acessos
1 – Sul	124
2 – Cerrados	228
3 – Cerrados-Norte	58
4 – Amazônia	147
5 – Caatinga	205
6 – Agreste-Litoral	44
Total de Landraces	806

3.3. Tamanho da coleção núcleo

Ao realizar a amostragem de 30 e 10% dos acessos landraces, foram amostrados 243 e 80 acessos, respectivamente. Foram amostrados também 11 acessos melhorados e 12 introduzidos, o que equivaleu à amostragem de 20% dos acessos. Essa amostragem de 20% foi devido ao reduzido número de acessos inviabilizar a utilização de algumas estratégias de amostragem. Desse modo, foram obtidas coleções núcleo com 266 e 103 acessos.

3.4. Estratégias de amostragem para landraces

Realizando-se a estratificação dos acessos landraces por região ecogeográfica seguida pelo tipo de grão, foram obtidos 21 extratos (Tabela 4). O extrato com maior número de acessos foi o 15 (Caatinga, Dentado) com 115 acessos e com menor número o 21 (Agreste-Litoral) com apenas um acesso.

Tabela 4 – Extratos obtidos, código dos extratos, número e frequência de acessos por extrato, número de acessos amostrados por extrato e teste de χ^2 considerando-se as estratégias constante (C), proporcional (P), logarítmica (L), e aleatória (A) e amostragem de 30% dos acessos

Extrato	Código*	Coleção Ativa (CA)		Constante (C)		Proporcional (P)		Logarítmica (L)		Aleatória (A)	
		Nº Acessos	Freq.	Nº Acessos	Freq.	Nº Acessos	Freq.	Nº Acessos	Freq.	Nº Acessos	Freq.
1	1-1	89	11,04	14	5,76	27	11,11	21	8,64	28	11,52
2	1-2	18	2,23	14	5,76	5	2,06	7	2,88	9	3,70
3	1-3	11	1,36	11	4,53	3	1,23	3	1,23	4	1,65
4	1-4	6	0,74	6	2,47	2	0,82	6	2,47	1	0,41
5	2-1	87	10,79	14	5,76	26	10,70	21	8,64	27	11,11
6	2-2	76	9,43	14	5,76	23	9,47	20	8,23	21	8,64
7	2-3	42	5,21	14	5,76	13	5,35	15	6,17	9	3,70
8	2-4	23	2,85	14	5,76	7	2,88	9	3,70	6	2,47
9	3-1	21	2,61	14	5,76	6	2,47	9	3,70	9	3,70
10	3-2	37	4,59	14	5,76	11	4,53	14	5,76	11	4,53
11	4-1	39	4,84	14	5,76	12	4,94	14	5,76	12	4,94
12	4-2	86	10,67	14	5,76	26	10,70	21	8,64	20	8,23
13	4-3	19	2,36	14	5,76	6	2,47	8	3,29	9	3,70
14	4-4	3	0,37	3	1,23	1	0,41	3	1,23	0	0,00
15	5-1	115	14,27	15	6,17	35	14,40	23	9,47	32	13,17
16	5-2	81	10,05	14	5,76	24	9,88	20	8,23	29	11,93
17	5-3	9	1,12	9	3,70	3	1,23	9	3,70	2	0,82
18	6-1	23	2,85	14	5,76	7	2,88	9	3,70	9	3,70
19	6-2	18	2,23	14	5,76	5	2,06	7	2,88	4	1,65
20	6-3	2	0,25	2	0,82	1	0,41	2	0,82	0	0,00
21	6-4	1	0,12	1	0,41	0	0,00	1	0,41	1	0,41
Total		806		243		243		243		243	
χ^2				62,6**		0,3 ^{ns}		19,8 ^{ns}		5,8 ^{ns}	

* O primeiro número refere-se à região ecogeográfica (1 – Sul; 2 – Cerrados; 3 – Cerrados-Norte; 4 – Amazônia; 5 – Caatinga; e 6 - Agreste-Litoral) e o segundo, ao tipo de grão (1 – Dentado; 2 – Semidentado; 3 – Duro; e 4 – Semiduro).

CA = coleção ativa de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo.

** ,^{ns} Significativo e não-significativo, respectivamente, pelo teste de χ^2 , a 1% de probabilidade.

3.4.1. Amostragem de 30% dos acessos landraces

A amostragem de 30% dos acessos landraces equívaleu a 243 acessos em cada estratégia.

a) Estratégia constante (C)

Nesta estratégia, independentemente do tamanho do extrato, foram amostrados 14 acessos para a coleção núcleo (Tabela 5). Entretanto, os extratos 3, 4, 14, 20 e 21 foram amostrados integralmente devido ao pequeno número de acessos neles contidos. No extrato 15 foi amostrado um acesso a mais para totalizar 243 acessos landraces.

Com a utilização desta estratégia evita-se a obtenção de grupos muito grandes, nos quais o nível de redundância é provavelmente maior do que em pequenos grupos. Segundo Brown (1989a), quando alelos raros ocorrem em pequenos grupos, essa estratégia é indicada. Por outro lado, essa estratégia favorece os grupos pequenos em detrimento aos grandes grupos.

Determinado o número de acessos, realizou-se amostragem aleatória dentro de cada extrato. O teste de χ^2 foi significativo, a 1% de probabilidade; portanto, essa estratégia causou significativa alteração nas frequências dos acessos em cada extrato.

b) Estratégia proporcional (P)

A quantidade de acessos selecionada dentro de cada extrato foi proporcional ao seu tamanho (Tabela 5). Devido ao seu reduzido número, não foram amostrados acessos no extrato 21.

Essa estratégia de amostragem tem sido citada em alguns trabalhos como mais eficiente do que uma amostragem aleatória simples, incluindo mais alelos e maior variação. Entretanto, apresenta um viés, favorecendo grupos de maior tamanho. Segundo Brown e Spillane (1999), essa é a estratégia mais utilizada, sendo adotada em metade das coleções núcleo desenvolvidas.

Tabela 5 – Extratos obtidos, códigos dos extratos, número e frequência de acessos por extrato, número de acessos amostrados em cada extrato, e teste de χ^2 considerando-se a estratégia multivariada e amostragem de 30% dos acessos

Janaúba						Sete Lagoas					
Extrato	Código*	Nº (CA)	Freq. (CA)	Nº (CN)	Freq. (CN)	Extrato	Código*	Nº (CA)	Freq. (CA)	Nº (CN)	Freq. (CN)
1	2-1	1	0,51	1	1,67	1	1-1	89	14,64	27	14,75
2	2-2	3	1,52	3	5,00	2	1-2	18	2,96	5	2,73
3	3-1	20	10,10	20	8,33	3	1-3	11	1,81	3	1,64
4	3-2	37	18,69	37	15,00	4	1-4	6	0,99	2	1,09
5	4-1	11	5,56	11	5,00	5	2-1	86	14,14	25	13,66
6	4-2	53	26,77	53	21,67	6	2-2	73	12,01	22	12,02
7	4-3	2	1,01	2	3,33	7	2-3	42	6,91	12	6,56
8	4-4	3	1,52	3	5,00	8	2-4	23	3,78	7	3,83
9	5-1	42	21,21	42	18,33	9	3-1	1	0,16	1	0,55
10	5-2	21	10,61	21	8,33	10	4-1	28	4,61	8	4,37
11	5-3	1	0,51	1	1,67	11	4-2	33	5,43	10	5,46
12	6-1	3	1,52	3	5,00	12	4-3	17	2,80	5	2,73
13	6-2	1	0,51	1	1,67	13	5-1	73	12,01	22	12,02
-	-	-	-	-	-	14	5-2	60	9,87	18	9,84
-	-	-	-	-	-	15	5-3	8	1,32	2	1,09
-	-	-	-	-	-	16	6-1	20	3,29	6	3,28
-	-	-	-	-	-	17	6-2	17	2,80	5	2,73
-	-	-	-	-	-	18	6-3	2	0,33	2	1,09
-	-	-	-	-	-	19	6-4	1	0,16	1	0,55
Total		198		60		Total		608		183	
χ^2				40,3**						3,7 ^{ns}	

* O primeiro número refere-se à região ecogeográfica (1 – Sul; 2 – Cerrados; 3 - Cerrados-Norte; 4 – Amazônia; 5 – Caatinga; e 6 - Agreste-Litoral); e o segundo ao tipo de grão (1 – Dentado; 2 – Semidentado; 3 – Duro; e 4 - Semiduro).

** , ^{ns} Significativo e não-significativo, respectivamente, pelo teste de χ^2 , a 1% de probabilidade.

Após a determinação do número de acessos amostrados, realizou-se amostragem aleatória em cada extrato. Nesta estratégia, o valor de χ^2 obtido foi de baixa magnitude e não-significativo, indicando a manutenção da proporcionalidade, sendo talvez um dos motivos da grande utilização desta estratégia.

c) Estratégia logarítmica (L)

Aproximadamente 25% das coleções núcleo desenvolvidas utilizam essa estratégia para a determinação do número de entradas por grupo (Brown e Spillane, 1999).

Essa estratégia apresenta a vantagem de evitar a amostragem excessiva de acessos dos extratos grandes e aumentar o número de acessos amostrados nos extratos pequenos comparativamente à estratégia P.

Devido ao reduzido número de acessos nos extratos 4, 14, 17, 20 e 21, não se aplicou a estes o logaritmo da frequência, sendo os seus acessos amostrados integralmente (Tabela 5). Determinado o número de acessos amostrados por extrato, realizou-se amostragem aleatória nos extratos.

O teste de χ^2 foi não-significativo, indicando manutenção da frequência dos acessos nos extratos. Nesta estratégia, os grupos menores contribuíram com maior número de acessos e grupos maiores com menor número, em comparação com a estratégia P.

d) Estratégia aleatória (A)

Nesta estratégia não foi considerada a estratificação, sendo amostrados os 243 acessos utilizando-se o procedimento de geração de números aleatórios.

O valor de χ^2 apresentou baixa magnitude e foi não-significativo. Quando se realiza amostragem aleatória, acessos pertencentes a extratos maiores possuem maior probabilidade de serem amostrados, o que garante proporcionalidade.

Nada impede que uma coleção núcleo seja confeccionada a partir de simples amostragem aleatória dos acessos, ou simplesmente, amostragem de acessos cujos números de entrada sejam equidistantes. Entretanto, estas estratégias não garantem a formação de grupos geneticamente distintos.

e) Estratégia com base em análise multivariada (MV)

Análises multivariadas também permitem a formação de grupos geneticamente divergentes a partir de várias técnicas, utilizando-se características agronômicas, marcadores genéticos ou outras características.

Dos 806 acessos landraces, 608 foram avaliados em Sete Lagoas e devido principalmente a fatores climáticos, 198 acessos foram avaliados em Janaúba. Os acessos avaliados em Janaúba são oriundos principalmente das regiões Norte e Nordeste do país. Como não se tem todos os acessos avaliados em um único local, optou-se por realizar a estratificação quanto ao local de avaliação visando a diminuição dos efeitos de interação genótipo x ambiente. O número de acessos amostrados foi proporcional ao tamanho do extrato, conseqüentemente, foram amostrados 183 acessos em Sete Lagoas e 60 em Janaúba, de modo a se obter 243 acessos.

Considerando-se a estratificação pela região ecogeográfica e tipo de grão, foram obtidos 13 extratos para Janaúba e 19 para Sete Lagoas (Tabela 5). Em Janaúba, os extratos 1, 2, 7, 8, 11, 12 e 13 e, em Sete Lagoas, os de número 9, 18 e 19, por apresentarem pequeno número de acessos, não foram submetidos a análises estatísticas, sendo estes amostrados integralmente. Após a determinação do número de acessos amostrados em cada extrato, foram realizadas análises multivariadas para determinar quais acessos seriam amostrados nos extratos.

Para os extratos de Janaúba o teste de χ^2 foi significativo, a 1% de probabilidade. Isto ocorreu devido a amostragem integral dos acessos pertencentes a extratos com pequeno número de acessos, o que levou a grandes alterações nas freqüências. Já para os extratos de Sete Lagoas, mesmo sendo realizada a amostragem integral em alguns extratos, o teste de χ^2 não foi significativo.

Foi possível observar a dispersão dos acessos em cada extrato em gráficos realizados a partir dos escores dos três primeiros componentes principais e agrupamento de Tocher, tendo como medida de dissimilaridade a distância euclidiana “invertida” (Figuras 1 a 22). Nestes gráficos, os acessos estão

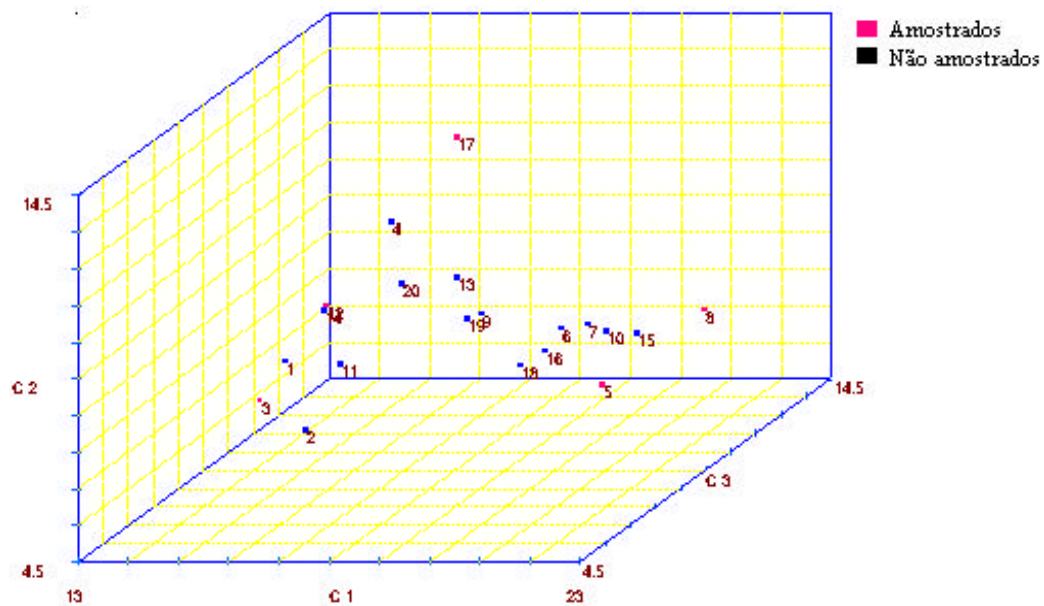


Figura 1 – Gráfico de dispersão dos 20 acessos do extrato 3 de Janaúba, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

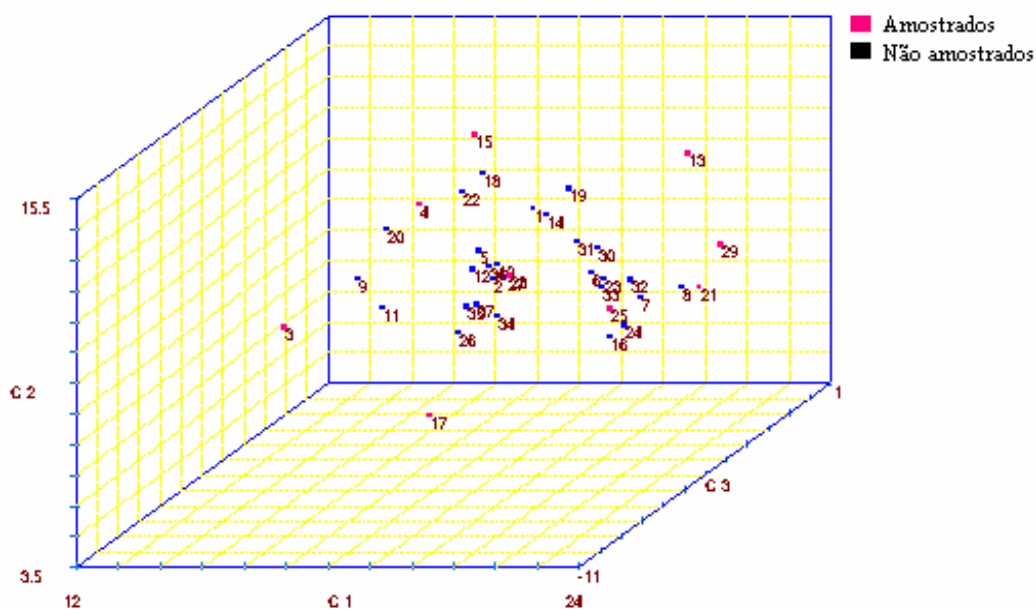


Figura 2 – Gráfico de dispersão dos 37 acessos do extrato 4 de Janaúba, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

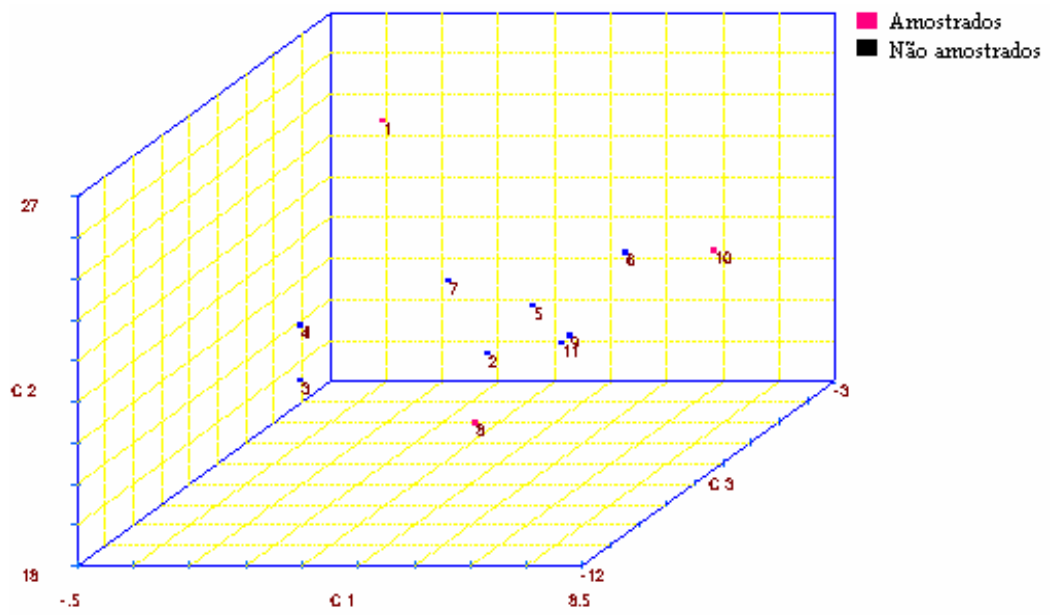


Figura 3 – Gráfico de dispersão dos 11 acessos do extrato 5 de Janaúba, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

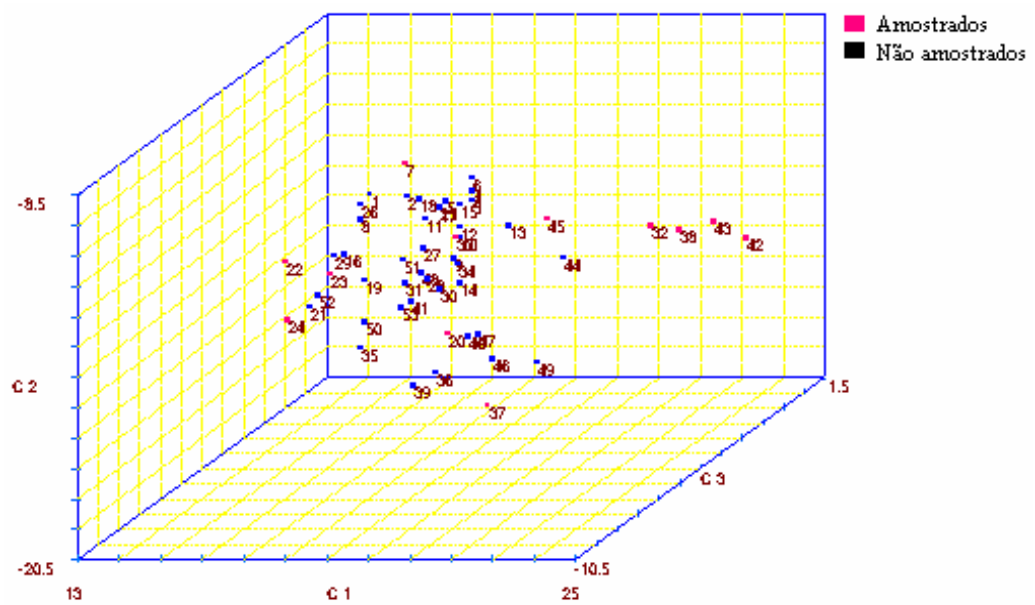


Figura 4 – Gráfico de dispersão dos 53 acessos do extrato 6 de Janaúba, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

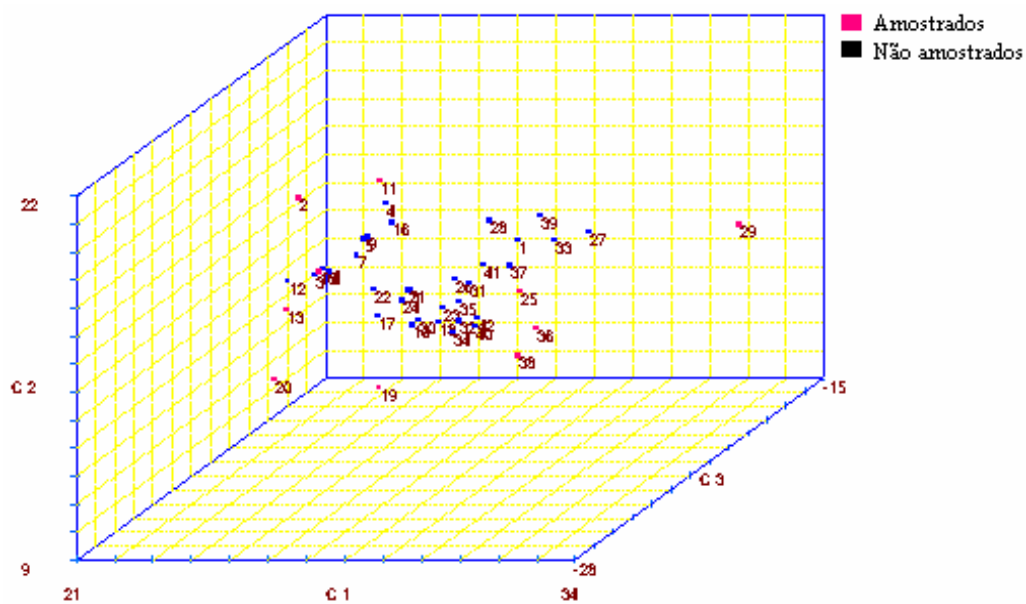


Figura 5 – Gráfico de dispersão dos 42 acessos do extrato 9 de Janaúba, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

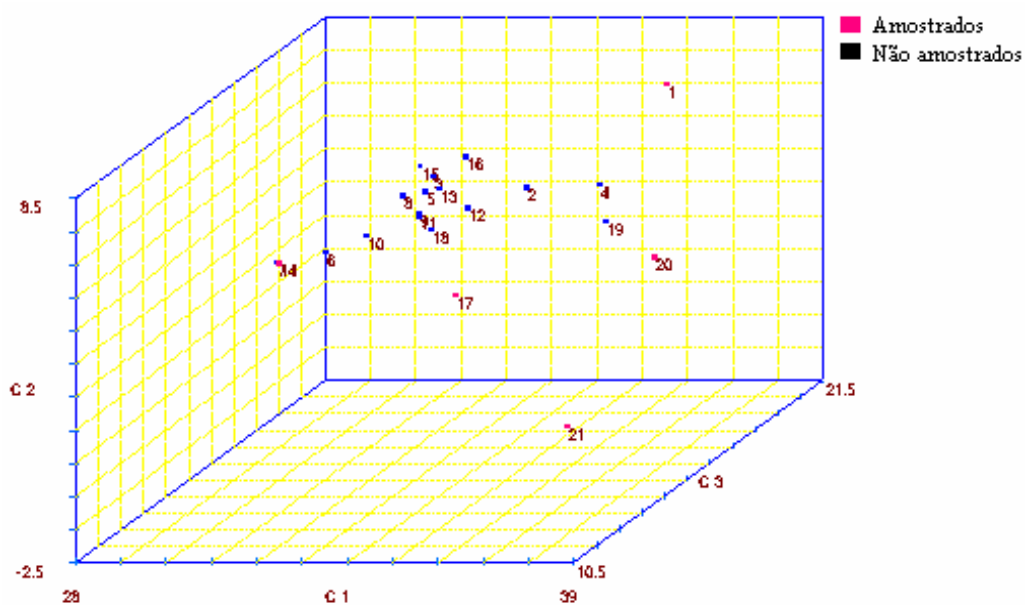


Figura 6 – Gráfico de dispersão dos 21 acessos do extrato 10 de Janaúba, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

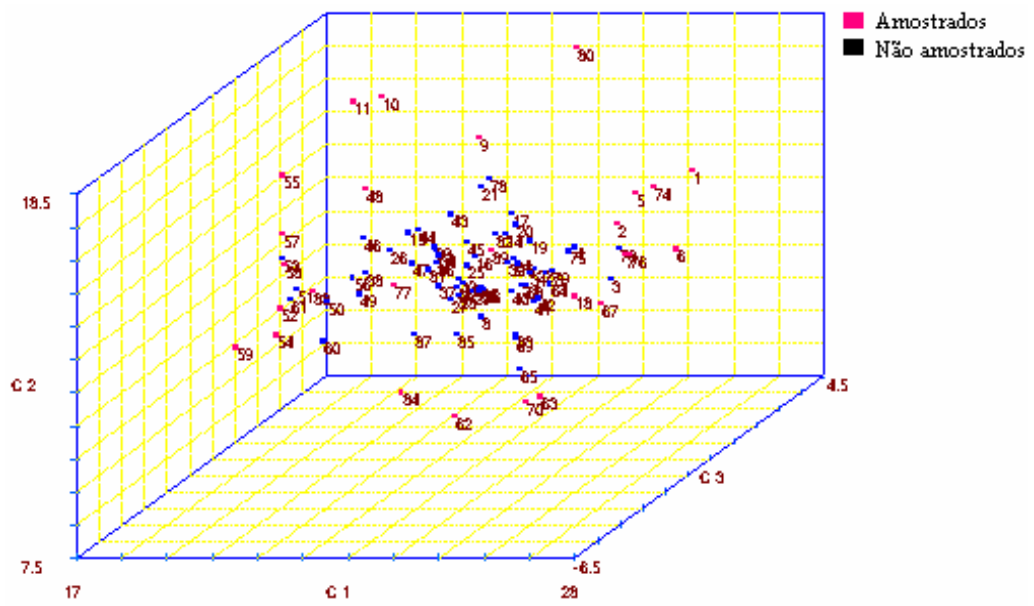


Figura 7 – Gráfico de dispersão dos 89 acessos do extrato 1 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

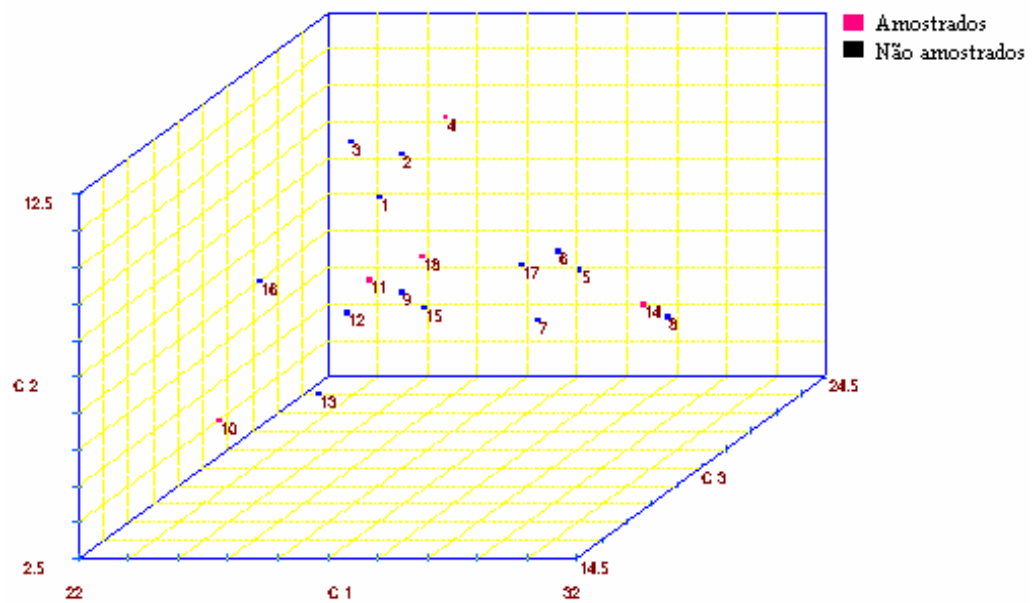


Figura 8 – Gráfico de dispersão dos 89 acessos do extrato 2 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

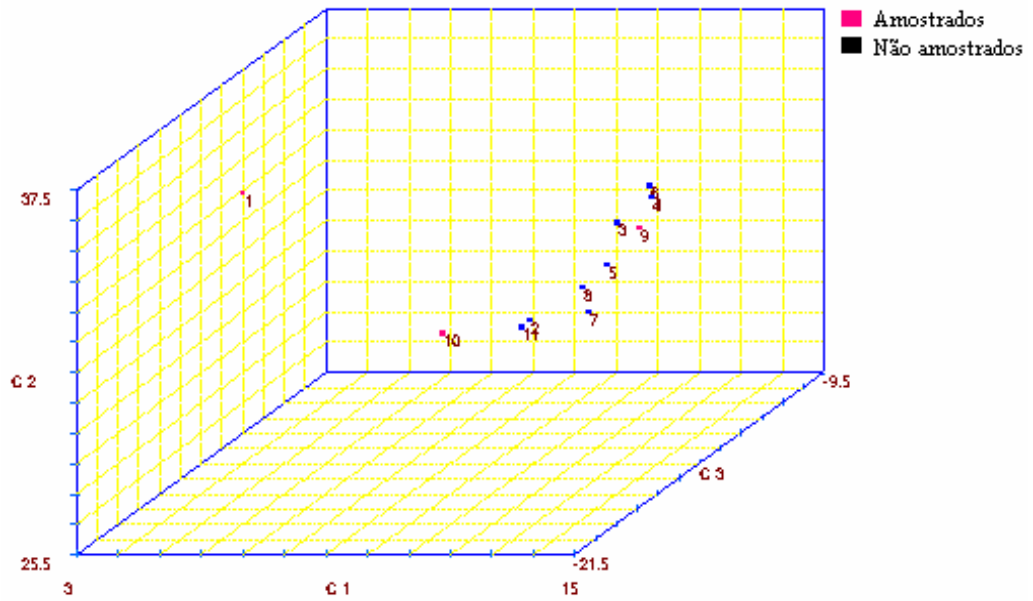


Figura 9 – Gráfico de dispersão dos 11 acessos do extrato 3 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

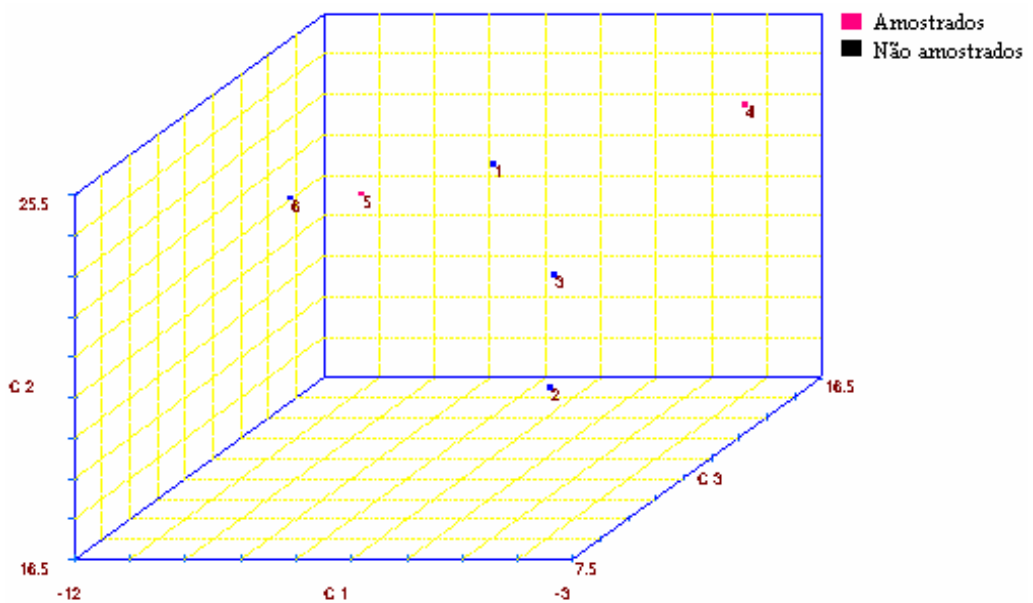


Figura 10 – Gráfico de dispersão dos 6 acessos do extrato 4 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

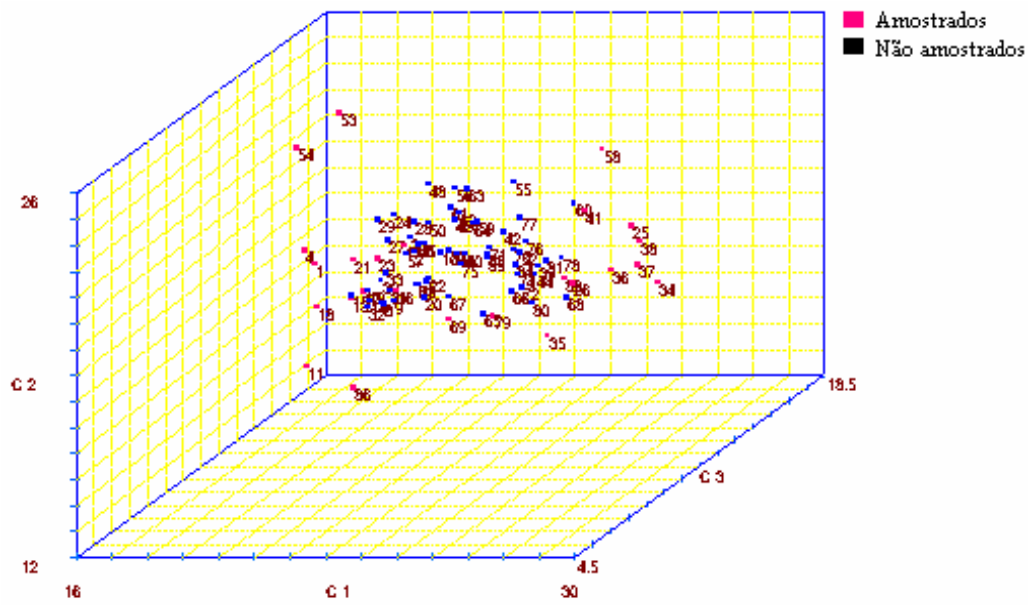


Figura 11 – Gráfico de dispersão dos 86 acessos do extrato 5 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

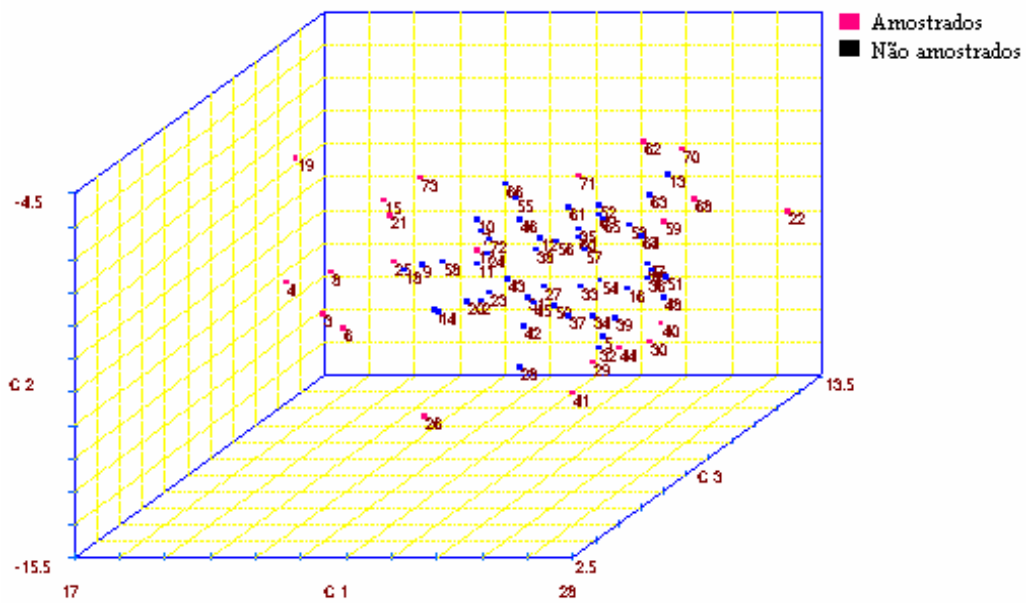


Figura 12 – Gráfico de dispersão dos 76 acessos do extrato 6 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

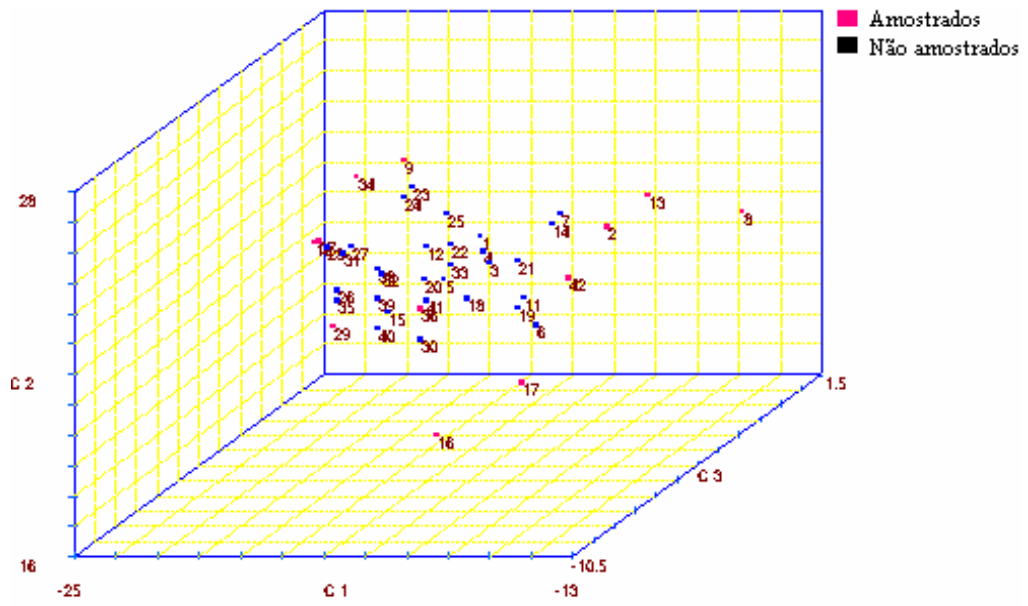


Figura 13 – Gráfico de dispersão dos 42 acessos do extrato 7 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

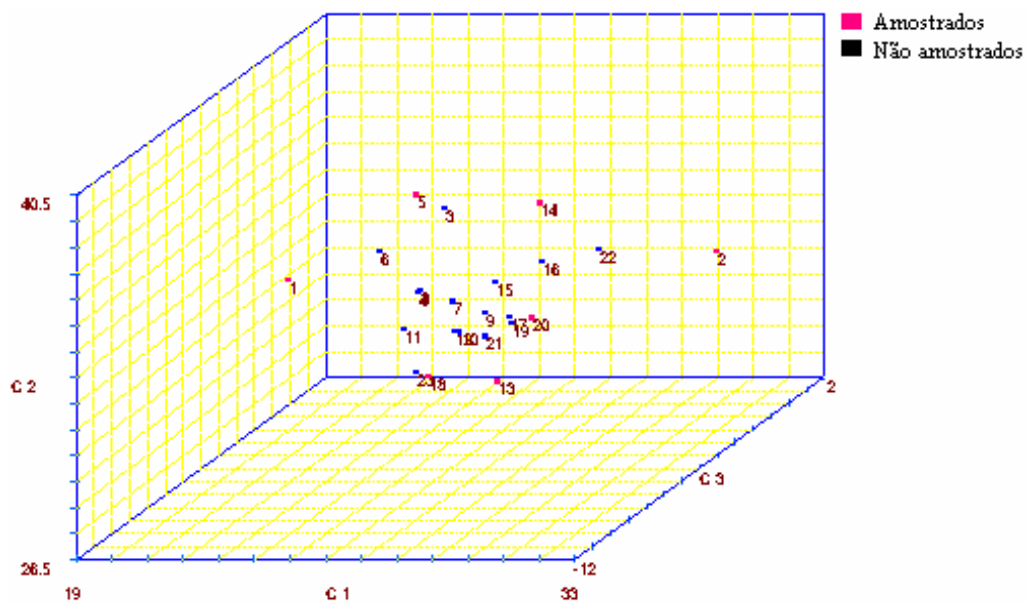


Figura 14 – Gráfico de dispersão dos 23 acessos do extrato 8 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

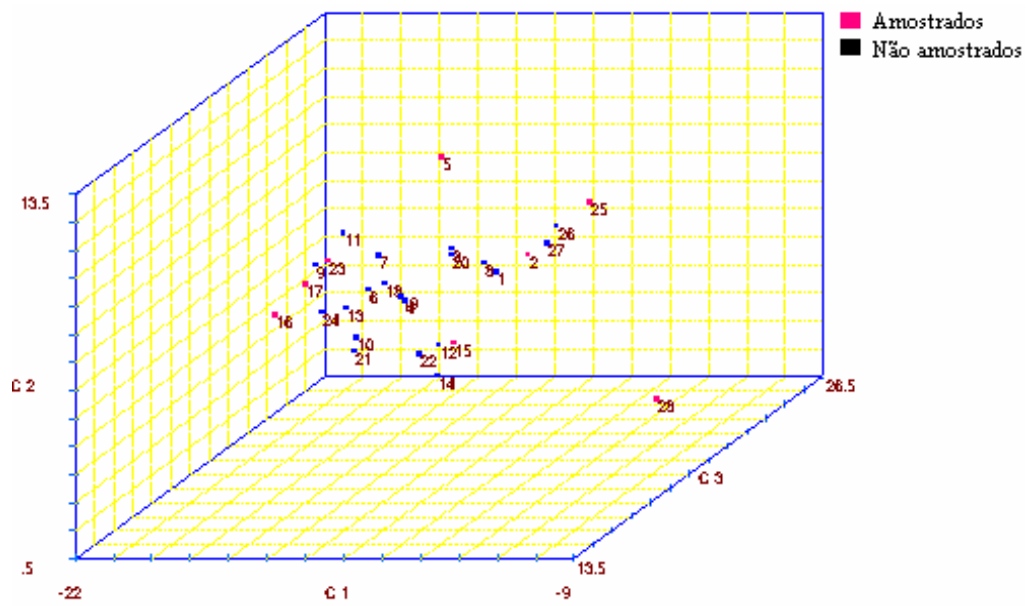


Figura 15 – Gráfico de dispersão dos 28 acessos do extrato 10 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

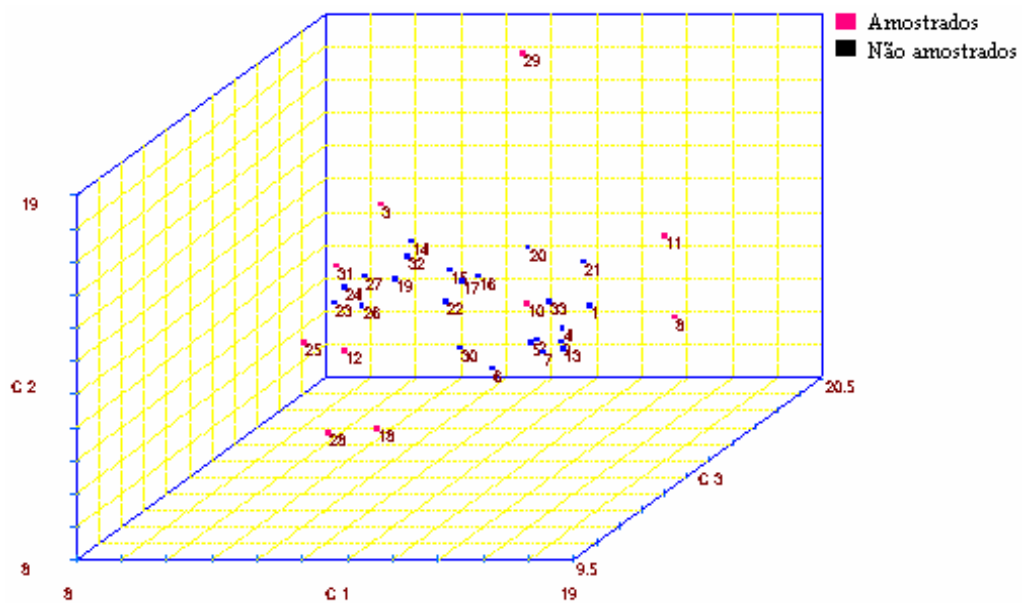


Figura 16 – Gráfico de dispersão dos 33 acessos do extrato 11 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

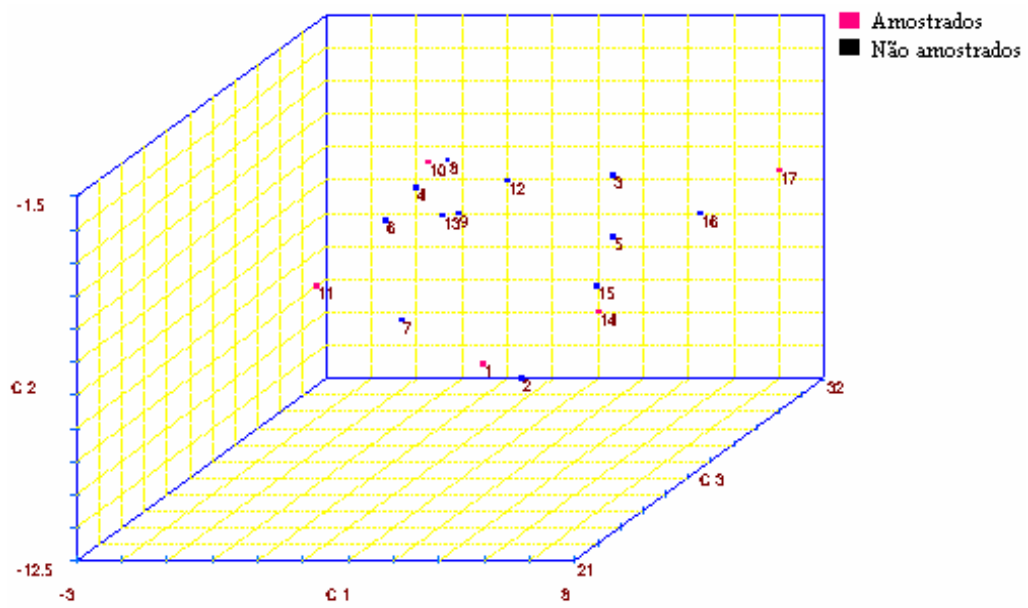


Figura 17 – Gráfico de dispersão dos 17 acessos do extrato 12 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

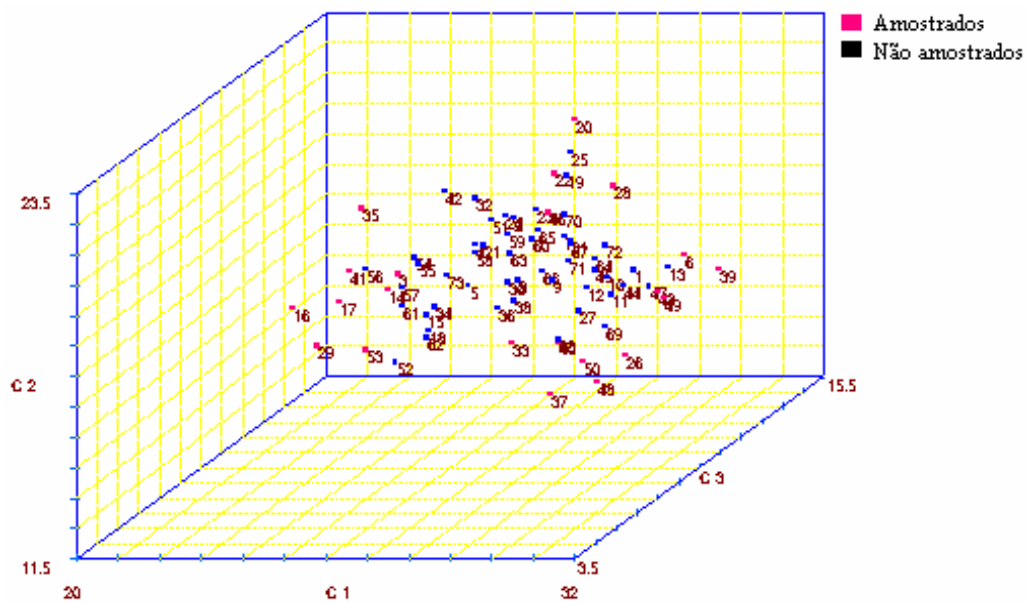


Figura 18 – Gráfico de dispersão dos 73 acessos do extrato 13 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

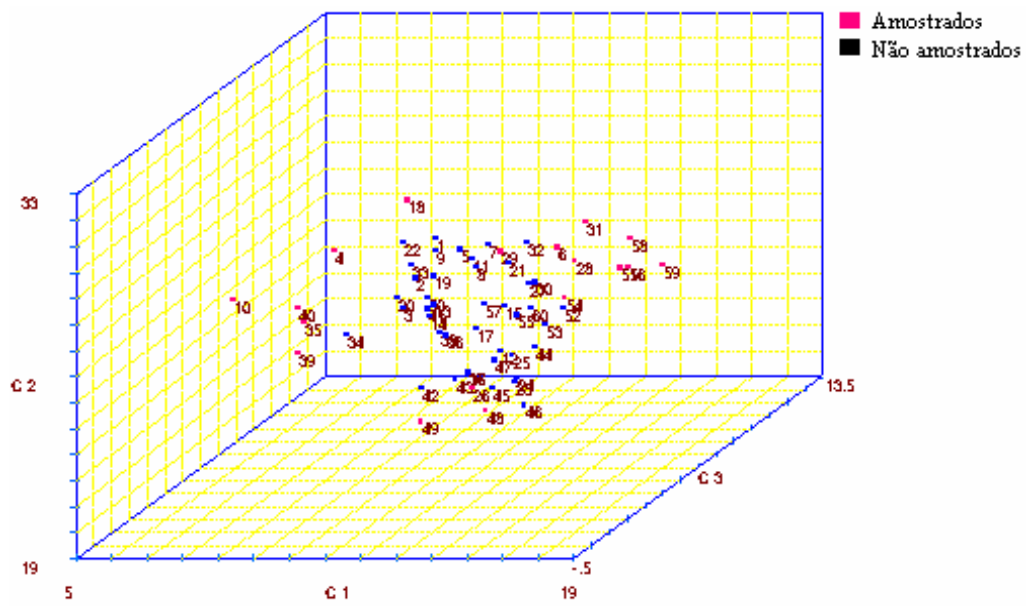


Figura 19 – Gráfico de dispersão dos 60 acessos do extrato 14 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

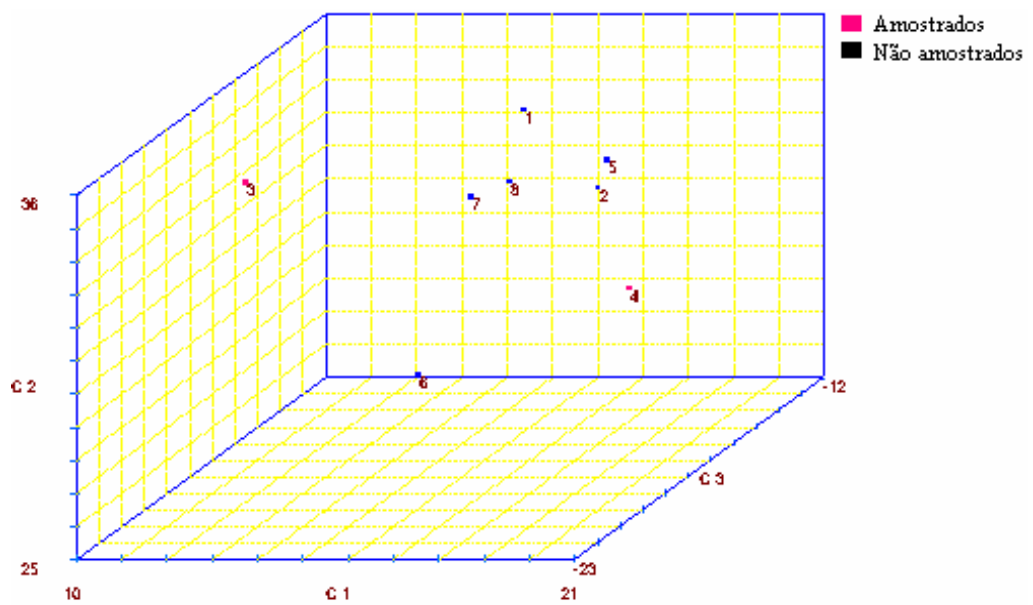


Figura 20 – Gráfico de dispersão dos 8 acessos do extrato 15 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

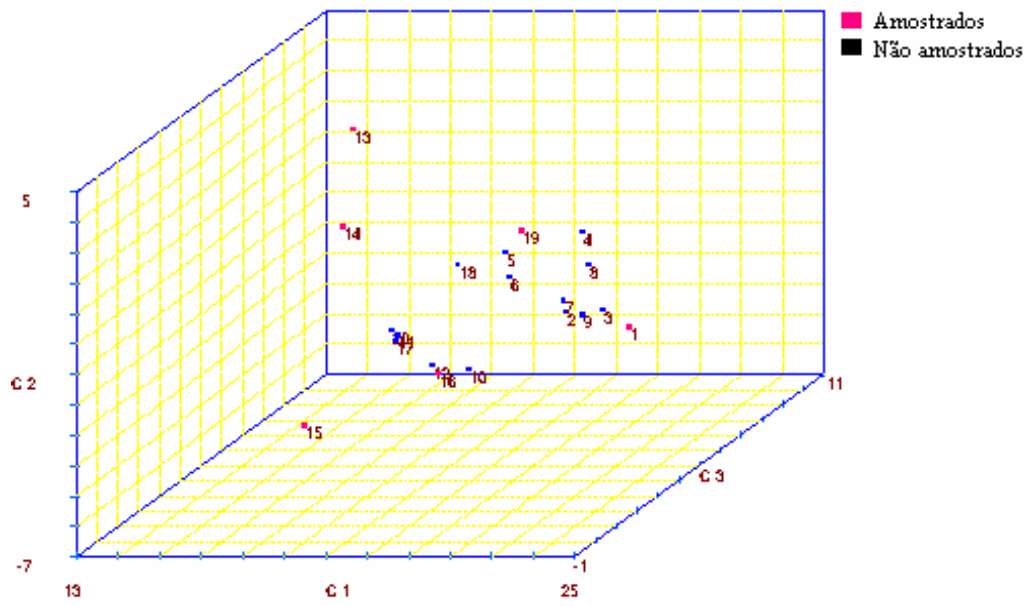


Figura 21 – Gráfico de dispersão dos 20 acessos do extrato 16 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

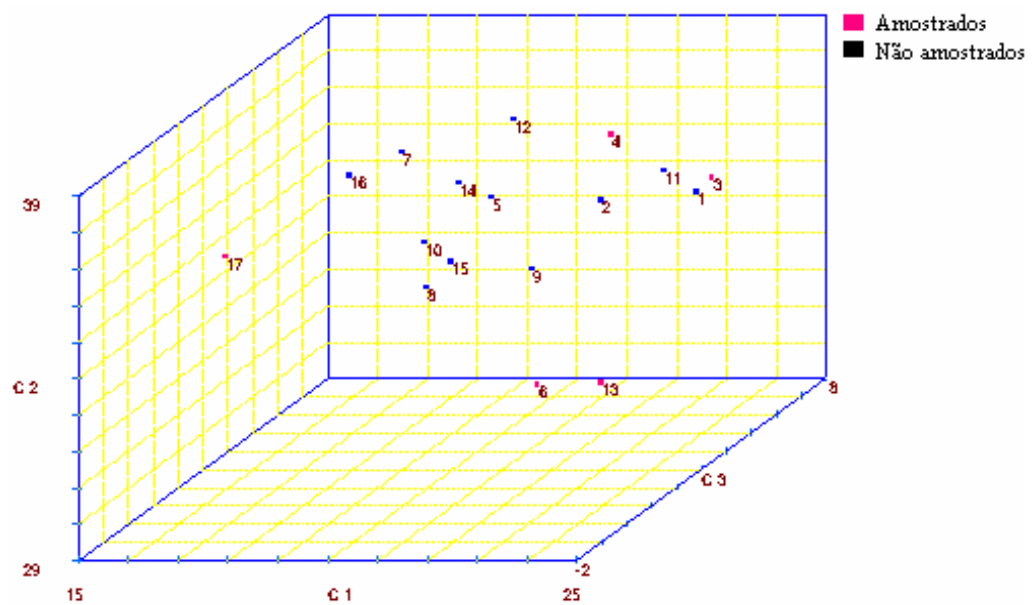


Figura 22 – Gráfico de dispersão dos 17 acessos do extrato 17 de Sete Lagoas, com base nos escores dos três primeiros componentes principais.

numerados de forma idêntica à numeração encontrada na Tabela 6, sendo possível a identificação dos acessos nos gráficos.

Foi verificada boa concordância entre a metodologia baseada em Componentes Principais e o Método de Tocher. Entretanto, deve-se ressaltar que algumas vezes os dois genótipos mais divergentes em relação ao grupo, podem ser muito próximos geneticamente, ressaltando assim a importância da análise gráfica.

Os acessos dos extratos de Sete Lagoas apresentaram maior disponibilidade de características em relação aos acessos dos extratos de Janaúba (Tabela 7). Pode-se observar que as características avaliadas dentro de cada extrato não foram necessariamente as mesmas, mesmo dentro do mesmo local de avaliação. O fato de as análises estatísticas terem sido realizadas em nível de extrato permitiu que toda a informação disponível dentro de cada extrato fosse utilizada no estudo de divergência genética.

De acordo com a análise de importância de características realizada pelo método de Singh, verificou-se que, de modo geral, para os extratos de Janaúba, as características que mais contribuíram para a discriminação dos genótipos foram a AP, PMG e AE. Já para os extratos avaliados em Sete Lagoas, as características que mais contribuíram foram o PMG, PEP e AE (Tabela 8).

Pode-se observar que, com exceção do extrato 4, de Sete Lagoas, a porcentagem da variância explicada pelos primeiros componentes principais foi inferior aos 80%, recomendados por Cruz e Regazzi (1997); entretanto, ao se realizar essa análise em conjunto com o método de Tocher, pôde-se obter maior precisão. Ressalta-se, também, que é comum em trabalhos com recursos genéticos encontrar este tipo de resultado.

Tabela 6 – Relação das características avaliadas por extrato em Janaúba e Sete Lagoas

Janaúba	FM	FF	POE	NRP	AP	AE	PPQ	PPA	NFE	NF	DC	NE	CE	DE	NFG	NGF	PEP	PGP	DS	PMG
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	X	X	-	-	X	X	X	X	-	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X
4	X	X	-	-	X	X	X	X	-	-	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X
5	X	X	-	-	X	X	X	X	-	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X
6	X	X	-	-	X	X	X	X	-	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
10	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S.Lagoas	FM	DFE	POE	NRP	AP	AE	PPQ	PPA	NFE	NF	DC	NE	CE	DE	NFG	NGF	PEP	PGP	DS	PMG
1	X	X	-	X	X	X	-	-	-	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X
2	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
3	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
5	X	X	-	X	X	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
6	X	X	-	X	X	-	-	-	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X
7	X	X	-	X	X	X	-	-	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X
8	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
9	X	X	-	-	X	X	-	-	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	-	-
10	X	X	-	-	X	X	-	-	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X
11	X	X	-	-	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
12	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
13	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X
14	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
15	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
16	X	X	-	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
17	X	X	-	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

X e “-” = presença e ausência da característica no referido extrato, respectivamente.

Tabela 7 – Estimativas das variâncias (autovalores λ_j), das percentagens da variância acumulada (λ , %) explicadas pelos três primeiros componentes principais e importância relativa das variáveis, de acordo com o método de Singh (1981)

Extrato	Estimativa das variâncias			I %	Singh
	I ₁	I ₂	I ₃		
Janaúba					
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	44,94	18,09	12,79	75,83	PMG, PEP, AP e PGP
4	35,79	19,61	11,68	67,08	AP, AE, PMG e PEP
5	33,75	23,62	16,34	73,73	AP, PMG E AE
6	33,36	21,55	18,59	73,50	AP, PMG, AE e PEP
7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-
9	30,52	13,31	11,81	55,66	AP, PMG, PEP e AE
10	28,70	18,07	15,78	62,56	PMG, AP e AE
11	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
Sete Lagoas					
1	30,31	19,29	14,2	63,81	PGM, PEP e AP
2	32,16	23,28	12,04	67,49	PMG e CE
3	43,94	17,28	11,44	72,66	AE, PMG, PEP e PGP
4	39,97	27,37	11,48	82,82	PMG, NGF, PEP e AP
5	32,23	15,40	13,12	60,74	PMG, PEP, PGP e AP
6	35,18	18,98	11,33	65,49	PMG, PEP, AP e PGP
7	31,26	18,16	13,34	62,75	PMG, AP e PGP
8	26,77	18,69	16,73	62,20	AP, PMG, AE e PEP
9	-	-	-	-	-
10	36,04	21,72	12,69	70,45	PMG, AP e AE
11	28,07	22,28	13,99	64,33	PMG, AP, AE e PEP
12	35,94	21,39	16,56	73,89	PMG, AP, AE e PEP
13	27,76	15,46	12,91	56,12	PMG, PEP, AP e PGP
14	26,17	18,61	13,33	58,11	PMG, AP, AE e PEP
15	37,66	29,84	12,00	74,54	PMG, AP, AE e PEP
16	27,37	23,75	12,14	63,27	PMG, PEP, AP e PGP
17	34,19	21,92	11,61	67,73	PMG, PEP, PGP e AP
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-

“-” = Extratos em que não foram realizadas análises multivariadas.

3.4.2. Amostragem de 10% dos acessos landraces

Para a amostragem de 10% dos acessos landraces foram consideradas as mesmas estratificações e estratégias de amostragem realizadas anteriormente. A diferença foi somente em relação ao menor número de acessos amostrados em cada extrato.

A amostragem de 10% dos acessos landraces equivaleu a 80 acessos em cada estratégia.

a) Estratégia constante (C)

Foram amostrados quatro acessos por extrato. Entretanto, os extratos 14, 20 e 21, foram amostrados integralmente devido ao pequeno número de acessos neles contidos. Nos extratos 1 e 15, foi amostrado um acesso a mais para poder totalizar 80 acessos landraces (Tabela 8). Posteriormente, realizou-se amostragem aleatória dentro de cada extrato. O teste de χ^2 foi significativo, a 1% de probabilidade, indicando significativa alteração nas frequências dos acessos nos extratos com a utilização desta estratégia.

b) Estratégia proporcional (P)

Devido ao pequeno número de acessos contidos nos extratos 4, 14, 20 e 21, estes não tiveram nenhum acesso amostrado. Determinado o número de acessos em cada extrato, realizou-se amostragem aleatória para a obtenção dos 80 acessos (Tabela 8). Nesta estratégia, o valor de χ^2 apresentou baixa magnitude, não sendo significativo ; portanto, essa estratégia causou pequenas alterações nas frequências dos acessos nos extratos.

Tabela 8 – Extratos obtidos, código dos extratos, número e frequência de acessos por extrato, número de acessos amostrados em cada e teste de χ^2 considerando-se as estratégias constante (C), proporcional (P), logarítmica (L) e aleatória (A), e amostragem de 10% dos acessos

Extrato	Código*	Coleção Ativa (CA)		Constante (C)		Proporcional (P)		Logarítmica (L)		Aleatória (A)	
		Nº Acessos	Freq.	Nº Acessos	Freq.	Nº Acessos	Freq.	Nº Acessos	Freq.	Nº Acessos	Freq.
1	1-1	89	11,04	5	6,25	9	11,25	8	0,10	9	11,25
2	1-2	18	2,23	4	5,00	2	2,50	2	0,03	2	2,50
3	1-3	11	1,36	4	5,00	1	1,25	1	0,01	0	0,00
4	1-4	6	0,74	4	5,00	0	0,00	6	61,31	0	0,00
5	2-1	87	10,79	4	5,00	9	11,25	6	1,01	14	17,50
6	2-2	76	9,43	4	5,00	8	10,00	6	0,39	8	10,00
7	2-3	42	5,21	4	5,00	4	5,00	4	0,01	3	3,75
8	2-4	23	2,85	4	5,00	2	2,50	3	0,28	4	5,00
9	3-1	21	2,61	4	5,00	2	2,50	3	0,50	3	3,75
10	3-2	37	4,59	4	5,00	4	5,00	4	0,04	3	3,75
11	4-1	39	4,84	4	5,00	4	5,00	4	0,01	2	2,50
12	4-2	86	10,67	4	5,00	9	11,25	6	0,94	10	12,50
13	4-3	19	2,36	4	5,00	2	2,50	2	0,01	1	1,25
14	4-4	3	0,37	3	3,75	0	0,00	3	30,65	0	0,00
15	5-1	115	14,27	5	6,25	11	13,75	7	2,13	10	12,50
16	5-2	81	10,05	4	5,00	8	10,00	6	0,65	8	10,00
17	5-3	9	1,12	4	5,00	1	1,25	1	0,02	0	0,00
18	6-1	23	2,85	4	5,00	2	2,50	3	0,28	1	1,25
19	6-2	18	2,23	4	5,00	2	2,50	2	0,03	2	2,50
20	6-3	2	0,25	2	2,50	0	0,00	2	20,44	0	0,00
21	6-4	1	0,12	1	1,25	0	0,00	1	10,22	0	0,00
Total		806		80		80		80		80	
	χ^2				141,4*		1,8 ^{ns}		129,0**		14,0 ^{ns}

* O primeiro número refere-se à região ecogeográfica (1 – Sul; 2 – Cerrados; 3 – Cerrados-Norte; 4 – Amazônia; 5 – Caatinga; e 6 – Agreste-Litoral), e o segundo ao tipo de grão (1 – Dentado; 2 – Semidentado; 3 – Duro; e 4 – Semiduro).

CA = coleção ativa de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo.

** , ^{ns} Significativo e não-significativo, respectivamente, pelo teste de χ^2 , a 1% de probabilidade.

c) Estratégia logarítmica (L)

Depois de determinado o número de acessos amostrados, realizou-se amostragem aleatória dentro de cada extrato. Devido ao reduzido número de acessos nos extratos 4, 14, 20 e 21, não se aplicou a estes o logaritmo da frequência, sendo os seus acessos amostrados integralmente (Tabela 8).

O teste de χ^2 foi significativo, a 1% de probabilidade. Isto ocorreu devido à amostragem integral dos extratos 4, 14, 20 e 21, onde se puderam observar grandes alterações nas frequências, mas, nos outros, as alterações foram pequenas.

d) Amostragem aleatória (A)

Nesta estratégia não foi considerada a estratificação, sendo amostrados os 80 acessos utilizando-se o procedimento de geração de números aleatórios.

A utilização desta técnica não gerou significativas alterações nas frequências dos acessos em cada extrato (Tabela 8).

e) Análise multivariada (MV)

As análises multivariadas aqui utilizadas já foram realizadas anteriormente quando se utilizou a intensidade de amostragem de 30% dos acessos. A diferença é que aqui foram amostrados apenas 10% dos acessos (Tabela 9).

Em Janaúba, os extratos 1, 2, 7, 8, 11, 12 e 13 e em Sete Lagoas os extratos 9, 18 e 19, por apresentarem um pequeno número de acessos, não foram submetidos a análises estatísticas, sendo estes amostrados integralmente.

O número de acessos amostrados em cada extrato foi proporcional ao tamanho do extrato, sendo amostrados 20 acessos avaliados em Janaúba e 60 avaliados em Sete Lagoas, totalizando 80 acessos.

Tabela 9 – Extratos obtidos, códigos dos extratos, número e frequência de acessos por extrato, número de acessos amostrados por extrato e teste de χ^2 considerando-se a estratégia multivariada e amostragem de 10% dos acessos

Janaúba						Sete Lagoas					
Extrato	Código*	Nº (CA)	Freq. (CA)	Nº (CN)	Freq. (CN)	Extrato	Código*	Nº (CA)	Freq. (CA)	Nº (CN)	Freq. (CN)
1	2-1	1	0,51	1	5,00	1	1-1	89	14,64	8	13,33
2	2-2	3	1,52	1	5,00	2	1-2	18	2,96	2	3,33
3	3-1	20	10,10	1	5,00	3	1-3	11	1,81	1	1,67
4	3-2	37	18,69	3	15,00	4	1-4	6	0,99	1	1,67
5	4-1	11	5,56	1	5,00	5	2-1	86	14,14	8	13,33
6	4-2	53	26,77	4	20,00	6	2-2	73	12,01	7	11,67
7	4-3	2	1,01	1	5,00	7	2-3	42	6,91	4	6,67
8	4-4	3	1,52	1	5,00	8	2-4	23	3,78	2	3,33
9	5-1	42	21,21	3	15,00	9	3-1	1	0,16	1	1,67
10	5-2	21	10,61	1	5,00	10	4-1	28	4,61	2	3,33
11	5-3	1	0,51	1	5,00	11	4-2	33	5,43	3	5,00
12	6-1	3	1,52	1	5,00	12	4-3	17	2,80	2	3,33
13	6-2	1	0,51	1	5,00	13	5-1	73	12,01	7	11,67
-	-	-	-	-	-	14	5-2	60	9,87	5	8,33
-	-	-	-	-	-	15	5-3	8	1,32	1	1,67
-	-	-	-	-	-	16	6-1	20	3,29	2	3,33
-	-	-	-	-	-	17	6-2	17	2,80	2	3,33
-	-	-	-	-	-	18	6-3	2	0,33	1	1,67
-	-	-	-	-	-	19	6-4	1	0,16	1	1,67
Total		198		20		Total		608		60	
χ^2				169,7**				34,6 ^{ns}			

* O primeiro número refere-se à região ecogeográfica (1 – Sul; 2 – Cerrados; 3 – Cerrados-Norte; 4 – Amazônia; 5 – Caatinga; e 6 – Agreste-Litoral) e o segundo, ao tipo de grão (1 – Dentado; 2 – Semidentado; 3 – Duro; e 4 – Semiduro).

** , ^{ns} Significativo e não-significativo, respectivamente, pelo teste de χ^2 , a 1% de probabilidade.

O teste de χ^2 foi significativo, a 1% de probabilidade, indicando a ocorrência de alterações significativas nas frequências dos acessos nos extratos de Janaúba; portanto, a amostragem integral de grupos pequenos promoveu grandes alterações nas frequências dos extratos e alteração do resultado final do teste, sendo recomendável desconsiderar grupos pequenos na realização dos cálculos (Tabela 9).

3.5. Estratégia de amostragem de acessos melhorados

Abadie et al. (2000) estratificaram os acessos melhorados quanto à entidade responsável pelo seu desenvolvimento em acessos obtidos pela Embrapa Milho e Sorgo, e obtidos de outros programas de melhoramento. Essa estratificação fundamenta-se em análise de componentes principais, onde os acessos obtidos na Embrapa Milho e Sorgo e os oriundos de outros programas de melhoramento foram agrupados em grupos distintos. Os acessos melhorados na Embrapa Milho e Sorgo foram obtidos após 1976, ano de criação da Embrapa. Sobre estes acessos, o germoplasma elite do CIMMYT teve grande influência. Os acessos oriundos de outros programas de melhoramento são relativamente mais antigos, sobre eles o germoplasma do CIMMYT teve menor influência.

Os acessos melhorados foram estratificados quanto ao local de melhoramento (Embrapa Milho e Sorgo ou outras instituições). O reduzido número de acessos melhorados inviabilizou a utilização de algumas metodologias de amostragem, por isso, utilizou-se à estratégia com base em análise multivariada, de modo idêntico ao realizado para acessos landraces, sendo adotada intensidade de amostragem de 20% dos acessos.

Visando verificar se os acessos melhorados utilizados formavam dois grupos distintos em relação ao local de melhoramento, realizou-se análise de componentes principais considerando-se as características FM, FF, NRP, AP, NFE, DC, DE, NFG, NGF, DS e PMG. Os três primeiros componentes principais explicaram 54,84% da variação total. No gráfico realizado a partir dos escores dos três primeiros componentes principais (Figura 23), pode-se observar que não foram obtidos dois grupos distintos, ou seja, um grupo somente com acessos melhorados na Embrapa e outro com acessos melhorados em outras instituições. Além disso, todos os acessos melhorados foram avaliados em Sete Lagoas; portanto, não se considerou estratificação, sendo os acessos melhorados amostrados como um único extrato.

A identificação de todos os acessos melhorados utilizados encontra-se na Tabela 19.

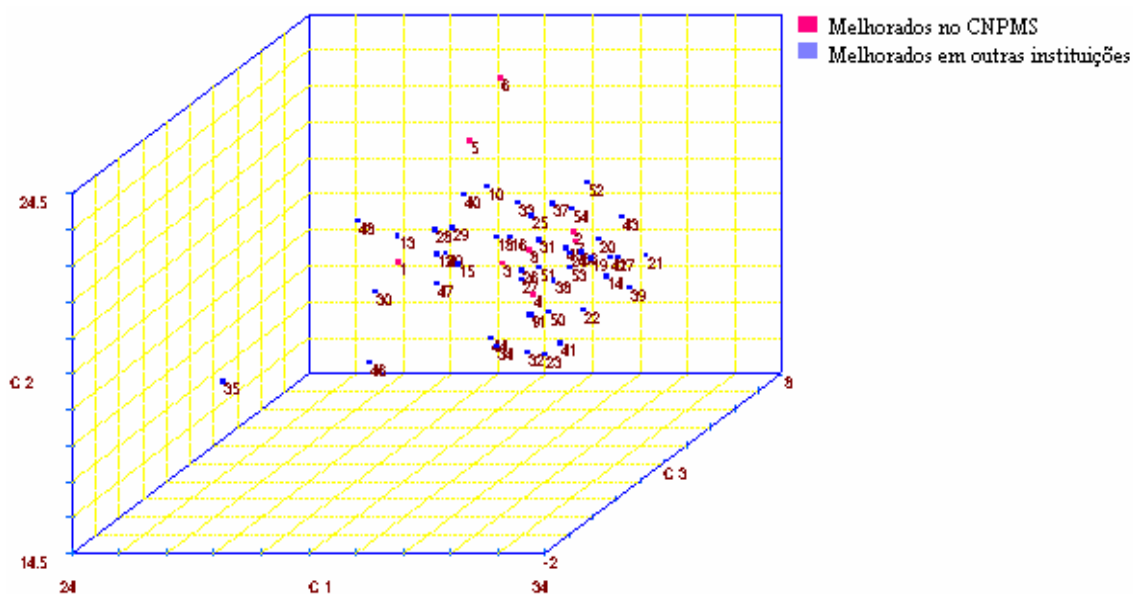


Figura 23 – Gráfico de dispersão de 54 acessos melhorados considerando-se os três primeiros componentes principais.

De acordo com a metodologia de Singh, as características AP e PMG foram as que apresentaram maior importância relativa para a discriminação dos acessos.

Mediante o gráfico de dispersão dos acessos, realizado a partir dos escores dos três primeiros componentes principais, pode-se visualizar os acessos melhorados amostrados (Figura 24).

Entre os acessos melhorados amostrados, encontram-se três acessos desenvolvidos pela Empresa Milho e Sorgo e sete desenvolvidos por outras instituições.

3.6. Estratégia de amostragem de acessos introduzidos

Foram considerados acessos introduzidos de 21 países e alguns oriundos do CIMMYT, totalizando 58 acessos (Tabela 12). Acessos introduzidos originários de regiões de clima temperado não foram considerados por apresentarem pequena quantidade de sementes e dificuldade de multiplicação devido a fatores climáticos.

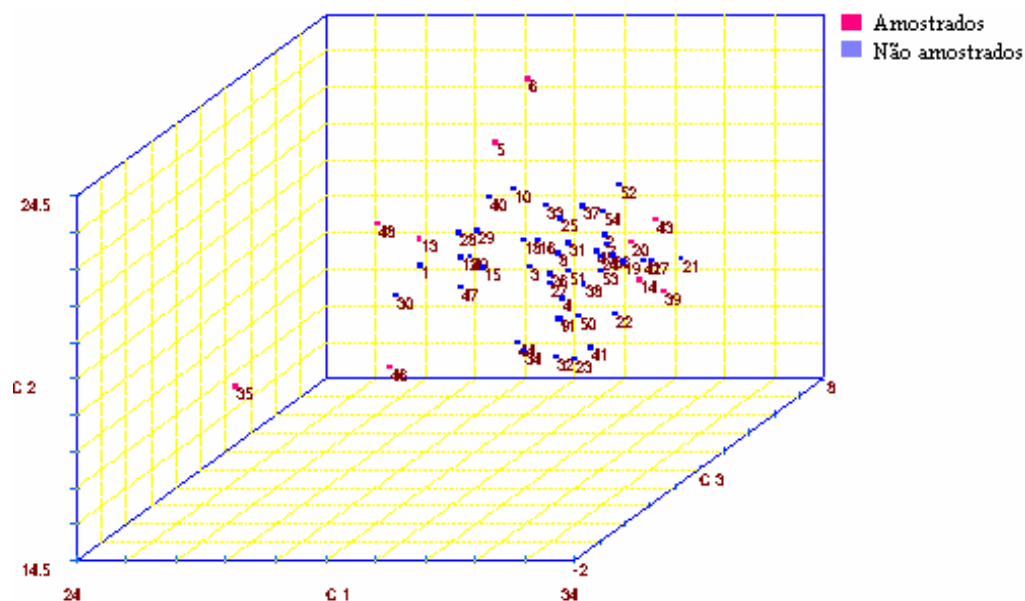


Figura 24 – Gráfico de dispersão de 54 acessos melhorados considerando-se os três primeiros componentes principais e identificação dos acessos amostrados, de acordo como o método de otimização de Tocher, tendo como medida de dissimilaridade a distância euclidiana “invertida”.

A estratégia de amostragem adotada foi baseada em análises multivariadas, pois, o fato de muitos países contribuírem com reduzido número de acessos dificultou a utilização de determinadas estratégias de amostragem.

Tabela 12 – Origem geográfica dos acessos introduzidos pertencentes à coleção ativa da Embrapa Milho e Sorgo, considerados para obtenção da coleção núcleo

País	Número de acessos	País	Número de acessos
África do Sul	2	México	5
Argentina	7	Namíbia	1
Caribe	1	Paquistão	1
CIMMYT	12	Paraguai	1
Colômbia	2	Peru	1
Guatemala	3	Porto Rico	2
Guiana	1	Rep. Dominicana	3
Guiana Francesa	1	Suriname	1
Honduras	1	Tailândia	1
Índia	1	Uruguai	4
Japão	1	USA	6
Total			58

Dos 58 acessos, sete foram avaliados em Janaúba e 51 em Sete Lagoas. Por isso, foi realizada estratificação quanto ao local de avaliação e dentro de cada extrato foram realizadas as mesmas técnicas de análises multivariadas aplicadas ao extrato de acessos landraces e melhorados.

O número de acessos amostrados dentro de cada extrato foi proporcional ao tamanho do extrato; portanto, foram amostrados dois acessos no extrato de Janaúba e dez no extrato de Sete Lagoas.

Ao realizar o agrupamento dos acessos avaliados em Janaúba por meio do método de otimização de Tocher, utilizando como medida de dissimilaridade a distância euclidiana “invertida”, verificou-se que os acessos 4 e 6 foram os mais divergentes.

Na análise de componentes principais para os acessos avaliados em Janaúba, considerando-se as características: FM, FF, NRP, AP, NFE, NF, DC, DE, NFG, NGF, PEP, PGP, DS e PMG, verificou-se que os três primeiros componentes explicaram 81,69% da variação total, possibilitando a representação da dispersão dos acessos em gráfico tridimensional (Figura 25).

A identificação de todos os acessos introduzidos utilizados encontra-se na Tabela 19.

De acordo com o método de Singh, as características que mais contribuíram para a discriminação dos acessos avaliados em Janaúba foram a AP, PEP, PGP e PMG.

A análise de componentes principais para os acessos avaliados em Sete Lagoas foi realizada considerando-se as características FM, FF, RNP, AP, NFE, NF, DC, DE, NFG, NGF, DS e PMG. Nesta análise verificou-se que os três primeiros componentes principais explicaram 60,68% da variação total, com representação tridimensional (Figura 26). Realizando-se o agrupamento dos acessos introduzidos avaliados em Sete Lagoas pelo método de Tocher, tendo como medida de dissimilaridade a distância euclidiana “invertida”, pode-se observar que os acessos mais divergentes são: 31, 40, 25, 30, 6, 19, 50, 13, 33 e 49.

As características AP e PMG foram as que mais contribuíram para a discriminação dos acessos.

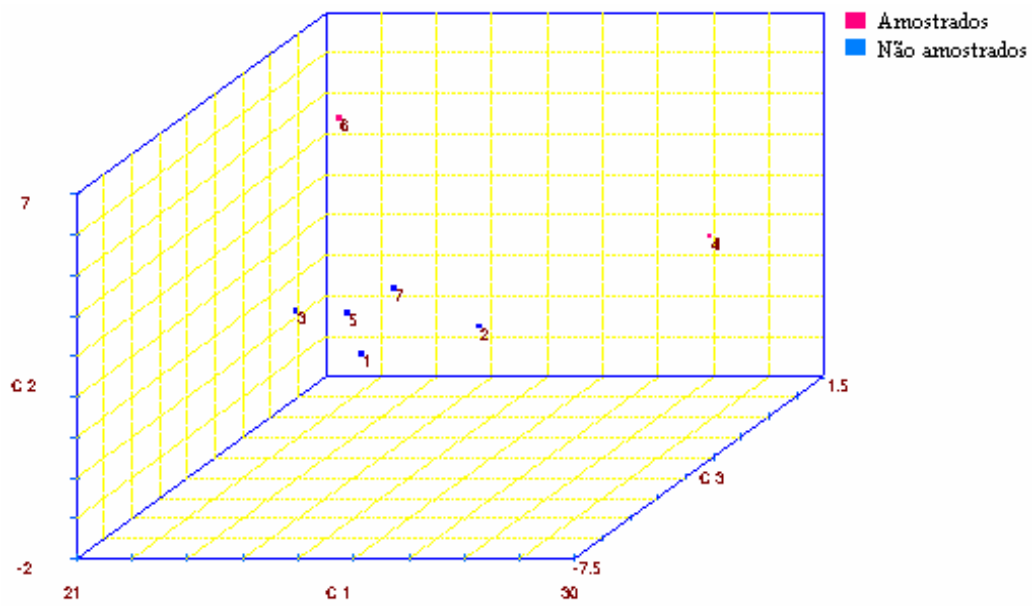


Figura 25 – Gráfico de dispersão de sete acessos melhorados, considerando-se os três primeiros componentes principais e identificação dos acessos amostrados, de acordo como o método de otimização de Tocher, tendo como medida de dissimilaridade a distância euclidiana “invertida”.

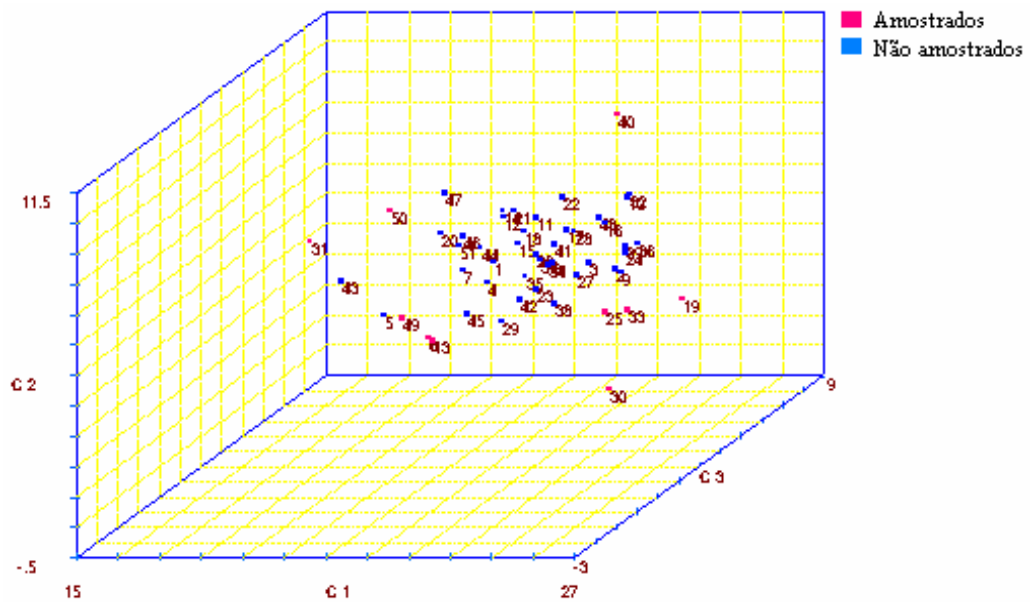


Figura 26 – Gráfico de dispersão de 51 acessos de milho, considerando-se os três primeiros componentes principais e identificação dos acessos amostrados, de acordo como o método de otimização de Tocher, tendo como medida de dissimilaridade a distância euclidiana “invertida”.

Com base nesta estratégia de amostragem foram amostrados acessos de seis países e do CIMMYT.

3.7. Avaliação da representatividade das estratégias de amostragem

Após a obtenção dos dez grupos de acessos landraces com a utilização das dez estratégias de amostragem, foi necessário identificar qual a mais representativa, ou seja, a que representa adequadamente os acessos landraces da coleção ativa. A avaliação da representatividade também foi realizada para acessos melhorados e introduzidos.

Na Tabela 13, observa-se as variâncias das 18 características da coleção ativa e as variâncias das mesmas características nas cinco estratégias que utilizaram a intensidade de amostragem de 30% dos acessos. Nas estratégias L30, P30, C30 e A30, poucas características tiveram suas variâncias alteradas; já na estratégia MV30, 11 das 18 características apresentaram variâncias diferentes em relação às variâncias da coleção ativa.

Poucas alterações foram realizadas nas médias, sendo alterada apenas a média do PMG na estratégia C30 e o NFE na estratégia L30 (Tabela 14). Portanto, estratégias a uma intensidade de amostragem de 30% dos acessos não causaram grandes alterações nas médias e variâncias das características.

Com a amostragem de 10% dos acessos poucas alterações foram realizadas nas variâncias das características nas estratégias C10, P10, L10 e A10, resultados semelhantes aos obtidos com a amostragem de 30% dos acessos (Tabela 15). Na estratégia MV10 apenas as médias das características NFE, NF, DC e NE foram significativamente diferentes das médias destas características na coleção ativa, pelo teste t, a 1% de probabilidade (Tabela 16).

Na estratégia constante (C30), o índice de retenção de variabilidade foi maior do que o obtido com a amostragem de 10% dos acessos (Tabela 17). De modo geral, para todas as estratégias de amostragem, quando se utilizou maior intensidade de amostragem, maior foi o índice de retenção de variabilidade. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Balfourier et al. (1999).

Tabela 13 – Variâncias de 18 características da coleção ativa e dos grupos, obtidas pela utilização das cinco estratégias de amostragem dos acessos landraces e amostragem de 30% dos acessos

Características	Coleção Ativa	C30	P30	L30	A30	MV30
FM	89,65	114,91 **	88,27 ^{ns}	93,75 ^{ns}	95,31 ^{ns}	109,34 ^{ns}
FF	103,37	133,19 **	100,66 ^{ns}	108,74 ^{ns}	106,95 ^{ns}	128,94 ^{ns}
AP	1655,16	1577,70 ^{ns}	1559,53 ^{ns}	1727,40 ^{ns}	1763,72 ^{ns}	2062,78 ^{ns}
AE	1082,06	1051,21 ^{ns}	1008,65 ^{ns}	1084,14 ^{ns}	1109,79 ^{ns}	1304,18 ^{ns}
PPQ	178,63	177,92 **	168,54 **	237,01 ^{ns}	160,38 **	266,64 ^{ns}
PPA	169,84	108,85 **	134,25 **	179,08 ^{ns}	218,41 **	265,15 **
NFE	1,13	0,95 ^{ns}	1,22 ^{ns}	4,00 **	1,29 ^{ns}	2,48 **
NF	2,82	2,51 ^{ns}	3,14 ^{ns}	2,28 ^{ns}	2,78 ^{ns}	3,77 **
DC	7,28	7,65 ^{ns}	6,48 ^{ns}	6,61 ^{ns}	8,23 ^{ns}	9,30 ^{ns}
NE	0,02	0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,03 **
CE	320,21	378,91 ^{ns}	314,76 ^{ns}	347,91 ^{ns}	350,69 ^{ns}	531,51 **
DE	17,28	16,24 ^{ns}	16,68 ^{ns}	21,13 ^{ns}	18,99 ^{ns}	27,36 **
NFG	3,65	4,59 ^{ns}	3,75 ^{ns}	4,09 ^{ns}	3,69 ^{ns}	6,36 **
NGF	23,82	24,62 ^{ns}	25,13 ^{ns}	23,46 ^{ns}	24,97 ^{ns}	38,04 **
PEP	1132,02	1118,90 ^{ns}	1173,33 ^{ns}	1177,14 ^{ns}	1280,56 ^{ns}	1994,39 **
PGP	840,41	828,59 ^{ns}	883,00 ^{ns}	922,62 ^{ns}	919,76 ^{ns}	1493,15 **
DS	6,53	7,26 ^{ns}	6,15 ^{ns}	6,62 ^{ns}	6,52 ^{ns}	8,96 **
PMG	2891,35	2826,07 ^{ns}	3085,18 ^{ns}	3078,49 ^{ns}	2639,89 ^{ns}	3647,30 ^{ns}

** ,^{ns} Significativo e não-significativo, respectivamente, a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Tabela 14 – Médias de 18 características da coleção ativa e dos grupos, obtidas pela utilização das cinco estratégias de amostragem dos acessos landraces e amostragem de 30% dos acessos

Características	Coleção Ativa	C30	P30	L30	A30	MV30
FM	70,69	71,68 ^{ns}	70,28 ^{ns}	70,46 ^{ns}	70,55 ^{ns}	71,15 ^{ns}
FF	74,72	75,76 ^{ns}	74,37 ^{ns}	74,42 ^{ns}	74,74 ^{ns}	75,16 ^{ns}
AP	296,69	292,77 ^{ns}	298,26 ^{ns}	296,47 ^{ns}	294,56 ^{ns}	292,41 ^{ns}
AE	172,61	170,44 ^{ns}	173,29 ^{ns}	173,32 ^{ns}	169,77 ^{ns}	168,97 ^{ns}
PPQ	11,94	11,56 ^{ns}	12,59 ^{ns}	13,87 ^{ns}	11,92 ^{ns}	13,85 ^{ns}
PPA	11,59	10,58 ^{ns}	11,02 ^{ns}	13,37 ^{ns}	12,20 ^{ns}	13,92 ^{ns}
NFE	5,98	5,93 ^{ns}	5,98 ^{ns}	5,36 **	5,98 ^{ns}	6,05 ^{ns}
NF	14,52	14,60 ^{ns}	14,41 ^{ns}	14,69 ^{ns}	14,44 ^{ns}	14,39 ^{ns}
DC	23,33	23,20 ^{ns}	23,04 ^{ns}	23,37 ^{ns}	23,46 ^{ns}	22,99 ^{ns}
NE	1,08	1,07 ^{ns}	1,08 ^{ns}	1,08 ^{ns}	1,07 ^{ns}	1,09 ^{ns}
CE	126,74	126,98 ^{ns}	125,32 ^{ns}	126,33 ^{ns}	127,47 ^{ns}	127,56 ^{ns}
DE	43,11	42,84 ^{ns}	43,15 ^{ns}	42,69 ^{ns}	43,30 ^{ns}	42,75 ^{ns}
NFG	13,40	13,81 ^{ns}	13,47 ^{ns}	13,50 ^{ns}	13,37 ^{ns}	13,44 ^{ns}
NGF	30,69	30,55 ^{ns}	30,60 ^{ns}	30,50 ^{ns}	30,77 ^{ns}	30,66 ^{ns}
PEP	135,90	132,99 ^{ns}	134,77 ^{ns}	132,65 ^{ns}	139,02 ^{ns}	134,88 ^{ns}
PGP	113,07	109,97 ^{ns}	112,53 ^{ns}	110,23 ^{ns}	115,79 ^{ns}	111,50 ^{ns}
DS	25,26	25,52 ^{ns}	25,26 ^{ns}	25,33 ^{ns}	25,35 ^{ns}	25,30 ^{ns}
PMG	295,04	282,97 **	295,67 ^{ns}	288,01 ^{ns}	299,56 ^{ns}	290,26 ^{ns}

** ,^{ns} Significativo e não-significativo, respectivamente, a 1% de probabilidade, pelo teste “t”.

Tabela 15 – Variâncias de 18 características da coleção ativa e dos grupos, obtidas pela utilização das cinco estratégias de amostragem dos acessos landraces e amostragem de 10% dos acessos

Características	Coleção Ativa	C10	P10	L10	A10	MV10
FM	89,65	117,06 ^{ns}	75,29 ^{ns}	78,46 ^{ns}	94,70 ^{ns}	142,63 ^{**}
FF	103,37	130,43 ^{ns}	102,82 ^{ns}	85,20 ^{ns}	102,82 ^{ns}	174,02 ^{**}
AP	1655,16	2096,16 ^{ns}	1154,20 ^{ns}	2058,44 ^{ns}	1286,39 ^{ns}	2243,15 ^{ns}
AE	1082,06	1292,51 ^{ns}	960,04 ^{ns}	1197,45 ^{ns}	948,08 ^{ns}	1523,41 ^{ns}
PPQ	178,63	147,54 ^{**}	338,19 ^{ns}	186,01 ^{ns}	273,46 ^{ns}	196,92 ^{ns}
PPA	169,84	64,06 ^{**}	149,95 ^{ns}	149,39 ^{ns}	182,35 ^{ns}	212,59 ^{ns}
NFE	1,13	1,51 ^{ns}	2,42 ^{**}	4,32 ^{**}	0,30 ^{**}	5,06 ^{**}
NF	2,82	3,06 ^{ns}	4,11 ^{ns}	28,21 ^{**}	2,34 ^{ns}	4,55 ^{**}
DC	7,28	5,76 ^{ns}	5,93 ^{ns}	69,68 ^{**}	7,10 ^{ns}	10,19 ^{ns}
NE	0,02	0,02 ^{ns}	0,03 ^{**}	0,16 ^{**}	0,01 ^{**}	0,04 ^{**}
CE	320,21	275,41 ^{ns}	356,65 ^{ns}	364,73 ^{ns}	379,63 ^{ns}	673,80 ^{**}
DE	17,28	16,37 ^{ns}	20,96 ^{ns}	18,35 ^{ns}	19,59 ^{ns}	28,12 ^{**}
NFG	3,65	2,36 ^{**}	6,80 ^{**}	2,49 ^{ns}	6,78 ^{**}	8,96 ^{**}
NGF	23,82	21,19 ^{ns}	23,97 ^{ns}	24,65 ^{ns}	25,66 ^{ns}	50,10 ^{**}
PEP	1132,02	1242,96 ^{ns}	1274,42 ^{ns}	1463,03 ^{ns}	1328,13 ^{ns}	2617,08 ^{**}
PGP	840,41	951,39 ^{ns}	887,40 ^{ns}	979,28 ^{ns}	1067,70 ^{ns}	1977,26 ^{**}
DS	6,53	5,67 ^{ns}	8,16 ^{ns}	6,76 ^{ns}	7,71 ^{ns}	10,45 ^{**}
PMG	2891,35	2912,99 ^{ns}	3517,50 ^{ns}	2333,57 ^{ns}	4149,47 ^{ns}	3978,39 ^{ns}

** , ^{ns} Significativo e não-significativo, respectivamente, a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Tabela 16 – Médias de 18 características da coleção ativa e dos grupos, obtidas pela utilização das cinco estratégias de amostragem dos acessos landraces e amostragem de 10% dos acessos

Características	Coleção Ativa	C10	P10	L10	A10	MV10
FM	70,69	70,33 ^{ns}	70,28 ^{ns}	71,28 ^{ns}	70,61 ^{ns}	71,48 ^{ns}
FF	74,72	74,73 ^{ns}	74,63 ^{ns}	75,36 ^{ns}	74,77 ^{ns}	75,73 ^{ns}
AP	296,69	289,01 ^{ns}	297,74 ^{ns}	291,76 ^{ns}	305,04 ^{ns}	289,16 ^{ns}
AE	172,61	163,78 ^{ns}	173,30 ^{ns}	171,09 ^{ns}	178,85 ^{ns}	167,85 ^{ns}
PPQ	11,94	11,68 ^{ns}	15,83 ^{ns}	12,64 ^{ns}	16,36 ^{ns}	14,21 ^{ns}
PPA	11,59	9,87 ^{ns}	12,30 ^{ns}	10,53 ^{ns}	14,09 ^{ns}	13,83 ^{ns}
NFE	5,98	6,01 ^{ns}	6,05 ^{ns}	5,01 ^{**}	5,95 ^{ns}	6,27 ^{ns}
NF	14,52	14,49 ^{ns}	14,20 ^{ns}	12,85 ^{**}	14,82 ^{ns}	14,40 ^{ns}
DC	23,33	23,07 ^{ns}	23,33 ^{ns}	19,76 ^{**}	23,09 ^{ns}	22,84 ^{ns}
NE	1,08	1,08 ^{ns}	1,08 ^{ns}	0,91 ^{**}	1,07 ^{ns}	1,13 ^{ns}
CE	126,74	128,86 ^{ns}	126,10 ^{ns}	124,45 ^{ns}	126,80 ^{ns}	128,65 ^{ns}
DE	43,11	42,16 ^{ns}	42,85 ^{ns}	42,58 ^{ns}	42,79 ^{ns}	42,69 ^{ns}
NFG	13,40	13,24 ^{ns}	13,26 ^{ns}	13,36 ^{ns}	13,55 ^{ns}	13,74 ^{ns}
NGF	30,69	30,53 ^{ns}	29,59 ^{ns}	30,40 ^{ns}	30,30 ^{ns}	30,43 ^{ns}
PEP	135,90	128,34 ^{ns}	133,33 ^{ns}	130,68 ^{ns}	133,71 ^{ns}	133,25 ^{ns}
PGP	113,07	106,85 ^{ns}	109,84 ^{ns}	107,75 ^{ns}	111,29 ^{ns}	111,31 ^{ns}
DS	25,26	24,95 ^{ns}	25,39 ^{ns}	25,45 ^{ns}	25,21 ^{ns}	25,21 ^{ns}
PMG	295,04	280,81 ^{ns}	306,24 ^{ns}	280,78 ^{ns}	292,23 ^{ns}	285,94 ^{ns}

** , ^{ns} Significativo e não-significativo, respectivamente, a 1% de probabilidade, pelo teste “t”.

Tabela 17 – Índice de retenção de variabilidade (IRV) das estratégias de amostragem para os acessos landraces, melhorados e introduzidos

Tipo de acesso	Estratégia	IRV
Landrace	1- C30	82,97
Landrace	2- C10	71,41
Landrace	3- P30	82,12
Landrace	4- P10	74,05
Landrace	5- L30	84,61
Landrace	6- L10	79,49
Landrace	7- A30	84,64
Landrace	8- A10	69,58
Landrace	9- MV30	95,79
Landrace	10- MV10	89,07
Melhorados	1- Melhorados	94,40
Introduzidos	1- Introduzidos	85,70

Quando se utilizou intensidade de amostragem de 30%, todas as estratégias de amostragem foram eficientes, pois, os índices de retenção obtidos foram maiores que os 80% recomendados por Frankel e Brown (1984). Entretanto, na intensidade de amostragem de 10%, apenas a estratégia multivariada apresentou índice de retenção superior a 80%.

Pode-se observar que independentemente da estratégia de amostragem utilizada, os maiores valores de retenção de variabilidade foram obtidos quando se utilizou a estratégia de amostragem baseada em análise multivariada. Para essa estratégia, a diferença entre o índice de retenção considerando-se as duas intensidades de amostragem foi de apenas 6%. Ou seja, ao se amostrar 143 acessos, estima-se que 95,79% da variabilidade seja amostrada, e com a amostragem de 80 acessos, aproximadamente 89% da variabilidade foi retida. Portanto, ao se amostrar 10% dos acessos, foi possível obter uma coleção núcleo menor e com uma representatividade adequada. Para os acessos melhorados e introduzidos foram obtidos elevados índices de retenção de variabilidade.

Para a formação da coleção núcleo a estratégia de amostragem adotada foi a multivariada, amostrando-se 10% dos acessos landraces e 20% dos acessos

melhorados e introduzidos. Essa estratégia permitiu uma significativa redução do tamanho da coleção ativa, em comparação à amostragem de 30% dos acessos, apresentou um índice de retenção de variabilidade satisfatório e poucas alterações nas frequências dos acessos nos extratos, nas médias e variâncias das características.

Coleções núcleo não são estáticas, podem sofrer alterações com o tempo, variando o seu conteúdo e tamanho, portanto, à medida que informações sobre acessos não considerados forem obtidas, novos acessos podem ser incluídos na coleção ou até mesmo retirados desta. Matthews e Ambrose (1994) desenvolveram uma coleção núcleo de ervilha a partir de 2500 acessos, e após 15 anos de avaliações a coleção núcleo conta atualmente com 150 acessos.

As informações sobre o nome, origem, local de avaliação, extrato a que pertence, número do acesso no extrato, região ecogeográfica e tipo de grão de todos os acessos utilizados neste estudo encontram-se nas Tabelas 18, 19 e 20.

Os acessos landraces, melhorados e introduzidos, pertencentes à coleção núcleo, encontram-se, respectivamente, nas Tabelas 21, 22 e 23.

Tabela 18 – Nome, origem, local de avaliação, extrato, número do acesso no extrato, região ecogeográfica e tipo de grão de todos os acessos landraces utilizados

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
BA 173	BRA/BA	JA	1	1	2	1	RR 086	BRA/RR	JÁ	4	15	3	2
BA 076	BRA/BA	JA	2	1	2	2	RR 088	BRA/RR	JÁ	4	16	3	2
Restrito 12	BRA/BA	JA	2	2	2	2	RR 093	BRA/RR	JÁ	4	17	3	2
BA 195	BRA/BA	JA	2	3	2	2	RR 096	BRA/RR	JÁ	4	18	3	2
RR 004	BRA/RR	JA	3	1	3	1	RR 102	BRA/RR	JÁ	4	19	3	2
RR 023	BRA/RR	JA	3	2	3	1	RR 103	BRA/RR	JA	4	20	3	2
RR 024	BRA/RR	JA	3	3	3	1	RR 104	BRA/RR	JA	4	21	3	2
RR 039	BRA/RR	JA	3	4	3	1	RR 105	BRA/RR	JA	4	22	3	2
RR 053	BRA/RR	JA	3	5	3	1	RR 170	BRA/RR	JA	4	23	3	2
RR 054	BRA/RR	JA	3	6	3	1	RR 171	BRA/RR	JA	4	24	3	2
RR 056	BRA/RR	JA	3	7	3	1	RR 172	BRA/RR	JA	4	25	3	2
RR 057	BRA/RR	JA	3	8	3	1	RR 174	BRA/RR	JA	4	26	3	2
RR 058	BRA/RR	JA	3	9	3	1	RR 176	BRA/RR	JA	4	27	3	2
RR 060	BRA/RR	JA	3	10	3	1	RR 177	BRA/RR	JA	4	28	3	2
RR 065	BRA/RR	JA	3	11	3	1	RR 178	BRA/RR	JA	4	29	3	2
RR 069	BRA/RR	JA	3	12	3	1	RR 179	BRA/RR	JA	4	30	3	2
RR 077	BRA/RR	JA	3	13	3	1	RR 181	BRA/RR	JA	4	31	3	2
RR 080	BRA/RR	JA	3	14	3	1	RR 182	BRA/RR	JA	4	32	3	2
RR 084	BRA/RR	JA	3	15	3	1	RR 189	BRA/RR	JA	4	33	3	2
RR 089	BRA/RR	JA	3	16	3	1	Restrito 53 *	BRA/RR	JA	4	34	3	2
RR 090	BRA/RR	JA	3	17	3	1	RR 194	BRA/RR	JA	4	35	3	2
RR 186	BRA/RR	JA	3	18	3	1	RR 195	BRA/RR	JA	4	36	3	2
RR 196	BRA/RR	JA	3	19	3	1	RR 199	BRA/RR	JA	4	37	3	2
RR 198	BRA/RR	JA	3	20	3	1	AC 003	BRA/AC	JA	5	1	4	1
RR 001	BRA/RR	JA	4	1	3	2	AC 005	BRA/AC	JA	5	2	4	1
RR 005	BRA/RR	JA	4	2	3	2	AC 012	BRA/AC	JA	5	3	4	1
RR 007	BRA/RR	JA	4	3	3	2	AC 015	BRA/AC	JA	5	4	4	1

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
RR 008	BRA/RR	JA	4	4	3	2	AC 016	BRA/AC	JA	5	5	4	1
RR 027	BRA/RR	JA	4	5	3	2	AC 030	BRA/AC	JA	5	6	4	1
RR 031	BRA/RR	JA	4	6	3	2	PA 013	BRA/PA	JA	5	7	4	1
RR 032	BRA/RR	JA	4	7	3	2	RO 019	BRA/RO	JA	5	8	4	1
RR 052	BRA/RR	JA	4	8	3	2	RR 122	BRA/RR	JA	5	9	4	1
RR 055	BRA/RR	JA	4	9	3	2	RR 130	BRA/RR	JA	5	10	4	1
RR 066	BRA/RR	JA	4	10	3	2	RR 158	BRA/RR	JA	5	11	4	1
RR 067	BRA/RR	JA	4	11	3	2	AC 001	BRA/AC	JA	6	1	4	2
RR 074	BRA/RR	JA	4	12	3	2	AC 002	BRA/AC	JA	6	2	4	2
RR 075	BRA/RR	JA	4	13	3	2	AC 008	BRA/AC	JA	6	3	4	2
RR 078	BRA/RR	JA	4	14	3	2	AC 009	BRA/AC	JA	6	4	4	2
AC 010	BRA/AC	JA	6	5	4	2	RR 133	BRA/RR	JA	6	43	4	2
AC 011	BRA/AC	JA	6	6	4	2	RR 144	BRA/RR	JA	6	44	4	2
AC 013	BRA/AC	JA	6	7	4	2	RR 146	BRA/RR	JA	6	45	4	2
AC 017	BRA/AC	JA	6	8	4	2	RR 154	BRA/RR	JA	6	46	4	2
AC 018	BRA/AC	JA	6	9	4	2	RR 159	BRA/RR	JA	6	47	4	2
AC 023	BRA/AC	JA	6	10	4	2	RR 160	BRA/RR	JA	6	48	4	2
AC 028	BRA/AC	JA	6	11	4	2	RR 165	BRA/RR	JA	6	49	4	2
AC 034	BRA/AC	JA	6	12	4	2	RR 166	BRA/RR	JA	6	50	4	2
AC 036	BRA/AC	JA	6	13	4	2	RR 169	BRA/RR	JA	6	51	4	2
AC 037	BRA/AC	JA	6	14	4	2	RR 200	BRA/RR	JA	6	52	4	2
AC 038	BRA/AC	JA	6	15	4	2	RR 201	BRA/RR	JA	6	53	4	2
AC 042	BRA/AC	JA	6	16	4	2	AC 044	BRA/AC	JA	7	1	4	3
AC 043	BRA/AC	JA	6	17	4	2	AM 002	BRA/AM	JA	7	2	4	3
AC 046	BRA/AC	JA	6	18	4	2	AC 025	BRA/AC	JA	8	1	4	4
AC 047	BRA/AC	JA	6	19	4	2	AM 006	BRA/AM	JA	8	2	4	4
RONDACRE	BRA/AC	JA	6	20	4	2	Restrito 51	BRA/RR	JA	8	3	4	4

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
AM 001	BRA/AM	JA	6	21	4	2	Restrito 1	BRA/AL	JA	9	1	5	1
AM 010	BRA/AM	JA	6	22	4	2	AL 002	BRA/AL	JA	9	2	5	1
AM 012	BRA/AM	JA	6	23	4	2	AL 003	BRA/AL	JA	9	3	5	1
AM 013	BRA/AM	JA	6	24	4	2	AL 004	BRA/AL	JA	9	4	5	1
PA 060	BRA/PA	JA	6	25	4	2	AL 006	BRA/AL	JA	9	5	5	1
PA 089	BRA/PA	JA	6	26	4	2	AL 008	BRA/AL	JA	9	6	5	1
PA 092	BRA/PA	JA	6	27	4	2	AL 011	BRA/AL	JA	9	7	5	1
PA 094	BRA/PA	JA	6	28	4	2	AL 013	BRA/AL	JA	9	8	5	1
PA 100	BRA/PA	JA	6	29	4	2	AL 016	BRA/AL	JA	9	9	5	1
RO 009	BRA/RO	JA	6	30	4	2	AL 017	BRA/AL	JA	9	10	5	1
RO 016	BRA/RO	JA	6	31	4	2	AL 019	BRA/AL	JA	9	11	5	1
RR 107	BRA/RR	JA	6	32	4	2	BA 005	BRA/BA	JA	9	12	5	1
RR 108	BRA/RR	JA	6	33	4	2	BA 008	BRA/BA	JA	9	13	5	1
RR 109	BRA/RR	JA	6	34	4	2	BA 016	BRA/BA	JA	9	14	5	1
RR 116	BRA/RR	JA	6	35	4	2	Restrito 4	BRA/BA	JA	9	15	5	1
RR 119	BRA/RR	JA	6	36	4	2	BA 023	BRA/BA	JA	9	16	5	1
RR 123	BRA/RR	JA	6	37	4	2	BA 031	BRA/BA	JA	9	17	5	1
RR 127	BRA/RR	JA	6	38	4	2	Restrito 6	BRA/BA	JA	9	18	5	1
RR 128	BRA/RR	JA	6	39	4	2	BA 037	BRA/BA	JA	9	19	5	1
RR 129	BRA/RR	JA	6	40	4	2	BA 045	BRA/BA	JA	9	20	5	1
RR 131	BRA/RR	JA	6	41	4	2	BA 052	BRA/BA	JA	9	21	5	1
Restrito 52	BRA/RR	JA	6	42	4	2	BA 053	BRA/BA	JA	9	22	5	1
BA 054	BRA/BA	JA	9	23	5	1	Restrito 11	BRA/BA	JA	10	18	5	2
BA 056	BRA/BA	JA	9	24	5	1	BA 063	BRA/BA	JA	10	19	5	2
BA 058	BRA/BA	JA	9	25	5	1	CE 002	BRA/CE	JA	10	20	5	2
Restrito 10	BRA/BA	JA	9	26	5	1	MA 014	BRA/MA	JA	10	21	5	2

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
BA 147	BRA/BA	JA	9	27	5	1	BA 012	BRA/BA	JA	11	1	5	3
CE 003	BRA/CE	JA	9	28	5	1	BA 067	BRA/BA	JA	12	1	6	1
MA 012	BRA/MA	JA	9	29	5	1	BA 072	BRA/BA	JA	12	2	6	1
PB 001	BRA/PB	JA	9	30	5	1	BA 113	BRA/BA	JA	12	3	6	1
PB 002	BRA/PB	JA	9	31	5	1	BA 126	BRA/BA	JA	13	1	6	2
Restrito 39	BRA/PB	JA	9	32	5	1	PR 002	BRA/PR	ST	1	1	1	1
PB 004	BRA/PB	JA	9	33	5	1	PR 007	BRA/PR	ST	1	2	1	1
PB 006	BRA/PB	JA	9	34	5	1	PR 014	BRA/PR	ST	1	3	1	1
PB 007	BRA/PB	JA	9	35	5	1	PR 016	BRA/PR	ST	1	4	1	1
PB 008	BRA/PB	JA	9	36	5	1	PR 033	BRA/PR	ST	1	5	1	1
PB 009	BRA/PB	JA	9	37	5	1	Restrito 45	BRA/PR	ST	1	6	1	1
PB 010	BRA/PB	JA	9	38	5	1	PR 044	BRA/PR	ST	1	7	1	1
PB 011	BRA/PB	JA	9	39	5	1	DENTE RG LISO	BRA/RGS	ST	1	8	1	1
Restrito 48	BRA/RN	JA	9	40	5	1	RS 009	BRA/RGS	ST	1	9	1	1
RN 002	BRA/RN	JA	9	41	5	1	RS 012	BRA/RGS	ST	1	10	1	1
Restrito 49	BRA/RN	JA	9	42	5	1	RS 013	BRA/RGS	ST	1	11	1	1
AL 005	BRA/AL	JA	10	1	5	2	RS 014	BRA/RGS	ST	1	12	1	1
AL 007	BRA/AL	JA	10	2	5	2	RS 015	BRA/RGS	ST	1	13	1	1
Restrito 2	BRA/AL	JA	10	3	5	2	RS 016	BRA/RGS	ST	1	14	1	1
AL 021	BRA/AL	JA	10	4	5	2	RS 017	BRA/RGS	ST	1	15	1	1
Restrito 3	BRA/BA	JA	10	5	5	2	RS 018	BRA/RGS	ST	1	16	1	1
BA 009	BRA/BA	JA	10	6	5	2	RS 019	BRA/RGS	ST	1	17	1	1
BA 011	BRA/BA	JA	10	7	5	2	RS 020	BRA/RGS	ST	1	18	1	1
BA 013	BRA/BA	JA	10	8	5	2	RS 021	BRA/RGS	ST	1	19	1	1
Restrito 5	BRA/BA	JA	10	9	5	2	RS 022	BRA/RGS	ST	1	20	1	1
BA 021	BRA/BA	JA	10	10	5	2	RS 023	BRA/RGS	ST	1	21	1	1

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
BA 040	BRA/BA	JA	10	11	5	2	RS 024	BRA/RGS	ST	1	22	1	1
BA 042	BRA/BA	JA	10	12	5	2	RS 026	BRA/RGS	ST	1	23	1	1
Restrito 7	BRA/BA	JA	10	13	5	2	RS 027	BRA/RGS	ST	1	24	1	1
Restrito 8	BRA/BA	JA	10	14	5	2	RS 031	BRA/RGS	ST	1	25	1	1
BA 051	BRA/BA	JA	10	15	5	2	RS 032	BRA/RGS	ST	1	26	1	1
BA 055	BRA/BA	JA	10	16	5	2	RS 033	BRA/RGS	ST	1	27	1	1
BA 057	BRA/BA	JA	10	17	5	2	RS 034	BRA/RGS	ST	1	28	1	1
RS 035	BRA/RGS	ST	1	29	1	1	RS 087	BRA/RGS	ST	1	67	1	1
RS 036	BRA/RGS	ST	1	30	1	1	RS 088	BRA/RGS	ST	1	68	1	1
RS 037	BRA/RGS	ST	1	31	1	1	RS 089	BRA/RGS	ST	1	69	1	1
RS 038	BRA/RGS	ST	1	32	1	1	RS 091	BRA/RGS	ST	1	70	1	1
RS 040	BRA/RGS	ST	1	33	1	1	RS 142	BRA/RGS	ST	1	71	1	1
RS 041	BRA/RGS	ST	1	34	1	1	RS 207	BRA/RGS	ST	1	72	1	1
RS 042	BRA/RGS	ST	1	35	1	1	SC 006	BRA/SC	ST	1	73	1	1
RS 043	BRA/RGS	ST	1	36	1	1	Restrito 54	BRA/SC	ST	1	74	1	1
RS 044	BRA/RGS	ST	1	37	1	1	SC 009	BRA/SC	ST	1	75	1	1
RS 045	BRA/RGS	ST	1	38	1	1	SC 017	BRA/SC	ST	1	76	1	1
RS 046	BRA/RGS	ST	1	39	1	1	SC 021	BRA/SC	ST	1	77	1	1
RS 047	BRA/RGS	ST	1	40	1	1	SC 023	BRA/SC	ST	1	78	1	1
RS 048	BRA/RGS	ST	1	41	1	1	SC 026	BRA/SC	ST	1	79	1	1
RS 050	BRA/RGS	ST	1	42	1	1	SC 027	BRA/SC	ST	1	80	1	1
RS 051	BRA/RGS	ST	1	43	1	1	SC 042	BRA/SC	ST	1	81	1	1
RS 052	BRA/RGS	ST	1	44	1	1	SC 048	BRA/SC	ST	1	82	1	1
RS 054	BRA/RGS	ST	1	45	1	1	RGS IV – DRR	BRA/RGS	ST	1	83	1	1
RS 055	BRA/RGS	ST	1	46	1	1	RGS IX – HK	BRA/RGS	ST	1	84	1	1

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
RS 056	BRA/RGS	ST	1	47	1	1	RGS VI – DRL	BRA/RGS	ST	1	85	1	1
RS 057	BRA/RGS	ST	1	48	1	1	RGS VIII – CR	BRA/RGS	ST	1	86	1	1
RS 058	BRA/RGS	ST	1	49	1	1	RGS XI – DBR	BRA/RGS	ST	1	87	1	1
RS 060	BRA/RGS	ST	1	50	1	1	RGS XIII – DBR	BRA/RGS	ST	1	88	1	1
RS 061	BRA/RGS	ST	1	51	1	1	RGS XVIII – AE	BRA/RGS	ST	1	89	1	1
RS 063	BRA/RGS	ST	1	52	1	1	RS 005	BRA/RGS	ST	2	1	1	2
RS 066	BRA/RGS	ST	1	53	1	1	RS 006	BRA/RGS	ST	2	2	1	2
RS 069	BRA/RGS	ST	1	54	1	1	RS 007	BRA/RGS	ST	2	3	1	2
RS 070	BRA/RGS	ST	1	55	1	1	RS 011	BRA/RGS	ST	2	4	1	2
RS 071	BRA/RGS	ST	1	56	1	1	RS 028	BRA/RGS	ST	2	5	1	2
RS 072	BRA/RGS	ST	1	57	1	1	RS 029	BRA/RGS	ST	2	6	1	2
RS 073	BRA/RGS	ST	1	58	1	1	RS 030	BRA/RGS	ST	2	7	1	2
RS 075	BRA/RGS	ST	1	59	1	1	RS 049	BRA/RGS	ST	2	8	1	2
RS 079	BRA/RGS	ST	1	60	1	1	RS 059	BRA/RGS	ST	2	9	1	2
RS 080	BRA/RGS	ST	1	61	1	1	RS 062	BRA/RGS	ST	2	10	1	2
RS 082	BRA/RGS	ST	1	62	1	1	RS 065	BRA/RGS	ST	2	11	1	2
RS 083	BRA/RGS	ST	1	63	1	1	RS 067	BRA/RGS	ST	2	12	1	2
RS 084	BRA/RGS	ST	1	64	1	1	RS 078	BRA/RGS	ST	2	13	1	2
RS 085	BRA/RGS	ST	1	65	1	1	RS 092	BRA/RGS	ST	2	14	1	2
RS 086	BRA/RGS	ST	1	66	1	1	SC 024	BRA/SC	ST	2	15	1	2
SC 025	BRA/SC	ST	2	16	1	2	BA 218	BRA/BA	ST	5	19	2	1
SC 035	BRA/SC	ST	2	17	1	2	BA 219	BRA/BA	ST	5	20	2	1
RGS XVI - SR	BRA/RGS	ST	2	18	1	2	BA 222	BRA/BA	ST	5	21	2	1
RS 001	BRA/RGS	ST	3	1	1	3	BA 223	BRA/BA	ST	5	22	2	1
RS 093	BRA/RGS	ST	3	2	1	3	BA 224	BRA/BA	ST	5	23	2	1

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
RS 094	BRA/RGS	ST	3	3	1	3	MG 088	BRA/MG	ST	5	24	2	1
RS 095	BRA/RGS	ST	3	4	1	3	MG 013	BRA/MG	ST	5	25	2	1
RS 096	BRA/RGS	ST	3	5	1	3	MG 055	BRA/MG	ST	5	26	2	1
RS 097	BRA/RGS	ST	3	6	1	3	MG 082	BRA/MG	ST	5	27	2	1
RS 098	BRA/RGS	ST	3	7	1	3	MG 086	BRA/MG	ST	5	28	2	1
RS 099	BRA/RGS	ST	3	8	1	3	MG 087	BRA/MG	ST	5	29	2	1
RS 100	BRA/RGS	ST	3	9	1	3	Restrito 32	BRA/MG	ST	5	30	2	1
RS 165	BRA/RGS	ST	3	10	1	3	MG 092	BRA/MG	ST	5	31	2	1
RGS XIV- CAB	BRA/RGS	ST	3	11	1	3	MG 093	BRA/MG	ST	5	32	2	1
RS 064	BRA/RGS	ST	4	1	1	4	MG 095	BRA/MG	ST	5	33	2	1
RS 076	BRA/RGS	ST	4	2	1	4	MG 108	BRA/MG	ST	5	34	2	1
RS 077	BRA/RGS	ST	4	3	1	4	MG 109	BRA/MG	ST	5	35	2	1
RS 081	BRA/RGS	ST	4	4	1	4	MG 110	BRA/MG	ST	5	36	2	1
RS 160	BRA/RGS	ST	4	5	1	4	MG 112	BRA/MG	ST	5	37	2	1
RS 162	BRA/RGS	ST	4	6	1	4	MG 113	BRA/MG	ST	5	38	2	1
BA 083	BRA/BA	ST	5	1	2	1	MG 120	BRA/MG	ST	5	39	2	1
Restrito 13	BRA/BA	ST	5	2	2	1	MS 003	BRA/MS	ST	5	40	2	1
BA 089	BRA/BA	ST	5	3	2	1	MS 015	BRA/MS	ST	5	41	2	1
BA 158	BRA/BA	ST	5	4	2	1	MS 016	BRA/MS	ST	5	42	2	1
BA 161	BRA/BA	ST	5	5	2	1	MS 023	BRA/MS	ST	5	43	2	1
BA 162	BRA/BA	ST	5	6	2	1	MS 027	BRA/MS	ST	5	44	2	1
BA 165	BRA/BA	ST	5	7	2	1	MS 030	BRA/MS	ST	5	45	2	1
Restrito 17	BRA/BA	ST	5	8	2	1	MS 036	BRA/MS	ST	5	46	2	1
BA 172	BRA/BA	ST	5	9	2	1	MS 038	BRA/MS	ST	5	47	2	1
BA 174	BRA/BA	ST	5	10	2	1	MT 037	BRA/MT	ST	5	48	2	1
BA 175	BRA/BA	ST	5	11	2	1	MT 039	BRA/MT	ST	5	49	2	1

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
BA 177	BRA/BA	ST	5	12	2	1	PR 049	BRA/PR	ST	5	50	2	1
BA 178	BRA/BA	ST	5	13	2	1	Restrito 46	BRA/PR	ST	5	51	2	1
BA 184	BRA/BA	ST	5	14	2	1	Dente paulista	BRA/SP	ST	5	52	2	1
BA 189	BRA/BA	ST	5	15	2	1	SP 001	BRA/SP	ST	5	53	2	1
BA 215	BRA/BA	ST	5	16	2	1	SP 002	BRA/SP	ST	5	54	2	1
BA 216	BRA/BA	ST	5	17	2	1	SP 011	BRA/SP	ST	5	55	2	1
BA 217	BRA/BA	ST	5	18	2	1	SP 018	BRA/SP	ST	5	56	2	1
SP 023	BRA/SP	ST	5	57	2	1	MG 003	BRA/MG	ST	6	9	2	2
SP 030	BRA/SP	ST	5	58	2	1	MG 005	BRA/MG	ST	6	10	2	2
SP 035	BRA/SP	ST	5	59	2	1	MG 011	BRA/MG	ST	6	11	2	2
SP 045	BRA/SP	ST	5	60	2	1	MG 012	BRA/MG	ST	6	12	2	2
SP 046	BRA/SP	ST	5	61	2	1	Restrito 28	BRA/MG	ST	6	13	2	2
SP 048	BRA/SP	ST	5	62	2	1	MG 053	BRA/MG	ST	6	14	2	2
SP 049	BRA/SP	ST	5	63	2	1	MG 068	BRA/MG	ST	6	15	2	2
SP 051	BRA/SP	ST	5	64	2	1	Restrito 30	BRA/MG	ST	6	16	2	2
SP 053	BRA/SP	ST	5	65	2	1	MG 080	BRA/MG	ST	6	17	2	2
SP 055	BRA/SP	ST	5	66	2	1	MG 084	BRA/MG	ST	6	18	2	2
SP 056	BRA/SP	ST	5	67	2	1	MG 094	BRA/MG	ST	6	19	2	2
SP 059	BRA/SP	ST	5	68	2	1	MG 096	BRA/MG	ST	6	20	2	2
SP 065	BRA/SP	ST	5	69	2	1	MG 097	BRA/MG	ST	6	21	2	2
SP 069	BRA/SP	ST	5	70	2	1	MG 111	BRA/MG	ST	6	22	2	2
SP 072	BRA/SP	ST	5	71	2	1	RJ 002	BRA/RJ	ST	6	23	2	2
SP 079	BRA/SP	ST	5	72	2	1	RJ 004	BRA/RJ	ST	6	24	2	2
SP 081	BRA/SP	ST	5	73	2	1	Restrito 44	BRA/SP	ST	6	25	2	2
SP 082	BRA/SP	ST	5	74	2	1	SP 005	BRA/SP	ST	6	26	2	2

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
SP 083	BRA/SP	ST	5	75	2	1	SP 009	BRA/SP	ST	6	27	2	2
SP 085	BRA/SP	ST	5	76	2	1	SP 010	BRA/SP	ST	6	28	2	2
SP 091	BRA/SP	ST	5	77	2	1	SP 012	BRA/SP	ST	6	29	2	2
SP 097	BRA/SP	ST	5	78	2	1	SP 013	BRA/SP	ST	6	30	2	2
SP 103	BRA/SP	ST	5	79	2	1	SP 017	BRA/SP	ST	6	31	2	2
SP 107	BRA/SP	ST	5	80	2	1	SP 019	BRA/SP	ST	6	32	2	2
SP 115	BRA/SP	ST	5	81	2	1	SP 020	BRA/SP	ST	6	33	2	2
SP 117	BRA/SP	ST	5	82	2	1	SP 022	BRA/SP	ST	6	34	2	2
SP 121	BRA/SP	ST	5	83	2	1	SP 024	BRA/SP	ST	6	35	2	2
SP 128	BRA/SP	ST	5	84	2	1	SP 025	BRA/SP	ST	6	36	2	2
SP 134	BRA/SP	ST	5	85	2	1	SP 026	BRA/SP	ST	6	37	2	2
SP 135	BRA/SP	ST	5	86	2	1	SP 028	BRA/SP	ST	6	38	2	2
BA 084	BRA/BA	ST	6	1	2	2	SP 029	BRA/SP	ST	6	39	2	2
Restrito 16	BRA/BA	ST	6	2	2	2	SP 034	BRA/SP	ST	6	40	2	2
BA 220	BRA/BA	ST	6	3	2	2	SP 036	BRA/SP	ST	6	41	2	2
GO 001	BRA/GO	ST	6	4	2	2	SP 037	BRA/SP	ST	6	42	2	2
GO 003	BRA/GO	ST	6	5	2	2	SP 038	BRA/SP	ST	6	43	2	2
Grã Turvo	BRA/MG	ST	6	6	2	2	SP 039	BRA/SP	ST	6	44	2	2
MG 001	BRA/MG	ST	6	7	2	2	SP 040	BRA/SP	ST	6	45	2	2
MG 002	BRA/MG	ST	6	8	2	2	SP 041	BRA/SP	ST	6	46	2	2
SP 042	BRA/SP	ST	6	47	2	2	PR 056	BRA/PR	ST	7	12	2	3
SP 043	BRA/SP	ST	6	48	2	2	RJ 003	BRA/RJ	ST	7	13	2	3
SP 044	BRA/SP	ST	6	49	2	2	RJ 005	BRA/RJ	ST	7	14	2	3
SP 047	BRA/SP	ST	6	50	2	2	CATETO SS	BRA/SP	ST	7	15	2	3
SP 054	BRA/SP	ST	6	51	2	2	DESC I - CRP	BRA/SP	ST	7	16	2	3
SP 057	BRA/SP	ST	6	52	2	2	PONTINHA SS	BRA/SP	ST	7	17	2	3

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
SP 060	BRA/SP	ST	6	53	2	2	SP 004	BRA/SP	ST	7	18	2	3
SP 063	BRA/SP	ST	6	54	2	2	SP 007	BRA/SP	ST	7	19	2	3
SP 076	BRA/SP	ST	6	55	2	2	SP 014	BRA/SP	ST	7	20	2	3
SP 084	BRA/SP	ST	6	56	2	2	SP 015	BRA/SP	ST	7	21	2	3
SP 088	BRA/SP	ST	6	57	2	2	SP 021	BRA/SP	ST	7	22	2	3
SP 090	BRA/SP	ST	6	58	2	2	SP 027	BRA/SP	ST	7	23	2	3
SP 096	BRA/SP	ST	6	59	2	2	SP 031	BRA/SP	ST	7	24	2	3
SP 098	BRA/SP	ST	6	60	2	2	SP 032	BRA/SP	ST	7	25	2	3
SP 099	BRA/SP	ST	6	61	2	2	SP 033	BRA/SP	ST	7	26	2	3
SP 100	BRA/SP	ST	6	62	2	2	SP 052	BRA/SP	ST	7	27	2	3
SP 101	BRA/SP	ST	6	63	2	2	SP 058	BRA/SP	ST	7	28	2	3
SP 104	BRA/SP	ST	6	64	2	2	SP 066	BRA/SP	ST	7	29	2	3
SP 105	BRA/SP	ST	6	65	2	2	SP 067	BRA/SP	ST	7	30	2	3
SP 106	BRA/SP	ST	6	66	2	2	SP 070	BRA/SP	ST	7	31	2	3
SP 108	BRA/SP	ST	6	67	2	2	SP 071	BRA/SP	ST	7	32	2	3
SP 109	BRA/SP	ST	6	68	2	2	SP 073	BRA/SP	ST	7	33	2	3
SP 113	BRA/SP	ST	6	69	2	2	SP 074	BRA/SP	ST	7	34	2	3
SP 118	BRA/SP	ST	6	70	2	2	SP 077	BRA/SP	ST	7	35	2	3
SP 127	BRA/SP	ST	6	71	2	2	SP 086	BRA/SP	ST	7	36	2	3
SP 181	BRA/SP	ST	6	72	2	2	SP 094	BRA/SP	ST	7	37	2	3
MT I - CG	BRA/MT	ST	6	73	2	2	SP 112	BRA/SP	ST	7	38	2	3
BA 167	BRA/BA	ST	7	1	2	3	SP 116	BRA/SP	ST	7	39	2	3
BA 171	BRA/BA	ST	7	2	2	3	SP 123	BRA/SP	ST	7	40	2	3
BA 181	BRA/BA	ST	7	3	2	3	SP 133	BRA/SP	ST	7	41	2	3
Restrito 18	BRA/BA	ST	7	4	2	3	SP XII - Cristal	BRA/SP	ST	7	42	2	3
BA 196	BRA/BA	ST	7	5	2	3	MT 038	BRA/MT	ST	8	1	2	4

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
BA II - Cristal	BRA/BA	ST	7	6	2	3	PR 062	BRA/PR	ST	8	2	2	4
MG 007	BRA/MG	ST	7	7	2	3	SP 006	BRA/SP	ST	8	3	2	4
Restrito 31	BRA/MG	ST	7	8	2	3	SP 008	BRA/SP	ST	8	4	2	4
MG 100	BRA/MG	ST	7	9	2	3	SP 016	BRA/SP	ST	8	5	2	4
MG 119	BRA/MG	ST	7	10	2	3	SP 050	BRA/SP	ST	8	6	2	4
ROXINHO	BRA/MG	ST	7	11	2	3	SP 061	BRA/SP	ST	8	7	2	4
SP 062	BRA/SP	ST	8	8	2	4	PA 085	BRA/PA	ST	10	22	4	1
SP 064	BRA/SP	ST	8	9	2	4	PA 087	BRA/PA	ST	10	23	4	1
SP 068	BRA/SP	ST	8	10	2	4	PA 088	BRA/PA	ST	10	24	4	1
SP 075	BRA/SP	ST	8	11	2	4	PA 101	BRA/PA	ST	10	25	4	1
SP 078	BRA/SP	ST	8	12	2	4	PA 102	BRA/PA	ST	10	26	4	1
SP 080	BRA/SP	ST	8	13	2	4	PA 104	BRA/PA	ST	10	27	4	1
SP 087	BRA/SP	ST	8	14	2	4	SPA - Amarelo	BRA/PA	ST	10	28	4	1
SP 089	BRA/SP	ST	8	15	2	4	PA 001	BRA/PA	ST	11	1	4	2
SP 093	BRA/SP	ST	8	16	2	4	PA 002	BRA/PA	ST	11	2	4	2
SP 102	BRA/SP	ST	8	17	2	4	PA 003	BRA/PA	ST	11	3	4	2
SP 110	BRA/SP	ST	8	18	2	4	PA 006	BRA/PA	ST	11	4	4	2
SP 119	BRA/SP	ST	8	19	2	4	PA 008	BRA/PA	ST	11	5	4	2
SP 122	BRA/SP	ST	8	20	2	4	PA 009	BRA/PA	ST	11	6	4	2
SP 126	BRA/SP	ST	8	21	2	4	PA 011	BRA/PA	ST	11	7	4	2
SP 131	BRA/SP	ST	8	22	2	4	PA 012	BRA/PA	ST	11	8	4	2
SP 145	BRA/SP	ST	8	23	2	4	PA 014	BRA/PA	ST	11	9	4	2
RR 020	BRA/RR	ST	9	1	3	1	PA 015	BRA/PA	ST	11	10	4	2
Roxo Macapa	BRA/AP	ST	10	1	4	1	PA 016	BRA/PA	ST	11	11	4	2
PA 004	BRA/PA	ST	10	2	4	1	PA 018	BRA/PA	ST	11	12	4	2

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
PA 005	BRA/PA	ST	10	3	4	1	PA 019	BRA/PA	ST	11	13	4	2
PA 024	BRA/PA	ST	10	4	4	1	PA 021	BRA/PA	ST	11	14	4	2
PA 029	BRA/PA	ST	10	5	4	1	PA 022	BRA/PA	ST	11	15	4	2
PA 035	BRA/PA	ST	10	6	4	1	PA 026	BRA/PA	ST	11	16	4	2
PA 036	BRA/PA	ST	10	7	4	1	PA 028	BRA/PA	ST	11	17	4	2
PA 044	BRA/PA	ST	10	8	4	1	PA 030	BRA/PA	ST	11	18	4	2
Restrito 33	BRA/PA	ST	10	9	4	1	PA 032	BRA/PA	ST	11	19	4	2
PA 046	BRA/PA	ST	10	10	4	1	PA 033	BRA/PA	ST	11	20	4	2
PA 048	BRA/PA	ST	10	11	4	1	PA 043	BRA/PA	ST	11	21	4	2
PA 052	BRA/PA	ST	10	12	4	1	PA 047	BRA/PA	ST	11	22	4	2
PA 053	BRA/PA	ST	10	13	4	1	PA 050	BRA/PA	ST	11	23	4	2
Restrito 35	BRA/PA	ST	10	14	4	1	PA 051	BRA/PA	ST	11	24	4	2
PA 064	BRA/PA	ST	10	15	4	1	PA 057	BRA/PA	ST	11	25	4	2
PA 067	BRA/PA	ST	10	16	4	1	PA 059	BRA/PA	ST	11	26	4	2
Restrito 36	BRA/PA	ST	10	17	4	1	PA 061	BRA/PA	ST	11	27	4	2
PA 069	BRA/PA	ST	10	18	4	1	PA 070	BRA/PA	ST	11	28	4	2
PA 072	BRA/PA	ST	10	19	4	1	PA 071	BRA/PA	ST	11	29	4	2
PA 077	BRA/PA	ST	10	20	4	1	PA 073	BRA/PA	ST	11	30	4	2
Restrito 38	BRA/PA	ST	10	21	4	1	Restrito 37	BRA/PA	ST	11	31	4	2
PA 086	BRA/PA	ST	11	32	4	2	CE 007	BRA/CE	ST	13	20	5	1
PA 103	BRA/PA	ST	11	33	4	2	CE 023	BRA/CE	ST	13	21	5	1
PA 007	BRA/PA	ST	12	1	4	3	CE 024	BRA/CE	ST	13	22	5	1
PA 010	BRA/PA	ST	12	2	4	3	CE 026	BRA/CE	ST	13	23	5	1
PA 023	BRA/PA	ST	12	3	4	3	CE 034	BRA/CE	ST	13	24	5	1
PA 027	BRA/PA	ST	12	4	4	3	CE 038	BRA/CE	ST	13	25	5	1

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
PA 031	BRA/PA	ST	12	5	4	3	MG 062	BRA/MG	ST	13	26	5	1
PA 039	BRA/PA	ST	12	6	4	3	MG 063	BRA/MG	ST	13	27	5	1
PA 040	BRA/PA	ST	12	7	4	3	PB 012	BRA/PB	ST	13	28	5	1
Restrito 34	BRA/PA	ST	12	8	4	3	PB 022	BRA/PB	ST	13	29	5	1
PA 055	BRA/PA	ST	12	9	4	3	PB 025	BRA/PB	ST	13	30	5	1
PA 075	BRA/PA	ST	12	10	4	3	PB 029	BRA/PB	ST	13	31	5	1
PA 076	BRA/PA	ST	12	11	4	3	PE 005	BRA/PE	ST	13	32	5	1
PA 080	BRA/PA	ST	12	12	4	3	PE 007	BRA/PE	ST	13	33	5	1
PA 082	BRA/PA	ST	12	13	4	3	PE 008	BRA/PE	ST	13	34	5	1
PA 105	BRA/PA	ST	12	14	4	3	PE 009	BRA/PE	ST	13	35	5	1
PA 107	BRA/PA	ST	12	15	4	3	PE 010	BRA/PE	ST	13	36	5	1
PA 110	BRA/PA	ST	12	16	4	3	PE 012	BRA/PE	ST	13	37	5	1
PA 111	BRA/PA	ST	12	17	4	3	Restrito 41	BRA/PE	ST	13	38	5	1
AL 014	BRA/AL	ST	13	1	5	1	PE 014	BRA/PE	ST	13	39	5	1
AL 027	BRA/AL	ST	13	2	5	1	PE 015	BRA/PE	ST	13	40	5	1
AL 029	BRA/AL	ST	13	3	5	1	PE 016	BRA/PE	ST	13	41	5	1
AL 031	BRA/AL	ST	13	4	5	1	PE 018	BRA/PE	ST	13	42	5	1
AL 032	BRA/AL	ST	13	5	5	1	PE 019	BRA/PE	ST	13	43	5	1
BA 001	BRA/BA	ST	13	6	5	1	PE 020	BRA/PE	ST	13	44	5	1
BA 029	BRA/BA	ST	13	7	5	1	PE 023	BRA/PE	ST	13	45	5	1
BA 142	BRA/BA	ST	13	8	5	1	PE 024	BRA/PE	ST	13	46	5	1
BA 145	BRA/BA	ST	13	9	5	1	PE 025	BRA/PE	ST	13	47	5	1
BA 146	BRA/BA	ST	13	10	5	1	Restrito 42	BRA/PE	ST	13	48	5	1
BA 150	BRA/BA	ST	13	11	5	1	PE 028	BRA/PE	ST	13	49	5	1
Restrito 15	BRA/BA	ST	13	12	5	1	PE 031	BRA/PE	ST	13	50	5	1

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
BA 155	BRA/BA	ST	13	13	5	1	PE 037	BRA/PE	ST	13	51	5	1
BA 213	BRA/BA	ST	13	14	5	1	PE 050	BRA/PE	ST	13	52	5	1
BA 225	BRA/BA	ST	13	15	5	1	PE 053	BRA/PE	ST	13	53	5	1
BA 226	BRA/BA	ST	13	16	5	1	SE 001	BRA/SE	ST	13	54	5	1
BA 228	BRA/BA	ST	13	17	5	1	SE 002	BRA/SE	ST	13	55	5	1
BA 230	BRA/BA	ST	13	18	5	1	Restrito 55	BRA/SE	ST	13	56	5	1
CE 005	BRA/CE	ST	13	19	5	1	SE 006	BRA/SE	ST	13	57	5	1
SE 008	BRA/SE	ST	13	58	5	1	PB 013	BRA/PB	ST	14	23	5	2
SE 011	BRA/SE	ST	13	59	5	1	PB 015	BRA/PB	ST	14	24	5	2
SE 012	BRA/SE	ST	13	60	5	1	PB 017	BRA/PB	ST	14	25	5	2
SE 014	BRA/SE	ST	13	61	5	1	PB 021	BRA/PB	ST	14	26	5	2
SE 018	BRA/SE	ST	13	62	5	1	PB 026	BRA/PB	ST	14	27	5	2
SE 020	BRA/SE	ST	13	63	5	1	PE 002	BRA/PE	ST	14	28	5	2
Restrito 57	BRA/SE	ST	13	64	5	1	PE 003	BRA/PE	ST	14	29	5	2
SE 024	BRA/SE	ST	13	65	5	1	PE 021	BRA/PE	ST	14	30	5	2
Restrito 58	BRA/SE	ST	13	66	5	1	Restrito 43	BRA/PE	ST	14	31	5	2
Restrito 59	BRA/SE	ST	13	67	5	1	PE 032	BRA/PE	ST	14	32	5	2
Restrito 62	BRA/SE	ST	13	68	5	1	PE 033	BRA/PE	ST	14	33	5	2
Restrito 63	BRA/SE	ST	13	69	5	1	PE 034	BRA/PE	ST	14	34	5	2
SE 034	BRA/SE	ST	13	70	5	1	PE 036	BRA/PE	ST	14	35	5	2
SE 035	BRA/SE	ST	13	71	5	1	PE 038	BRA/PE	ST	14	36	5	2
SE 036	BRA/SE	ST	13	72	5	1	PE 039	BRA/PE	ST	14	37	5	2
SE 038	BRA/SE	ST	13	73	5	1	PE 041	BRA/PE	ST	14	38	5	2
AL 022	BRA/AL	ST	14	1	5	2	PE 042	BRA/PE	ST	14	39	5	2
AL 023	BRA/AL	ST	14	2	5	2	PE 043	BRA/PE	ST	14	40	5	2
AL 024	BRA/AL	ST	14	3	5	2	PE 044	BRA/PE	ST	14	41	5	2

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
AL 025	BRA/AL	ST	14	4	5	2	PE 045	BRA/PE	ST	14	42	5	2
AL 026	BRA/AL	ST	14	5	5	2	PE 046	BRA/PE	ST	14	43	5	2
AL 028	BRA/AL	ST	14	6	5	2	PE 047	BRA/PE	ST	14	44	5	2
AL 030	BRA/AL	ST	14	7	5	2	PE 048	BRA/PE	ST	14	45	5	2
AL 033	BRA/AL	ST	14	8	5	2	PE 049	BRA/PE	ST	14	46	5	2
AL 037	BRA/AL	ST	14	9	5	2	PE 051	BRA/PE	ST	14	47	5	2
BA 211	BRA/BA	ST	14	10	5	2	PE 052	BRA/PE	ST	14	48	5	2
BA 212	BRA/BA	ST	14	11	5	2	PE 054	BRA/PE	ST	14	49	5	2
BA 214	BRA/BA	ST	14	12	5	2	PE 055	BRA/PE	ST	14	50	5	2
BA 227	BRA/BA	ST	14	13	5	2	RN 006	BRA/RN	ST	14	51	5	2
BA 229	BRA/BA	ST	14	14	5	2	RN 007	BRA/RN	ST	14	52	5	2
BA 231	BRA/BA	ST	14	15	5	2	SE 005	BRA/SE	ST	14	53	5	2
BA 232	BRA/BA	ST	14	16	5	2	SE 009	BRA/SE	ST	14	54	5	2
CE 006	BRA/CE	ST	14	17	5	2	Restrito 56	BRA/SE	ST	14	55	5	2
CE 009	BRA/CE	ST	14	18	5	2	SE 022	BRA/SE	ST	14	56	5	2
CE 020	BRA/CE	ST	14	19	5	2	SE 026	BRA/SE	ST	14	57	5	2
CE 021	BRA/CE	ST	14	20	5	2	Restrito 60	BRA/SE	ST	14	58	5	2
CE 022	BRA/CE	ST	14	21	5	2	Restrito 61	BRA/SE	ST	14	59	5	2
CE 025	BRA/CE	ST	14	22	5	2	SE 037	BRA/SE	ST	14	60	5	2
BA 039	BRA/BA	ST	15	1	5	3	CE 012	BRA/CE	ST	17	10	6	2
Restrito 9	BRA/BA	ST	15	2	5	3	CE 018	BRA/CE	ST	17	11	6	2
BA 233	BRA/BA	ST	15	3	5	3	CE 019	BRA/CE	ST	17	12	6	2
Restrito 29	BRA/MG	ST	15	4	5	3	Restrito 40	BRA/PE	ST	17	13	6	2
MG 066	BRA/MG	ST	15	5	5	3	PE 029	BRA/PE	ST	17	14	6	2
PB 018	BRA/PB	ST	15	6	5	3	Restrito 50	BRA/RN	ST	17	15	6	2
PE 040	BRA/PE	ST	15	7	5	3	RN 010	BRA/RN	ST	17	16	6	2
RN 012	BRA/RN	ST	15	8	5	3	RN 011	BRA/RN	ST	17	17	6	2
BA 074	BRA/BA	ST	16	1	6	1	CE 014	BRA/CE	ST	18	1	6	3

Continua...

Tabela 18, Cont.

Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG	Nome	Origem	Avaliação	Extrato	Nº no Extrato	Região	TG
BA 097	BRA/BA	ST	16	2	6	1	CE 015	BRA/CE	ST	18	2	6	3
BA 100	BRA/BA	ST	16	3	6	1	BA 237	BRA/BA	ST	19	1	6	4
BA 105	BRA/BA	ST	16	4	6	1							
BA 111	BRA/BA	ST	16	5	6	1							
BA 116	BRA/BA	ST	16	6	6	1							
BA 119	BRA/BA	ST	16	7	6	1							
BA 122	BRA/BA	ST	16	8	6	1							
Restrito 14	BRA/BA	ST	16	9	6	1							
BA 198	BRA/BA	ST	16	10	6	1							
BA 200	BRA/BA	ST	16	11	6	1							
BA 203	BRA/BA	ST	16	12	6	1							
PE 004	BRA/BA	ST	16	13	6	1							
PE 006	BRA/BA	ST	16	14	6	1							
CE 013	BRA/CE	ST	16	15	6	1							
CE 016	BRA/CE	ST	16	16	6	1							
CE 017	BRA/CE	ST	16	17	6	1							
PB 027	BRA/PB	ST	16	18	6	1							
PB 028	BRA/PB	ST	16	19	6	1							
PE 030	BRA/PE	ST	16	20	6	1							
BA 064	BRA/BA	ST	17	1	6	2							
BA 070	BRA/BA	ST	17	2	6	2							
BA 073	BRA/BA	ST	17	3	6	2							
BA 099	BRA/BA	ST	17	4	6	2							
BA 199	BRA/BA	ST	17	5	6	2							
BA 201	BRA/BA	ST	17	6	6	2							
BA 202	BRA/BA	ST	17	7	6	2							
BA 204	BRA/BA	ST	17	8	6	2							
BA 238	BRA/BA	ST	17	9	6	2							

* Acessos restritos são de uso exclusivo da Embrapa Milho e Sorgo.

Tabela 19 – Nome, número do acesso no extrato, local de melhoramento, tipo de grão e cor do grão de todos os acessos melhorados utilizados

Nome	Nº no extrato	Local de melhoramento	Tipo de grão	Nome	Nº no extrato	Local de melhoramento	Tipo de grão
BR 105 - Suwan DMR	1	CNPMS	2	WP 2 - Amarelo Dent.	30	Outras	
Restrito 66	2	CNPMS	1	WP 20 - Tuxpantigua	31	Outras	1
BR 125 - Cateto Colombia	3	CNPMS	3	WP 21 - COMP. Cuba	32	Outras	2
BR 126 - Dentado COMP.	4	CNPMS	1	WP 23 - Azteca Antigua	33	Outras	2
BR 126 XIII	5	CNPMS	2	WP 25 - La Posta	34	Outras	1
BR 5101	6	CNPMS	1	WP 26 - Capitein	35	Outras	1
BR 5102	7	CNPMS	0	WP 27 - Cuba 28	36	Outras	1
CATETO SETE LAGOAS	8	CNPMS	3	WP 28 - Diacol V 101	37	Outras	0
Restrito 21	1	Outras	2	WP 29 - Carmen	38	Outras	1
AMARELO DE PE A2	2	Outras	2	WP 3 - Cuprico	39	Outras	2
AMARELO SERTAO	3	Outras	2	WP 30 - Narino 330	40	Outras	0
BAIER	4	Outras	2	WP 31 - Peru 330 x Narino 330	41	Outras	2
CATETO PROLIFICO IX	5	Outras	3	WP 37 - Venezuela 3	42	Outras	1
CENTRALMEX	6	Outras	1	WP 6 - Tuxpeno x Eto	43	Outras	1
COMP. AMPLO	7	Outras	0	WP 7 - Eto Branco	44	Outras	2
ESALQ PB 1	8	Outras	2	WP 8 - Cuba GPO 1	45	Outras	3
ESALQ VD-2	9	Outras	1	WP 9 - Mix 1 GPO1 x EB	46	Outras	1
FLINT COMP. CMI HSI	10	Outras	0				
Restrito 26	11	Outras	1				
JATINA C3 ANAO	12	Outras	1				
Restrito 27	13	Outras	1				
PIRAMEX RIO PRETO	14	Outras	2				
PIRANAO	15	Outras	1				

Continua...

Tabela 19, Cont.

Nome	Nº no extrato	Local de melhoramento	Tipo de grão	Nome	Nº no extrato	Local de melhoramento	Tipo de grão
RELIANCE B	16	Outras	1				
SC I - Dente Riograndense Liso	17	Outras	1				
SC II - Dente Branco Riograndense	18	Outras	1				
Restrito 64	19	Outras	3				
WP 1 - Flint COMP.	20	Outras	2				
WP 10 - Hawai SLP	21	Outras	1				
WP 11 - Flint Dent.	22	Outras	2				
WP 12 - Tuxp - Flint	23	Outras	1				
WP 13 - Comp. Caribe	24	Outras	0				
WP 14 - Cristalinos	25	Outras	2				
WP 15 - Sint. Amar. Cr.	26	Outras	0				
WP 17 - Antigua GP2	27	Outras	2				
WP 18 - Tuxp. Amar. Cr.	28	Outras	0				
WP 19 - Tuxp. Cuba	29	Outras	1				

Tabela 20 – Nome, origem, número do acesso no extrato, tipo de grão de grão de todos os acessos introduzidos utilizados

Nome	Origem	Melhorado	Nº no extrato	TG	Nome	Origem	Melhorado	Nº no extrato	TG
Guatemala grupo 21-11a	Guatemala	CNPMS	1	2	TUXPEN0 1	México	Outros	32	1
Guatemala grupo 13-2a	Guatemala	CNPMS	2	4	VERACRUZ 183	México	Outros	33	2
Guatemala grupo 26-1a	Guatemala	CNPMS	3	4	KALAHARI BLITZ	Namibia	Outros	34	1
Veracruz grupo 24	México	CNPMS	4	1	Paquistão	Paquistão	Outros	35	1
Rep. Dominicana grupo 5	Rep. Dominicana	CNPMS	5	1	PAG I - Semidentado Paulista	Paraguai	Outros	36	2
Rep. Dominicana 275	Rep. Dominicana	CNPMS	6	1	COMPOSTO CRUZ CUZCO	Peru	Outros	37	2
Rep. Dominicana grupo 11	Rep. Dominicana	CNPMS	7	2	PUERTO RICO 18	Porto Rico	Outros	38	1
31106 g mlws comp	África do Sul	Outros	1	1	PUERTO RICO GPO 3	Porto Rico	Outros	39	1
31126 g ph4	África do Sul	Outros	2	4	SUR I - Cateto Nortista Precoce	Suriname	Outros	40	3
Composto pergam. araras	Argentina	Outros	3	2	SUWAN DMR - Original	Tailândia	Outros	41	2
Arg v - cateto sulino	Argentina	Outros	4	3	URG VI - Canario de 8	Uruguai	Outros	42	2
Arg vi - canario de 8	Argentina	Outros	5	3	URG IV - Cateto Sulino	Uruguai	Outros	43	3
Composto canario de 8	Argentina	Outros	6	3	URG V-A-Cateto Sulino Escuro	Uruguai	Outros	44	3
Colorado pergamino	Argentina	Outros	7	3	URG VIII - Cristal Sulino	Uruguai	Outros	45	3
Compuesto amargo	Argentina	Outros	8	4	STIFF STALCK SYNTETIC	USA	Outros	46	1
Teea 64 eeaoc	Argentina	Outros	9	4	RALEX ho (M) C16	USA	Outros	47	1
Tuxpeno caribe	Caribe	Outros	10	1	DROUGHT TOLERANT	USA	Outros	48	1
Corn beltxantiguaxR.. Dom.	CIMMYT	Outros	11	1	HIGH PROTEIN (I.H.P)	USA	Outros	49	2
Blanco dentado	CIMMYT	Outros	12	1	BS 29	USA	Outros	50	2
Chandelle	CIMMYT	Outros	13	1	YELLOW FLINT HE O2	USA	Outros	51	3
Amarillo del bajo x idone.	CIMMYT	Outros	14	2					
Amarillo dentado he o2	CIMMYT	Outros	15	2					
Mezcla tropical blanco	CIMMYT	Outros	16	2					
Cogollero	CIMMYT	Outros	17	2					
Amarillo cristalino	CIMMYT	Outros	18	2					
Comiteco	CIMMYT	Outros	19	2					
Templado amarillo cristal.	CIMMYT	Outros	20	3					
Templado amarillo qmp	CIMMYT	Outros	21	3					

Continua...

Tabela 20, Cont.

Nome	Origem	Melhorado	Nº no extrato	TG	Nome	Origem	Melhorado	Nº no extrato	TG
Blanco cristalino	CIMMYT	Outros	22	3					
Eto colombia	Colômbia	Outros	23	3					
Cateto colombia viii	Colômbia	Outros	24	3					
Guyana 001	Guiana	Outros	25	2					
Gfr ii - cateto nortista	Guiana Francesa	Outros	26	3					
Honduras grupo 13a	Honduras	Outros	27	2					
Kisan	Índia	Outros	28	3					
Prolifico japonês	Japão	Outros	29	2					
Olotillo	México	Outros	30	1					
Zapalote chico	México	Outros	31	1					

Tabela 21 – Número no extrato, nome do acesso, origem, local de avaliação, região ecogeográfica, número do extrato, tipo de grão e demais características dos 80 acessos landraces pertencentes à coleção núcleo

N ^o	Nome	Origem	Avaliação	Região	Extrato	TG	FM	FF	AP	AE	PPQ	PPA	NFE	NF	DC	NE	CE	CE	DE	NFG	NGF	PEP	PGP	DS	PMG
1	PR 002	BRA/PR	S. Lagoas	1	1	1	84	89	329	204	7	63	6	14	26	1	1	112	52	14	33	204	169	28	382
11	RS 013	BRA/RGS	S. Lagoas	1	1	1	84	90	228	105	28	80	6	14	23	1	2	60	44	14	14	59	48	26	300
48	RS 057	BRA/RGS	S. Lagoas	1	1	1	57	62	278	158	8	18	6	13	26	1	2	110	52	29	25	145	118	31	261
59	RS 075	BRA/RGS	S. Lagoas	1	1	1	52	55	243	121	18	9	5	12	19	1	1	100	40	14	29	82	68	22	185
62	RS 082	BRA/RGS	S. Lagoas	1	1	1	54	57	264	128	4	8	7	14	25	1	1	150	38	8	37	134	118	21	406
63	RS 083	BRA/RGS	S. Lagoas	1	1	1	55	59	321	170	12	8	7	16	24	1	1	150	40	10	38	140	123	20	349
80	SC 027	BRA/SC	S. Lagoas	1	1	1	94	106	275	169	9	18	5	16	24	1	2	90	46	12	16	94	64	30	410
88	RGS XIII	BRA/RGS	S. Lagoas	1	1	1	64	70	236	139			20	6	14	1	1	125	46	12	27	117	98	24	312
10	RS 062	BRA/RGS	S. Lagoas	1	2	2	46	49	239	119	18	9	5	12	19	1	2	150	39	14	34	105	86	24	201
14	RS 092	BRA/RGS	S. Lagoas	1	2	2	63	68	324	216	15	26	6	18	25	1,1	2	160	45	16	40	178	150	28	246
1	RS 001	BRA/RGS	S. Lagoas	1	3	3	88	93	259	136	3	7	6	14	23	1,1	4	100	40	12	20	87	71	26	290
4	RS 081	BRA/RGS	S. Lagoas	1	4	4	54	60	285	145	18	11	5	14	20	1	1	140	45	12	36	152	129	25	231
13	BA 178	BRA/BA	S. Lagoas	2	5	1	59	62	244	126	8	5	5	12	25	1,2	2	112	46	14	30	152	128	28	256
25	MG 013	BRA/MG	S. Lagoas	2	5	1	64	65	423		10	21	6	19	29	1	2	140	51	14	36	218	185	27	410
34	MG 108	BRA/MG	S. Lagoas	2	5	1	59	64	377	240	20	12	6	16	27	1	2	180	51	14	44	286	245	28	395
37	MG 112	BRA/MG	S. Lagoas	2	5	1	60	63	383	229	0	4	6	16	29	1	3	170	48	14	41	258	220	26	380
53	SP 001	BRA/SP	S. Lagoas	2	5	1	94	108	283	156	8	13	6	16	23	1,2	2	90	45	14	21	102	81	29	317
54	SP 002	BRA/SP	S. Lagoas	2	5	1	94	101	280	171	13	26	5	14	22	1	2	100	44	14	21	102	82	28	329
79	SP 103	BRA/SP	S. Lagoas	2	5	1	59	59	334	201	14	22	6	16	22	1,4	2	140	48	14	36	194	172	25	355
86	SP 135	BRA/SP	S. Lagoas	2	5	1	59	60	300	159	14	23	6	16	20	1	2	140	36	14	31	113	103	17	246
4	GO 001	BRA/GO	S. Lagoas	2	6	2	69	74	288	169	10	5	5	14	26	1	8	110	35	14	23	68	55	22	197
6	Grã Turvo	BRA/MG	S. Lagoas	2	6	2	70	75	309	177	7	10	6	15	21	1	1	80	44	14	19	87	74	26	330
19	MG 094	BRA/MG	S. Lagoas	2	6	2	63	66	305	174	24	2	6	15	24	1	4	109	32	10	27	62	55	17	209
22	MG 111	BRA/MG	S. Lagoas	2	6	2	61	63	381	242	9	14	6	17	28	1	2	160	45	14	40	210	182	25	355
26	SP 005	BRA/SP	S. Lagoas	2	6	2	68	74	293	186	6	11	5	14	25	1	2	100	51	18	24	138	110	30	230
40	SP 034	BRA/SP	S. Lagoas	2	6	2	81		362	237	19	33	6	17	31	1,2	1	120	48	16	32	185	154	27	351
70	SP 118	BRA/SP	S. Lagoas	2	6	2	60	62	298	171	28	22	7	16	23	1	2	180	44	12	44	197	166	25	320
6	BA II	BRA/BA	S. Lagoas	2	7	3	76	78	251	166			6	15	24		1	137	38	14	28	95	78	23	235
9	MG 100	BRA/MG	S. Lagoas	2	7	3	89	93	323	197	12	28	6	14	24	1	2	134	47	14	30	167	146	26	344
10	MG 119	BRA/MG	S. Lagoas	2	7	3	66	67	342	242	15	66	6	17	25	1	3	170	39	14	43	152	128	23	225
16	DESC I	BRA/SP	S. Lagoas	2	7	3	68	71	204	122	10	0	6	15	20		2	155	37	14	37	101	82	28	230

Continua...

Tabela 21, Cont.

Nº	Nome	Origem	Avaliação	Região	Extrato	TG	FM	FF	AP	AE	PPQ	PPA	NFE	NF	DC	NE	CE	CE	DE	NFG	NGF	PEP	PGP	DS	PMG
1	MT 038	BRA/MT	S. Lagoas	2	8	4	76	81	260	140	3	5	6	15	24	1	1	130	40	12	28	103	84	25	296
2	PR 062	BRA/PR	S. Lagoas	2	8	4	65	65	356	228	31	17	7	18	24	1	2	180	46	14	41	210	179	26	327
1	RR 020	BRA/RR	S. Lagoas	3	9	1	69	76	245	150	2	2	5	14	21	1	4	140	45	14	31	151	125	29	270
23	PA 087	BRA/PA	S. Lagoas	4	10	1	71	74	366	229	10	10	6	13	24	1	1	146	49	14	34	182	150	27	317
28	SPA	BRA/PA	S. Lagoas	4	10	1	70	75	230	139			6	14	18		2	106	34	18	25	61	49	22	127
8	PA 012	BRA/PA	S. Lagoas	4	11	2	88	92	271	178	5	5	7	16	27	1	2	142	41	12	33	139	117	22	292
28	PA 070	BRA/PA	S. Lagoas	4	11	2	87	90	324	218	5	5	6	13	29	1	2	139	38	16	25	67	53	24	150
29	PA 071	BRA/PA	S. Lagoas	4	11	2	72	75	372	246	16	4	6	15	22	1,2	1	115	47	14	40	176	140	28	250
11	PA 076	BRA/PA	S. Lagoas	4	12	3	63	66	316	184	2	2	6	12	17	1	2	163	39	12	38	134	110	23	228
17	PA 111	BRA/PA	S. Lagoas	4	12	3	81	85	276	168	26	26	6	14	22	1,6	4	106	41	14	21	88	71	25	270
16	BA 226	BRA/BA	S. Lagoas	5	13	1	68	71	291	165	3	5	5	15	17	1,1	4	100	36	10	23	70	59	22	272
20	CE 007	BRA/CE	S. Lagoas	5	13	1	87	93	334	232	7	9	5	17	25	1	2	110	43	12	24	119	95	27	287
28	PB 012	BRA/PB	S. Lagoas	5	13	1	87	93	314	192	30	28	6	12	21	1,2	1	150	47	12	38	173	146	24	324
29	PB 022	BRA/PB	S. Lagoas	5	13	1	64	70	222	122	3	8	5	14	24	1,3	1	110	40	10	26	93	78	24	309
32	PE 005	BRA/PE	S. Lagoas	5	13	1	87	89	288	165	19	33	5	12	21	1	2	121	44	12	31	140	121	22	334
40	PE 015	BRA/PE	S. Lagoas	5	13	1	75	77	314	192	28	6	14	7	23	1	2	149	44	10	33	147	123	25	364
50	PE 031	BRA/PE	S. Lagoas	5	13	1	62	64	294	147	8	11	6	15	20	1,3	2	170	47	12	35	178	147	29	371
10	BA 211	BRA/BA	S. Lagoas	5	14	2	80	89	300	178	6	8	6	15	21	1,1	2	80	32	10	18	38	33	22	217
22	CE 025	BRA/CE	S. Lagoas	5	14	2	75	81	337	200	6	9	6	17	24	1,1	2	110	39	14	23	81	63	27	273
46	PE 049	BRA/PE	S. Lagoas	5	14	2	67	70	223	115	6	9	5	13	22	1,5	2	130	41	12	30	128	106	25	279
49	PE 054	BRA/PE	S. Lagoas	5	14	2	64	68	216	108	2	3	6	13	22	1,2	1	120	38	10	26	89	75	22	283
51	RN 006	BRA/RN	S. Lagoas	5	14	2	68	70	301	169	11	11	6	16	24	1,2	4	150	44	16	33	159	135	28	273
3	BA 233	BRA/BA	S. Lagoas	5	15	3	94	104	267	155	3	7	5	16	23	1,3	4	110	35	14	22	77	63	23	201
13	PE 004	BRA/BA	S. Lagoas	6	16	1	88	93	237	122	14	20	5	12	24	1	2	125	38	10	29	107	91	20	320
15	CE 013	BRA/CE	S. Lagoas	6	16	1	61	65	290	154		6	15		21	1,2	2	120	41	14	30	94	75	27	172
3	BA 073	BRA/BA	S. Lagoas	6	17	2	76	77	324	205	14	2	6	15	28	1	2	114	46	14	35	168	141	26	316
17	RN 011	BRA/RN	S. Lagoas	6	17	2	72	75	294	161	11	19	6	15	22	1,2	4	80	31	12	21	87	71	24	265
1	CE 014	BRA/CE	S. Lagoas	6	18	3	68	71	301	184	12	8	5	15	21	1,3	4	100	41	14	24	100	84	26	288
1	BA 237	BRA/BA	S. Lagoas	6	19	4	65	71	289	144	3	5	6	16	24	1	1	120	40	12	28	105	89	24	260
1	BA 173	BRA/BA	Janaúba	1	2	1	66	72	345	200	16	1	5	13	23	1,1	2	131	43	14	34	134	114	23	270
3	BA 195	BRA/BA	Janaúba	2	2	2	65	71	295	170	14	2	6	13	21	1,1	4	137	44	14	29	141	118	26	314
8	RR 057	BRA/RR	Janaúba	3	3	1	97	102	225	130	7	3					2	140	55	18	38	233	200	33	321
3	RR 007	BRA/RR	Janaúba	4	3	2	77	78	305	185	48	39	7	14	22	1,3	2	130	37	12	20	82	63	21	220

Continua...

Tabela 21, Cont.

N^o	Nome	Origem	Avaliação	Região	Extrato	TG	FM	FF	AP	AE	PPQ	PPA	NFE	NF	DC	NE	CE	CE	DE	NFG	NGF	PEP	PGP	DS	PMG
13	RR 075	BRA/RR	Janaúba	4	3	2	74	78	260	185	24	33					2	160	52	18	36	234	199	32	330
25	RR 172	BRA/RR	Janaúba	4	3	2	93	96	235	150	18	15					2	160	47	26	39	185	151	30	260
1	AC 003	BRA/AC	Janaúba	5	4	1	65	69	320	200	9	9					1	132	50	16	34	196	164	25	370
7	AC 013	BRA/AC	Janaúba	6	4	2	66	77	320	200	15	4					2	124	38	12	30	104	89	20	260
23	AM 012	BRA/AM	Janaúba	6	4	2	84	90	230	125	12	14	7	17	20	1,8	2	100	36	16	23	56	43	25	143
33	RR 108	BRA/RR	Janaúba	6	4	2	60	61	190	90	67	7	6	13	20	1,1	4	110	45	14	26	113	89	29	263
37	RR 123	BRA/RR	Janaúba	6	4	2	82	91	220	125	26	5					2	150	48	16	40	170	142	31	246
2	AM 002	BRA/AM	Janaúba	7	4	3	87	90	275	165	7	2					2	150	39	14	35	128	105	25	218
3	RR 117	BRA/RR	Janaúba	8	4	4	77	80	325	215	92	0	7	16	27	1,4	2	157	47	16	31	173	144	28	322
2	AL 002	BRA/AL	Janaúba	9	5	1	74	82	225	110	6	24	6	14	23	1,1	2	120	44	12	27	115	96	26	276
20	BA 045	BRA/BA	Janaúba	9	5	1	55	58	265	110	3	7	5	12	18	1,1	2	110	43	14	26	113	95	24	340
29	MA 012	BRA/MA	Janaúba	9	5	1	61	67	310	210	20	5	6	15	22	2,2	2	170	43	12	44	181	157	23	303
1	AL 005	BRA/AL	Janaúba	10	5	2	74	80	260	130	12	18	6	13	23	1	2	129	43	14	28	128	106	24	292
1	BA 012	BRA/BA	Janaúba	11	5	3	59	66	220	100	4	15	5	12	15	1,4	4	120	30	14	29	62	50	18	216
2	BA 072	BRA/BA	Janaúba	12	6	1	69	70	305	160	4	3	7	15	21	1,3	2	111	45	12	34	121	100	26	368
1	BA 126	BRA/BA	Janaúba	13	6	2	69	72	290	135	23	2	6	14	21	1,4	8	141	43	12	30	143	119	25	321

Tabela 22 – Número, nome, origem, local de avaliação, tipo de grão e demais características dos acessos melhorados pertencentes à coleção núcleo

Nº	Nome	Origem	Avaliação	TG	FM	FF	AP	AE	PPQ	PPA	NFE	NF	DC	NE	CE	CE	DE	NFG	NGF	PEP	PGP	DS	PMG
5	BR 126 XIII	BRA/BA	S. Lagoas	2	64	70	305	169	3	5	6	15	24	1	3	120	50	14	25	174	142	31	302
6	BR 5101	BRA/PA	S. Lagoas	1	62	64	373	207	12	16	7	19	24	1,1	2	140	46	14	40	194	164	27	305
8	CATETO SETE LAGOAS	BRA/MG	S. Lagoas	3	68	71	269	0	0	10	6	16	25	1	2	0	38	12	41	0	128	22	268
13	CATETO PROLIFICO IX	BRA/SP	S. Lagoas	3	64	69	250	148	0	0	6	17	24	2	2	158	37	14	36	96	79	22	161
14	CENTRALMEX	BRA/SP	S. Lagoas	1	69	72	265	163	0	0	5	15	24	0	2	175	47	12	36	206	177	25	421
20	JATINA C3 ANAO	BRA/SP	S. Lagoas	1	68	71	184	0	0	0	6	16	28	0	2	0	48	12	40	0	0	26	378
35	WP 17-Antigua GP2	BRA/SP	S. Lagoas	2	63	64	185	104	10	20	6	13	20	1,1	2	148	13	14	33	140	93	26	271
39	WP 20-Tuxpantigua	BRA/SP	S. Lagoas	1	75	79	241	151	10	0	5	15	26	1	2	169	43	14	40	152	128	24	232
43	WP 26-Capitein	BRA/SP	S. Lagoas	1	75	78	256	153	0	20	6	15	26	1,1	1	160	46	16	35	171	143	24	270
46	WP 29-Carmen	BRA/SP	S. Lagoas	1	64	66	191	108	0	0	5	13	19	0	1	147	42	10	28	112	92	26	311
48	WP 30-Narino 330	BRA/SP	S. Lagoas		64	69	217	134	0	0	6	14	23	1	1	156	45	14	28	153	120	28	120
5	BR 126 XIII	BRA/BA	S. Lagoas	2	64	70	305	169	3	5	6	15	24	1	3	120	50	14	25	174	142	31	302

Tabela 23 – Número no extrato, nome, origem, local de avaliação e tipo de grão e demais características dos acessos introduzidos pertencentes à coleção núcleo

Nº	Nome	Origem	Avaliação	TG	FM	FF	NRP	AP	NFE	NF	DC	DE	CE	NFG	NGF	PEP	PGP	DS	PMG
4	Vera Cruz Grupo 24	Argentina	Janaúba	1	68	72	21	315	7	18	22	47	1	12	16	231	202	25	365
6	República Dominicana 275	Argentina	Janaúba	1	69	71	21	230	6	15	20	35	2	14	37	109	146	19	319
5	ARG VI - Canário de 8	Colômbia	S. Lagoas	3	55	58	15	198	5	12	18	33	2	10	37	100	83	20	239
6	Composto canário 8	Guatemala	S. Lagoas	3	52	54	18	205	5	13	22	34	2	8	43	138	115	19	241
13	Chandelle	Rep.Dominicana	S. Lagoas	1	68	71	19	220	6	13	21	33	2	14	42		105	15	209
19	Comiteco	CIMMYT	S. Lagoas	2	77	80	24	270	6	15	30	43	2	12	38			25	352
25	Guyana 001	Colômbia	S. Lagoas	2	95	104	32	253	6	15	23	42	2	16	16	57	45	30	193
30	Olotillo	CIMMYT	S. Lagoas	1	83	89	18	299	6	17	25	35	2	8	29		100	21	390
31	Zapalote Chico	Porto Rico	S. Lagoas	1	50	53	9	135	5	10	13	39	1	10	19	61	52	22	264
33	VeraCruz 183	CIMMYT	S. Lagoas	2	73	78	19	352	6	18	21	45	1	14	42	161	142	22	246
40	SUR I-Cateto Nortista Prec.	Argentina	S. Lagoas	3	71	75	23	235	14	5	23	46	2	16	40	174	142	27	287
50	BS 29	ARG	S. Lagoas	2	57	59	9	205	5	11	15	42	2	14	20	72	59	27	215

4. CONCLUSÕES

- A Coleção Ativa de Germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo possui quantidade satisfatória de informação para boa parte dos acessos nela contida.

- Devido a ausência de acessos coletados nos Estados do Espírito Santo, Piauí e Tocantins, torna-se necessária a realização de coleta nos mesmos.

- A estratégia de amostragem constante (C) gerou grandes alterações nas frequências dos acessos nos extratos, independentemente da intensidade de amostragem utilizada.

- A realização de gráficos de dispersão com os escores obtidos nas análises de componentes principais, associados com o método de Tocher, tendo como medida de dissimilaridade a distância euclidiana invertida foi considerada eficiente na identificação dos genótipos mais divergentes em cada extrato.

- De modo geral, as características que mais contribuíram para a discriminação dos genótipos foram o peso de 1.000 grãos, altura de plantas, peso de espigas por planta e altura de espiga.

- A estratégia multivariada foi a que gerou maiores alterações nas variâncias das características, independentemente da intensidade de amostragem utilizada.

- As médias das características foram pouco alteradas pelas estratégias de amostragem utilizadas.

- A amostragem integral dos acessos de extratos pequenos pode gerar grandes alterações de frequências nos extrato.

- Foi possível observar a tendência de quanto maior a intensidade de amostragem, maior o índice de retenção de variabilidade.

- A estratégia de amostragem adotada foi a multivariada, amostrando-se 10% dos acessos landraces e 20% dos acessos melhorados e introduzidos. Essa estratégia permitiu significativa redução do tamanho da coleção ativa, em comparação à amostragem de 30% dos acessos, apresentou um índice de retenção de variabilidade satisfatório e poucas alterações nas frequências dos acessos nos extratos e nas médias e variâncias das características.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA ADEQUAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA COLEÇÃO NÚCLEO DE MILHO DA UFV UTILIZANDO AFLP

1. INTRODUÇÃO

Avaliar a adequação de uma coleção núcleo consiste em verificar se esta realmente representa a variabilidade genética da coleção de germoplasma que lhe deu origem. Em primeira instância, a avaliação desta adequação é realizada utilizando-se características morfológicas e agronômicas, visando identificar a ocorrência de alterações nas médias, frequências e variâncias de características da coleção núcleo em relação à coleção total. Entretanto, devido aos efeitos ambientais, as informações sobre diversidade genética considerando essas características não são totalmente conclusivas, sendo necessária a utilização de técnicas mais precisas como isoenzimas, eletroforese de proteínas e marcadores de DNA.

Avaliar a adequação utilizando marcadores moleculares é um procedimento de refinamento, que permite também caracterizar molecularmente a coleção núcleo, o que é de grande importância para uma eficiente conservação

e utilização desta. Mesmo porque, marcadores moleculares têm sido utilizados em vários estudos de diversidade genética em vegetais, dentre os quais, microssatélites ou SSR (seqüências simples repetidas) e AFLP (polimorfismo de tamanho de fragmentos amplificados), se destacam para tal propósito.

A técnica de AFLP, desenvolvida por Vos et al. (1995), consiste na digestão do DNA com enzimas de restrição, sendo utilizadas endonucleases de corte raro e de corte freqüente, gerando, assim, fragmentos de diferentes tamanhos. Posteriormente, adicionam-se adaptadores complementares às seqüências do sítio de restrição e *primers* complementares aos adaptadores. Os fragmentos amplificados são separados pelo processo de eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida. É uma técnica multiloco, dominante e tem sido utilizada na identificação de marcas ligadas a locos de resistência a doenças, no *fingerprinting* de cultivares de diferentes espécies vegetais e na relação entre polimorfismo molecular e performance de híbridos em milho (Pejic, 1998). A principal vantagem do AFLP sobre as demais técnicas é a geração de um grande número de bandas polimórficas em uma única reação de PCR e dentro de um curto período de tempo, requerendo pequenas quantidades de DNA (Castiglioni, 1999).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a adequação e caracterizar molecularmente a Coleção Núcleo de Milho da UFV e verificar se a estratificação, considerando tipo de grão e origem ecogeográfica, foi eficiente para a obtenção de grupos geneticamente divergentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal

Foram utilizados os 80 acessos landraces pertencentes à coleção núcleo da UFV e 19 acessos landraces amostrados na coleção ativa da Embrapa Milho e Sorgo (Tabela 1). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular do Núcleo de Biologia Aplicada (NBA) da Embrapa Milho e Sorgo.

Para obtenção do material vegetal, foram semeadas em canteiros 150 sementes de cada acesso. Aos 30 dias após o plantio, coletou-se a terceira folha de 50 plântulas por acesso, formando-se um *bulk*. Esses *bulks* foram identificados, congelados em N líquido e armazenados a -80°C.

2.2. Extração do DNA

A extração do DNA foi realizada segundo o protocolo descrito por Saghai-Marroof et al. (1984), onde um volume de 10 mL de tampão de CTAB a 65°C (CTAB 2%; 0,2 M Tris-HCl; 1,4 M NaCl; 0,2 M EDTA; 2% β-Mercaptoetanol) foi adicionado a, aproximadamente, 5 g de tecido vegetal previamente macerado em cadinho, utilizando-se N₂ líquido. Essa mistura foi mantida a 65°C, por uma hora, sendo homogeneizada a cada 15 min.

Tabela 1 – Relação dos 80 acessos landraces da coleção núcleo da UFV e dos 19 acessos landraces amostrados na coleção ativa da Embrapa Milho e Sorgo

Nº	Nome	Avaliação ^{1/}	Região ^{2/}	Extrato ^{3/}	T.Grão ^{4/}	Nº	Nome	Avaliação ^{1/}	Região ^{2/}	Extrato ^{3/}	T. Grão ^{4/}
1	AC 003	2	4	5	1	51	PR 062	1	2	8	4
2	AC 013	2	4	6	2	52	RGS XIII	1	1	1	1
3	AL 002	2	5	9	1	53	RN 006	1	5	4	2
4	AL 005	2	5	10	2	54	RN 011	1	6	17	2
5	AM 002	2	4	7	3	55	RR 007	2	3	4	2
6	AM 012	2	4	6	2	56	RR 020	1	3	9	1
7	BA 012	2	5	11	3	57	RR 057	2	3	3	1
8	BA 045	2	5	9	1	58	RR 075	2	3	4	2
9	BA 072	2	6	12	1	59	RR 108	2	4	6	2
10	BA 073	1	6	17	2	60	RR 117	2	4	8	4
11	BA 126	2	6	13	2	61	RR 123	2	4	6	2
12	BA 173	2	2	1	1	62	RR 172	2	3	4	2
13	BA 178	1	2	5	1	63	RS 001	1	1	3	3
14	BA 195	2	2	2	2	64	RS 013	1	1	1	1
15	BA 211	1	5	14	2	65	RS 057	1	1	1	1
16	BA 226	1	5	13	1	66	RS 062	1	1	2	2
17	BA 233	1	5	15	3	67	RS 075	1	1	1	1
18	BA 237	1	6	19	4	68	RS 081	1	1	4	4
19	BA II - Cr	1	2	7	3	69	RS 082	1	1	1	1
20	CE 007	1	5	13	1	70	RS 083	1	1	1	1
21	CE 013	1	6	16	1	71	RS 092	1	1	2	2
22	CE 014	1	6	18	3	72	SC 027	1	1	1	1
23	CE 025	1	5	14	2	73	SP 001	1	2	5	1
24	DESC1	1	2	7	3	74	SP 002	1	2	5	1
25	GO 001	1	2	6	2	75	SP 005	1	2	6	2
26	Grã Turvo	1	2	6	2	76	SP 034	1	2	6	2
27	MA 012	2	5	9	1	77	SP 103	1	2	5	1
28	MG 013	1	2	5	1	78	SP 118	1	2	6	2
29	MG 094	2	2	6	2	79	SP 135	1	2	5	1
30	MG 100	1	2	7	3	80	SPA	1	4	10	1
31	MG 108	1	2	5	1	81	AC 018	2	4	-	2
32	MG 111	1	2	6	2	82	AC 025	2	4	-	4
33	MG 112	1	2	5	1	83	AC 044	2	4	-	3
34	MG 119	1	2	7	3	84	AL 019	2	5	-	1
35	MT 038	1	2	8	4	85	AL 025	1	5	-	2
36	PA 012	1	4	11	2	86	AL 028	1	5	-	2
37	PA 070	1	4	11	2	87	AL 029	1	5	-	1
38	PA 071	1	4	11	2	88	AM 006	2	4	-	4
39	PA 076	1	4	12	3	89	AM 010	2	4	-	2
40	PA 087	1	4	10	1	90	AM 013	2	4	-	2
41	PA 111	1	4	12	3	91	BA 058	2	5	-	1
42	PB 012	1	5	13	1	92	BA 171	1	2	-	3
43	PB 022	1	5	13	1	93	BA 175	1	2	-	1
44	PE 004	1	6	16	1	94	BA 177	1	2	-	1
45	PE 005	1	5	13	1	95	BA 201	1	6	-	2
46	PE 015	1	5	13	1	96	BA 213	1	5	-	1
47	PE 031	1	5	13	1	97	BA 215	1	2	-	1
48	PE 049	1	5	14	2	98	BA 216	1	2	-	1
49	PE 054	1	5	14	2	99	BA 217	1	2	-	1
50	PR 002	1	1	1	1						

^{1/} Local de avaliação: 1 – Sete Lagoas; e 2 – Janaúba. ^{2/} Região Ecogeográfica: 1 – Sul; 2 – Cerrados; 3 – Cerrados-Norte; 4 – Amazônia; 5 – Caatinga; e 6 – Agreste-Litoral. ^{3/} Número do extrato. ^{4/} Tipo de grãos: 1 – Dentado; 2 – Semidentado; 3 – Duro; e 4 – Semiduro. “-” acessos da coleção ativa, amostrados aleatoriamente.

Posteriormente, foi realizada uma lavagem do material com igual volume de clorofórmio-octanol (24:1), seguida de uma homogeneização constante por 10 min e centrifugação a 10.000 rpm, por 10 min. O sobrenadante foi transferido para outro tubo, onde foi realizada uma nova lavagem com clorofórmio-octanol seguida de centrifugação. O sobrenadante foi novamente transferido para outro tubo, precipitado com isopropanol (-20°C), ressuscitado em 3 mL de TE (Tris-HCl 10 mM; EDTA 1 mM; pH 8,0) e tratado com 20 µL de RNase (10 mg/mL) durante 1 hora a 37°C. O DNA foi novamente precipitado com etanol 95% (-20°C), lavado com etanol 70% e ressuscitado em 400 µL de TE.

A quantificação do DNA foi realizada em gel de agarose 0,8%, utilizando um padrão de DNA de concentração conhecida. Após a eletroforese, realizada a 100 v, durante 1 hora, o gel foi tratado com brometo de etídio (1 mg/mL) e o DNA visualizado sob luz ultravioleta (UV) no Eagle Eye II (Stratagene, USA; www.stratagene.com).

O DNA estoque foi mantido a -20°C e o DNA diluído, na concentração de trabalho de 50 ng/µL, foi armazenado a 4°C.

2.3. Marcador AFLP

O *kit* de AFLP utilizado foi o fabricado pela Invitrogen (USA; www.invitrogen.com) com as recomendações feitas pelo fabricante. Esse processo tem as seguintes etapas: restrição DNA, ligação aos adaptadores, PCR seletivo.

As reações de restrição do DNA com enzimas *EcoRI* e *MseI* e a ligação dos adaptadores foram realizadas utilizando o *AFLP Core Reagent Kit* (Invitrogen), seguindo as informações do fabricante. O DNA genômico foi digerido com as enzimas de restrição, em um volume final de 12,5 µL, contendo 150 ng de DNA; 2,5 µL do tampão 5X e 1,0 µL das enzimas *EcoRI* e *MseI* (1,25 U/µL). A reação foi mantida a 37°C, por 2 horas, transferida para 70°C, por 15 min, e colocada rapidamente em gelo. A ligação dos adaptadores foi realizada acrescentando à reação de restrição, 12,0 µL da solução de ligação dos

adaptadores e 0,5 µL da enzima T₄ DNA ligase (1 U/µL). A reação foi colocada a 20°C, por 2 horas, e mantida a 4°C até a amplificação pré-seletiva.

Antes de realizar a amplificação pré-seletiva, realizou-se uma diluição de 1:10, sendo 2 µL do produto final da reação de restrição e ligação dos adaptadores, mais 18 µL TE_{0,1} pH 8,0.

As reações de amplificação seletiva e pré-seletiva foram realizadas empregando-se os *kits* da *Applied Biosystems* (USA, www.appliedbiosystems.com) e de acordo com o descrito no manual de AFLP (AFLP, 1997) com algumas modificações. A reação de amplificação pré-seletiva foi realizada com 2 µL da reação de restrição e ligação diluída, 0,5 µL dos *primers* pré-seletivos *EcoRI* e *MseI* e 7,5 µL do AFLP *core mix* (*Applied Biosystems*). Os ciclos de amplificação foram realizados com uma etapa de desnaturação a 95°C, durante 2 min, seguida de 20 ciclos de 94°C, por 20 s, 56°C, por 30 s, e 72°C, por 2 min, e uma etapa de extensão final a 60°C, por 30 min.

Os produtos da amplificação pré-seletiva foram diluídos 20 vezes em TE e submetidos a amplificações seletivas, utilizando-se 12 combinações dos *primers EcoRI* e *MseI*, com três nucleotídeos seletivos na extremidade 3'. Os *primers EcoRI* foram marcados com os fluorocromos 6-FAM, JOE ou NED. As combinações utilizadas foram: *EcoRI*-ACT/*MseI*-CTC; *EcoRI*-AGG/*MseI*-CTC; *EcoRI*-ACC/*MseI*-CTC; *EcoRI*-ACA/*MseI*-CTG; *EcoRI*-AGG/*MseI*-CTG; *EcoRI*-AGC/*MseI*-CTG; *EcoRI*-ACA/*MseI*-CAC; *EcoRI*-AGG/*MseI*-CAC; *EcoRI*-ACC/*MseI*-CAC; *EcoRI*-ACT/*MseI*-CTA; *EcoRI*-ACG/*MseI*-CTA e *EcoRI*-AAC/*MseI*-CTA.

As reações de amplificações seletivas foram realizadas utilizando-se 2,0 µL do produto de PCR da pré-seletiva diluído 1:20, 1,0 µL do tampão PCR 10X, 0,3 µL de MgCl₂ (50 mM), 0,8 µL de dNTP, 0,05 µL de Taq DNA polimerase (5 µ/µL), 0,5 µL do *primer MseI* e 0,5 µL de cada um dos três *primers EcoRI* marcados com as diferentes fluorescências.

Os ciclos de amplificação foram realizados com uma etapa de desnaturação à 94°C, por 2 min, seguido de dez ciclos a 94°C, por 20 s, 66°C, por 30 s, com redução de 1°C por ciclo; 72°C, por 2 min, seguidos de 20 ciclos de 94°C, por 20 s; 56°C, por 30 s; 72°C, por 2 min; e uma etapa de extensão final de

60°C, por 30 min. O produto final da amplificação seletiva de cada três combinações de *primers* marcados com fluorocromos de cores diferentes foram misturados nas quantidades de 1,0, 1,2 e 1,5 µL, respectivamente. Aos 3,7 µL foram acrescentados 1,5 µL da mistura contendo formamida, *blue dextran* e 0,25 µL do marcador de peso molecular GS-500 ROX (*Applied Biosystems*, USA; www.appliedbiosystems.com), procedendo-se a desnaturação a 95°C, por 3 min. No gel de poliacrilamida, 5% desnaturante, foi aplicado 1,5 µL da amostra desnaturada e os fragmentos de AFLP foram resolvidos no seqüenciador ABI Prism 377 sob eletroforese, a 1.680 v, por 5 horas.

2.4. Análise dos dados

A análise dos géis para identificação dos alelos amplificados com os *primers* fluorescentes foi realizada utilizando-se o software Genescan 2.1 e para a obtenção das tabelas binárias utilizou-se o software Genotyper 2.0. Cada marca foi considerada como um loco diferente, sendo codificado (1) para presença da banda e (0) para ausência, obtendo-se uma matriz de dados binários. Todas as tabelas binárias geradas pelos programas foram posteriormente conferidas manualmente com seus respectivos géis.

A presença do alelo em um acesso, cujo DNA foi extraída de um *bulk* de 50 plântulas, não significa que todas estas plântulas possuam este alelo. Isso ocorre porque o milho é uma espécie alógama e apresenta grande variabilidade dentro de cada acesso. Como o que interessa é verificar se o acesso possui ou não determinado alelo quando na presença da banda, considerou-se que todos os 50 indivíduos do *bulk* a possuíam. Assim, admitindo-se o equilíbrio de Hardy-Weinberg, foi calculada a frequência (p_{ij}) de cada alelo (i) em cada loco (j).

2.4.1. Distância genética entre a coleção núcleo e a amostra da coleção ativa

Inicialmente, foi estimada a diversidade total (H_T) de acordo com Nei (1978), considerando todos os 99 acessos.

Para estimar a H_T foi necessário primeiramente estimar a diversidade considerando um único loco (h_j):

$$h_j = \left(\frac{2n}{2n-1} \right) \left(1 - \sum_{i=1, j=1}^M p_{ij}^2 \right),$$

em que

h_j = índice de diversidade considerando o loco j ;

n = número de indivíduos caracterizado por loco; e

p_{ij} = freqüência do i -ésimo alelo no j -ésimo loco.

Estimados os valores de h_j , chega-se então ao H_T .

$$H_T = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^L h_j,$$

em que N = número de locos considerados.

Para verificar se os acessos amostrados na coleção ativa encontram-se representados na coleção núcleo, os 99 acessos foram divididos em duas populações, sendo a população 1 composta pelos 80 acessos da coleção núcleo e a 2 pelos 19 acessos amostrados na coleção ativa. A diversidade total dentro de cada população foi calculada como mostrado anteriormente sendo aqui chamada de H_S .

A diversidade média entre populações (\bar{H}_S), considerando os 99 acessos foi estimada pela seguinte equação:

$$\bar{H}_S = \frac{1}{P} \sum_{P=1}^P H_S,$$

em que P = número de populações.

Foi estimado também o componente de diversidade entre populações (D_{ST}).

$$D_{ST} = H_T - \bar{H}_S.$$

A proporção da diversidade genética que é atribuída ao componente entre populações foi calculada pelo índice G_{ST} .

$$G_{ST} = \frac{D_{ST}}{H_T} \times 100.$$

Para visualizar a dispersão gráfica dos acessos foram plotados gráficos, utilizando-se os escores gerados pela análise de projeção das distâncias no plano, a partir da matriz de similaridade (sg_{ij}) de Jaccard, obtida com a transformação da matriz de dissimilaridade (dg_{ij}), utilizando-se a equação $dg_{ij} = 1 - sg_{ij}$.

2.4.2. Avaliação do tipo de grão e região ecogeográfica como critério de agrupamento para obtenção de grupos geneticamente divergentes

Com a finalidade de verificar se a estratificação quanto ao tipo de grão e região ecogeográfica formava grupos geneticamente divergentes, os acessos landraces da coleção núcleo foram divididos em quatro populações quanto ao tipo de grão e em seis populações quanto à origem ecogeográfica.

Foram realizadas as mesmas análises de diversidade citadas anteriormente. Entretanto, o agrupamento foi feito considerando o método de ligação média entre grupos, tendo como medida de dissimilaridade a distância genética (D) de Nei (1972). Segundo Alfenas (1991), esta medida leva em consideração semelhanças das frequências alélicas entre duas populações, X e Y, como mostrado a seguir.

Considerando-se o loco j, tem-se:

$$I_j = \frac{j_{XY}}{\sqrt{(j_X j_Y)}},$$

em que

$$j_X = \sum x_i^2$$

$$j_Y = \sum y_i^2$$

$$j_{XY} = \sum x_i y_i, \text{ com } i = 1, \dots, n.,$$

sendo:

I_j = identidade genética;

x_i = frequência do alelo i na população X;

y_i = frequência do alelo i na população Y; e

n = número de alelos no loco j .

Para vários locos considerados em conjunto, a identidade genética é dada por:

$$I = \frac{J_{XY}}{\sqrt{(J_X J_Y)}},$$

sendo J_X , J_Y e J_{XY} as médias aritméticas dos valores j_X , j_Y e j_{XY} , respectivamente.

A distância entre as populações X e Y é dada de forma complementar, sendo:

$$D = -\ln(I).$$

A dispersão gráfica dos grupos também foi visualizada em gráficos tridimensionais, sendo feitos a partir da matriz de dissimilaridade com base no complemento aritmético do índice de Jaccard. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se os *softwares* Genes (Cruz, 2001) e Gqmol (Cruz e Schuster, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escolha de um *bulk* de 50 plântulas para representar um acesso do banco de germoplasma foi feita com base nos trabalhos de Dubreuil et al. (1998) e Rebourg et al. (1999), que utilizaram um *bulk* de 30 plantas para representar acessos de milho, chegando à conclusão que a análise em *bulk* pode ser utilizada para representar populações de milho. No trabalho de Malosetti et al. (2000), que trabalharam com simulações e marcadores AFLP e *bulk* de 50 indivíduos, verificaram que a probabilidade de serem detectados alelos com frequências entre 0,9 e 0,4 foi de 100%, sendo que alelos com frequências de 0,3 teriam a probabilidade de 98% de serem detectados nesse *bulk*.

Devido a grande variabilidade existente em acessos de milho, não existe um número ótimo de plântulas a ser amostrado para representar um acesso. Gethi et al. (2002), trabalhando com linhagens, utilizaram duas plantas para representar linhagens de milho, e Castiglioni et al. (1999), também trabalhando com linhagens, utilizaram 15 a 20 sementes para o mesmo propósito. Demonstrando que mesmo utilizando linhagens, o número de indivíduos amostrados é controverso.

Considerando os 99 acessos utilizados, foram amplificadas 720 bandas, com uma média de 60 bandas por combinação de *primers* (Tabela 2), variando de 40 a 79 bandas por combinação de *primers*. Foi observado elevado grau de polimorfismo, sendo obtidas 660 bandas polimórficas, o que equivale a 92,0% de

Tabela 2 – Tamanho dos fragmentos em pares de bases dos fragmentos, número total de bandas, número de bandas polimórficas e porcentagem de polimorfismo para cada combinação de *primers* seletivos *EcoRI/MseI*

Combinação	Nucleotídeos Seletivos		Variação dos fragmentos (pb)	Nº total de bandas	Nº bandas polimórficas	Polimorfismo (%)
	<i>EcoRI</i>	<i>MseI</i>				
1	ACT	CTC	68,00 – 490,00	79	65	82,3
2	AGG	CTC	64,14 – 494,52	73	68	93,2
3	ACC	CTC	59,80 – 476,88	58	51	87,9
4	ACA	CTG	51,67 – 451,75	59	59	100,0
5	AGG	CTG	56,11 – 482,43	59	59	100,0
6	AGC	CTG	56,11 – 481,49	58	55	94,8
7	ACA	CAC	70,72 – 490,59	63	54	85,7
8	AGG	CAC	59,58 – 500,00	66	61	92,4
9	ACC	CAC	70,14 – 490,94	45	42	93,3
10	ACT	CTA	62,57 – 491,35	72	64	88,9
11	ACG	CTA	64,08 – 495,86	40	34	85,0
12	AAC	CTA	77,66 – 373,91	48	48	100,0
Média				60	55	92,0
Total				720	660	

polimorfismo. O grau de polimorfismo para cada combinação de *primer* variou entre 82,3 a 100%, destacando-se as combinações 4, 5 e 12 com 100% de polimorfismo (Tabela 2). A amplitude dos fragmentos, considerando todas as 12 combinações de *primers*, variou de 63,39 a 476,68 pb. Na Figura 1, pode-se observar o padrão de bandas utilizando-se três combinações de *primers* para os 65 a 99.

No trabalho realizado por Padilha (2002), foram utilizadas 11 combinações de *primers* AFLP para a caracterização e avaliação de diversidade genética entre 35 linhagens elites de milho tropical, apresentando grãos do tipo duro, dentado e de alta qualidade protéica. Foram obtidas 260 marcas com uma média de 24 marcas por combinação de *primer* e grau de polimorfismo de 60%. As combinações 2, 7 e 12 também foram utilizadas por Padilha (2002), onde apresentaram menor número de bandas (29, 22 e 20, respectivamente), menor

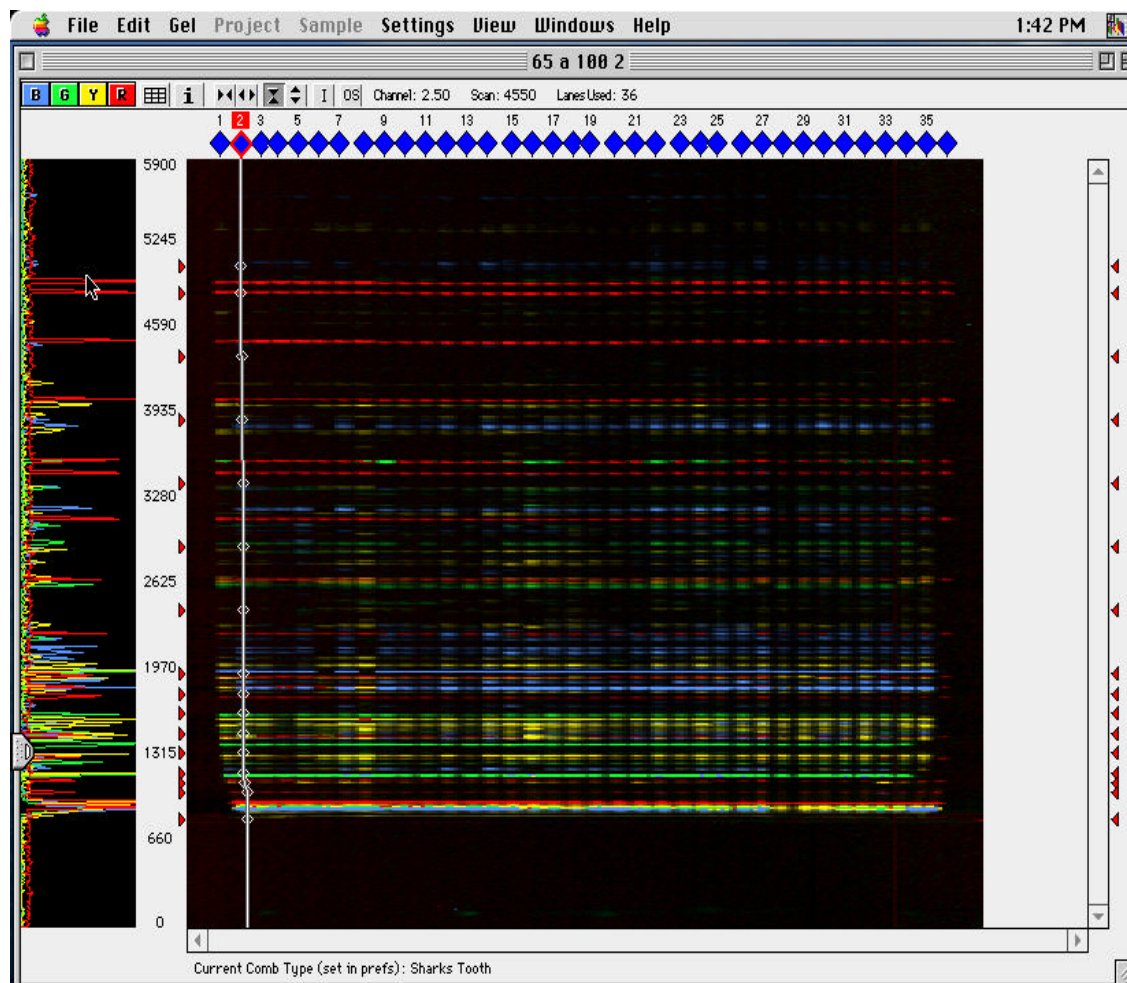


Figura 1 – Padrão de bandas amplificadas dos acessos 65 a 99, com as combinações de *primers* *EcoRI-ACA/MseI-CTG* (azul), *EcoRI-AGG/MseI-CTG* (verde) e *EcoRI-AGC/MseI-CTG* (amarelo).

porcentagem de polimorfismo (79, 54,5 e 60) e menor amplitude de tamanho de fragmentos, quando comparados com os resultados obtidos neste estudo, o que mostra grande variabilidade existente em acessos landraces de milho em relação a linhagens.

3.1. Distância genética entre a coleção núcleo e a amostra da coleção ativa

A coleção núcleo apresentou maior diversidade genética ($H_S = 0,2384$) que a amostra da coleção ativa ($H_S = 0,1631$) e maior número de locos polimórficos (Tabela 3). Apenas 13,67% da diversidade foi em função das

Tabela 3 – Número de locos polimórficos (%), tamanho da amostra, componente de diversidade dentro de população (H_S), diversidade total (H_T) e proporção da diversidade atribuída ao componente entre populações (G_{ST}) da coleção núcleo e da amostra da coleção ativa

População	Número de locos polimórficos (%)	Tamanho da amostra	H_S	H_T	G_{ST} (%)
Coleção Núcleo	659 (91,53)	80	0,2384		
Coleção Ativa	398 (55,28)	19	0,1631		
Todos os acessos	660 (92,00)	99	0,2007	0,2325	13,67

diferenças entre as duas populações, sendo que os 86,33% restantes foram devidos a diversidade dentro de populações. Resultado semelhante ao encontrado por Gimenes (2000), que trabalhando isoenzimas e populações de milho encontraram em média 84% da diversidade devido a diferenças entre populações e a diversidade dentro de populações variando de 5 a 32%.

Como pode ser visualizado no gráfico de dispersão dos 99 acessos landraces (Figura 2), os acessos da coleção ativa foram alocados em grupos contendo acessos da coleção núcleo. Este resultado é um indicativo de que os acessos amostrados na coleção ativa estão representados na coleção núcleo.

O valor de G_{ST} para cada loco apresentou grande variação (0 - 40,86%), indicando que algumas combinações de *primers* contribuíram mais que outras para a existência de diferenças entre as duas populações. Esse resultado mostra a importância de se utilizar o maior número possível de combinações de *primers*, de modo a se evitar conclusões errôneas.

O agrupamento dos acessos também pode ser visualizado no dendrograma de dispersão gerado pelo método de ligação média entre grupos, tendo como medida de dissimilaridade o complemento do índice de Jaccard (Figura 3). Observa-se a formação de muitos grupos, demonstrando a grande diversidade existente na coleção núcleo.

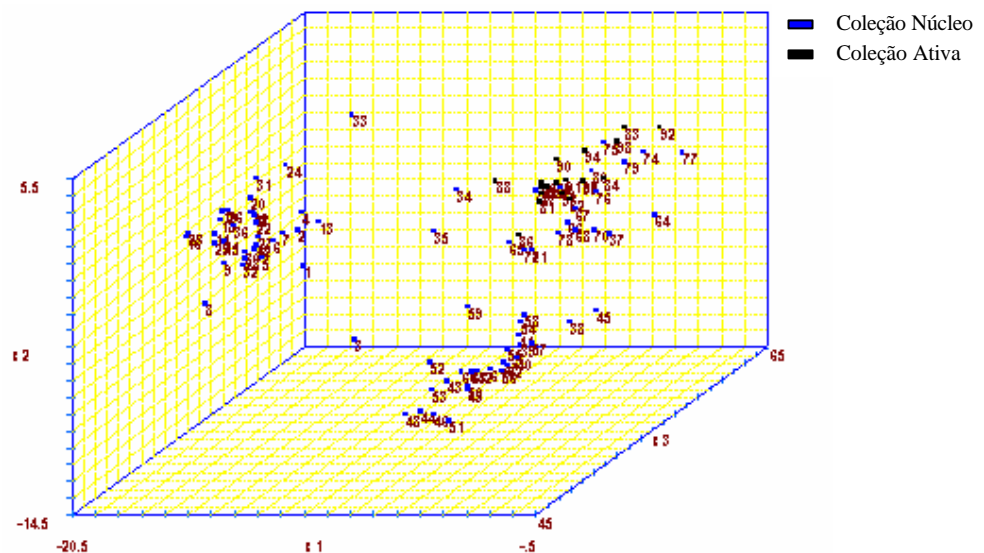


Figura 2 – Gráfico de dispersão dos 99 acessos landraces tendo como medida de dissimilaridade o complemento do índice de Jaccard.

3.2. Avaliação do tipo de grão como critério de agrupamento para obtenção de grupos geneticamente divergentes

Os grupos de acessos da coleção núcleo quanto aos tipos de grãos apresentaram diversidade genética semelhante, apesar do diferente tamanho (Tabela 4). Os acessos com tipo de grãos dentado e semidentado foram os que apresentaram maior número de bandas polimórficas. Apenas 4,69% da diversidade foi associada a diferenças entre populações. Entretanto, ao se realizar o agrupamento com base na ligação média entre grupos, foram formados dois grupos distintos, sendo um composto por acessos com grãos do tipo dentado e semidentado e outro contendo acessos com grãos duros e semiduros (Figura 4). Esses resultados são concordantes com os obtidos por Brieger et al. (1958), que afirmaram que genótipos com diferentes tipos de endosperma são divergentes geneticamente por possuírem origem evolucionária diferente. Padilha (2002) também verificou a formação de grupos distintos formados por linhagens contendo diferentes tipos de grãos e qualidade protéica. Esses resultados ressaltam a eficiência de marcadores AFLP em estudos de diversidade genética.

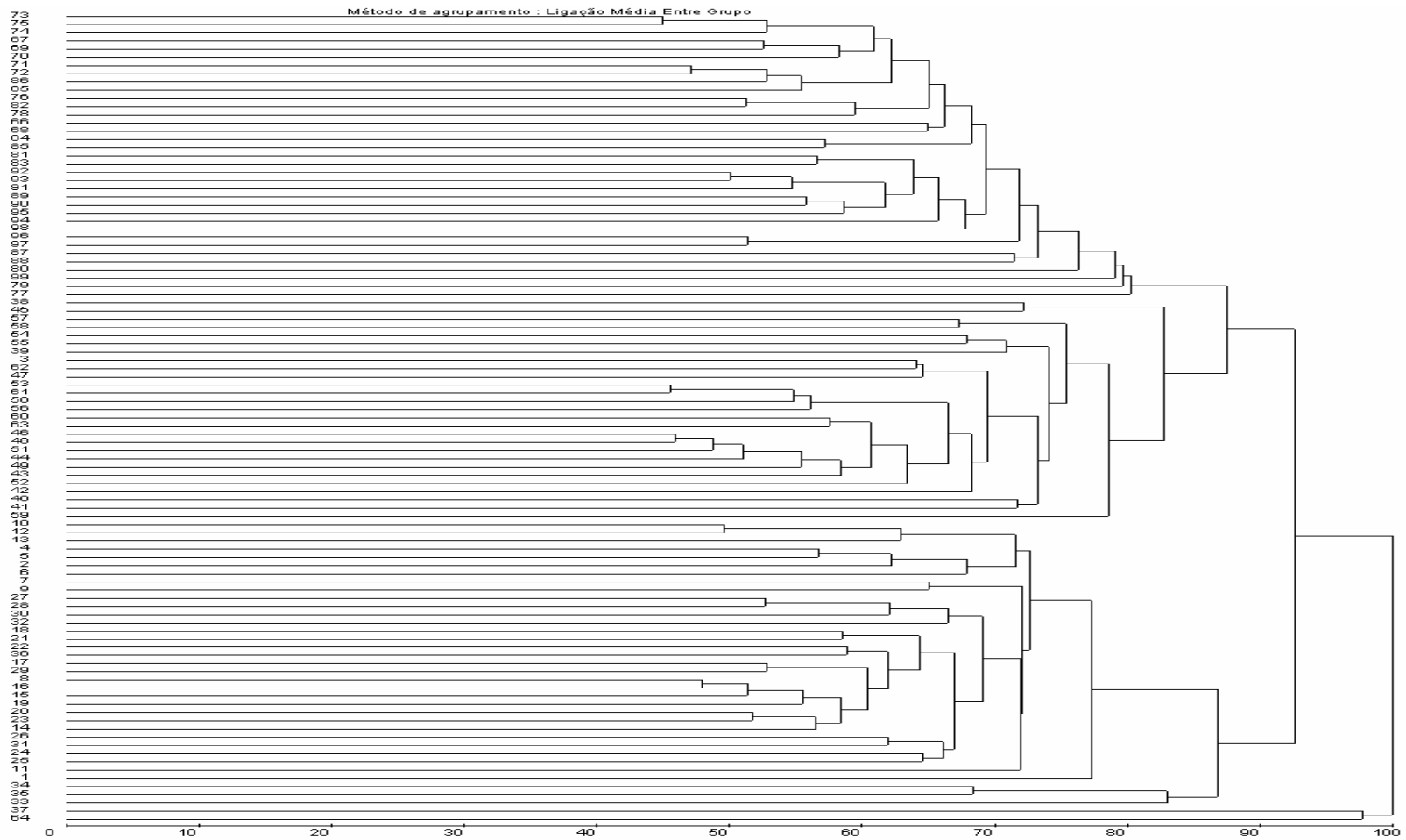


Figura 3 – Agrupamento dos 99 acessos landraces de acordo com o método de ligação média entre grupos, tendo como medida de dissimilaridade complemento do índice de Jaccard.

Tabela 4 – Número de locos polimórficos (%), tamanho da amostra, componente de diversidade dentro de população (H_S), diversidade total (H_T) e proporção da diversidade atribuída ao componente entre populações (G_{ST}) das populações com diferentes tipos de grãos

População	Número de locos polimórficos (%)	Tamanho da amostra	H_S	H_T	G_{ST} (%)
Dentado	617 (85,69)	35	0,2322		
Semidentado	596 (82,78)	29	0,2278		
Duro	482 (66,94)	11	0,2215		
Semiduro	388 (53,89)	5	0,2051		
Todos os acessos	659 (91,53)	80	0,2216 ^{1/}	0,2325	4,69

^{1/} Média dos H_S .



Figura 4 – Agrupamento dos 80 acessos landraces quanto ao tipo de grão pelo método de ligação média entre grupos, tendo como medida de dissimilaridade a distância genética de Nei (1972).

Na dispersão gráfica dos 80 acessos landraces da coleção núcleo (Figura 5), não foi possível identificar claramente os grupos quanto ao tipo de grãos. Entretanto, pode-se ter uma noção da variabilidade existente na coleção núcleo.

Tais resultados sugerem que no desenvolvimento de coleções núcleo de milho deve-se levar em consideração o tipo de grão para a obtenção de grupos geneticamente divergentes.

Em relação à ocorrência de alelos específicos, foram encontrados 16, 4, 1 e 1 alelos ocorrendo somente na população Dentado, Semidentado, Duro e Semiduro, respectivamente. Com base nesse resultado, pode-se inferir que entre os acessos dentados existe maior diversidade em relação aos demais grupos.

Realizando-se o agrupamento dos 80 acessos landraces com base no método de ligação média entre grupos concluiu-se que, mesmo considerando apenas os acessos landraces da coleção núcleo, existe grande variabilidade, sendo formados muitos grupos de acessos (Figura 6).

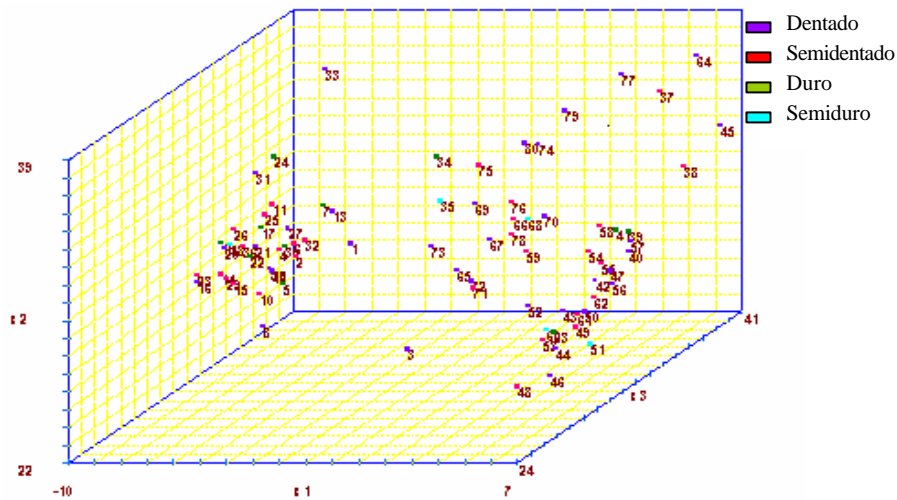


Figura 5 – Gráfico de dispersão de 80 acessos landraces da coleção núcleo, tendo como medida de dissimilaridade o complemento aritmético do coeficiente de Jaccard.

3.3. Avaliação da origem ecogeográfica como critério de agrupamento para obtenção de grupos geneticamente divergentes

As populações que apresentaram maiores diversidades foram as da Amazônia e da Caatinga (maiores H_s), sendo a população Cerrados-Norte aquela com menor diversidade. A população Cerrados foi a que apresentou maior porcentagem de polimorfismo (78,19%), mas não foi a que apresentou maior diversidade. Um maior grau de polimorfismo não implica necessariamente em uma maior diversidade, pois, apenas um indivíduo pode possuir determinada banda, ou somente um indivíduo não possuí-la para que o loco seja considerado polimórfico (Tabela 5).

A proporção da diversidade atribuída às diferenças entre as populações com diferentes origens ecogeográficas foi de 12,25%, valor este superior ao observado para as populações quanto ao tipo de grão.

De modo geral, considerando-se o tipo de grão, foram formados grupos mais nítidos em comparação com os grupos formados com base na origem ecogeográfica.

Tabela 5 – Número de locos polimórficos (%), tamanho da amostra, componente de diversidade dentro de população (H_S), diversidade total (H_T) e proporção da diversidade atribuída ao componente entre populações (G_{ST}) com diferentes origens ecogeográficas

População	Número de locos polimórficos (%)	Tamanho da amostra	H_S	H_T	G_{ST} (%)
1 - Sul	424 (58,89)	12	0,1866		
2 - Cerrados	563 (78,19)	23	0,2101		
3 - Cerrados-Norte	303 (42,08)	5	0,1697		
4 - Amazônia	506 (70,28)	14	0,2261		
5 - Caatinga	538 (74,72)	18	0,2228		
6 - Agreste-Litoral	430 (59,72)	8	0,1966		
Todos os acessos	659 (91,53)	80	0,2020 ^{/1}	0,2302	12,25

^{/1} Média do H_S .

No gráfico de dispersão dos acessos observa-se que acessos pertencentes a uma mesma região ecogeográfica não formaram grupos distintos, mas observa-se certa tendência de agrupamento (Figura 7).

Nas populações Sul, Cerrados e Cerrados-Norte verificou-se a ocorrência de um alelo específico em cada população. Na população Caatinga verificou-se a presença de três alelos específicos, e nas populações Amazônia e Agreste-Litoral não se observaram alelos específicos.

No agrupamento das seis regiões ecogeográficas, considerando-se a ligação média entre grupos, foram formados dois grupos; o primeiro, contendo as regiões Sul e Cerrados-Norte; e o segundo, contendo as demais regiões (Figura 8). A maior divergência foi observada entre Cerrados-Norte e Caatinga. Já as regiões mais similares foram Caatinga e Agreste-Litoral.

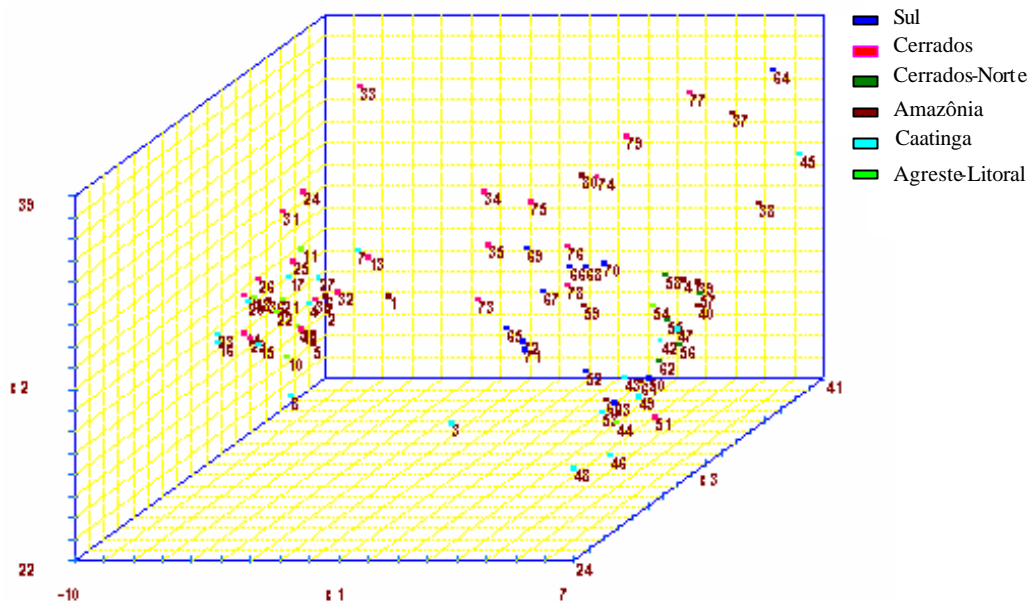


Figura 7 – Gráfico de dispersão dos 80 acessos landraces da coleção núcleo, tendo como medida de dissimilaridade o coeficiente de Jaccard.

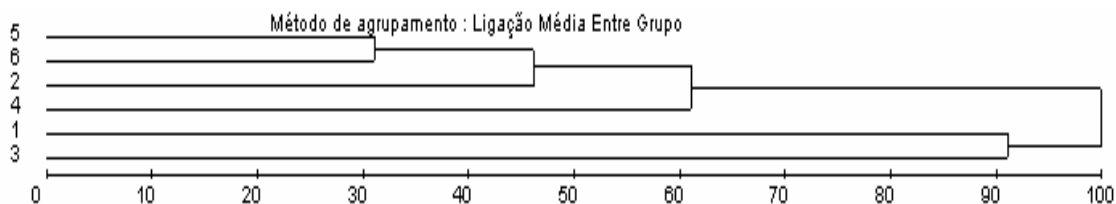


Figura 8 – Agrupamento dos 80 acessos landraces quanto ao tipo de grão pelo método de ligação média entre grupos, tendo como medida de dissimilaridade a distância de Nei (1973).

4. CONCLUSÕES

- *Bulks* de 50 plantas foram eficientes para representar acessos landraces de milho.

- Existe grande variabilidade na Coleção Núcleo da UFV.

- O uso de marcadores AFLP foi eficiente no estudo de diversidade e formação de coleção núcleo de milho.

- A estratificação quanto ao tipo de grãos mostrou-se mais eficiente que a estratificação quanto à região ecogeográfica em relação à obtenção de grupos geneticamente divergentes.

- A Coleção Núcleo desenvolvida na UFV comportou adequadamente a diversidade de uma amostra aleatória da Coleção Ativa de Milho da Embrapa Milho e Sorgo, considerando-se acessos com grãos do tipo dentado, semidentado, duro e semiduro.

3. RESUMO E CONCLUSÕES

Foi desenvolvida uma coleção núcleo de milho a partir da Coleção Ativa de Milho da Embrapa Milho e Sorgo (CNPMS). Foram realizadas estratificações quanto ao local de avaliação, tipo de grãos e origem ecogeográfica, sendo os acessos amostrados dentro de cada extrato escolhidos com base em análises multivariadas, amostrando-se 10% dos acessos landraces e 20% dos acessos melhorados e introduzidos. Esta estratégia permitiu uma significativa redução do tamanho da coleção ativa, em comparação à amostragem de 30% dos acessos, apresentou um índice de retenção de variabilidade satisfatório e poucas alterações nas frequências dos acessos nos extratos e nas médias e variâncias das características. Marcadores AFLPs mostraram-se eficientes ferramentas para o estudo de diversidade considerando-se acessos de milho, chegando-se à conclusão que a Coleção Núcleo desenvolvida na UFV representa adequadamente a Coleção Ativa da Embrapa Milho e Sorgo, levando-se em consideração acessos com grãos do tipo dentado, semidentado, duro e semiduro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIE, T.; CORDEIRO, C. M. T.; ANDRADE, R. V.; PARENTONI, S. N.; MAGALHÃES, J. R. **A coleção núcleo de germoplasma de milho para o Brasil**. Boletim de Pesquisa, n. 8. Brasília, DF. 2000. 37 p.

ABADIE, T.; MAGALHÃES, J. R.; CORDEIRO, C. M. T.; PARENTONI, S. N.; ANDRADE, R. V. **Obtenção e tratamento analítico de dados para organizar coleção núcleo de milho**. Comunicado técnico, n.20, p. 18, Nov. 1997.

ALFENAS, A. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. 1991. 242 p.

ANDRADE, R. V.; FILHO, I. A. P.; SANTOS, M. X.; FRANCISCO, R. S. S.; LEITE, C. E. P. Banco ativo de germoplasma de milho. In: III SIRGEALC – SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE. **Anais...** Londrina-PR. p. 506-507. 2001.

BALFOURIER, F.; PROSPERI, J. M.; CHARMET, G.; GOULARD, M.; MONESTIEZ, P. Using spatial patterns of diversity to develop core collections. In: JOHNSON, R. C.; HODGKIN, T. (Ed.) **Core collections for today and tomorrow**. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 1999. p. 37-48.

BISHT, I. S.; MAHAJAN, R. K.; LOKKNATHAN, T. R.; AGRAWAL, R. C. Diversity in Indian sesame collection and stratification of germoplasm accessions in different diversity groups. **Genet. Resour. and Crop. Evol.**, v. 45, p. 325-335, 1998.

BOHN, M.; UTZ, F. H.; MELCHINGER, A. E. Genetic Similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs, and SSRs and their use for predicting progeny variance. **Crop Sci.**, v. 39, p. 228-237, 1999.

BRIEGER, A. H. D.; GRUGEL, J. T. A.; PATERNIANI, E.; ALLEONI, M. R. **Races of maize in Brazil and other Eastern South American countries.** National Academy of Sciences-National Research Council Publication. n. 593, 1958. 238 p.

BRIEGER, A. H. D.; GURGEL, J. T. A.; PATERNIANI, E.; ALLEONI, M. R. **Races of maize in Brazil and other eastern south american countries.** National Academy of Sciences-National Research Council Publication. n. 593, 1958. 238 p.

BROWN, A. H. D. The case for core collections. In: BROWN, A. H. D.; FRANKEL, O. H.; MARSHALL, D. R.; WILLIAMS, J. T. (Ed.) **The use of plant genetic resources.** Cambridge: Cambridge University Press, p. 136-156, 1989a.

BROWN, A. H. D. Core collection: a practical approach to genetic resources management. **Genome**, v. 31, p. 818-824, 1989b.

BROWN, A. H. D.; SCHOEN. Optimal sampling strategies for core collections of plant genetic resources. In: LOESCHKE, V.; TOMIUK, J.; JAIN, S. K. (Ed.) **Conservation genetics.** Switzerland: Birkhauser Verlag Basel, 1994. p. 357-369

BROWN, A. H. D.; SPILLANE, C. Implementing core collections – principles, procedures, progress, problems and promise. In: JOHNSON, R. C.; HODGKIN, T. (Ed.) **Core collections for today and tomorrow.** Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1999. p.1-9.

CASTIGLIONI, P.; MARSAN-AJMONE, P.; van WIJK, R.; MOTTO, M. AFLP markers in a molecular linkage map of maize: codominant scoring and linkage group distribution. **Ther. Appl. Genet.**, v. 99, p. 425-431, 1999.

CORDEIRO, C. M. T.; MORALES, E. A. V.; FERREIRA, P.; ROCHA, D. M. S.; COSTA, I. R. S.; VALOIS, A. C. C.; SILVA, S. Towards a brazilian core collection of cassava. In: HODGKIN, T.; BROWN, A. H. D.; HINTUM, T. J. L. van; MORALES, E. A. V. (Ed.) **Core collections of plant genetic resources.** New York: John Wiley, 1995. p.155-167.

CRUZ, C. D. **Programa Genes:** versão Windows; Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa-MG: UFV, 2001. 648 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1997. 390 p.

CRUZ, C. D.; SCHUSTER, I. **GQMOL**: Genética quantitativa e molecular. Disponível em: <http://www.ufv.br/dbg/home3.html>. 2001.

DIWAN, N.; BAUCHAN, G. R.; McINTOSH, M. S. A core collection for the United States Annual *Medicago* Germplasm Collection. **Crop. Sci.**, v. 34, p. 279-285, 1994.

DIWAN, N; McINTOSH, M. S.; BAUCHAN, G. R. Methods of developing a core collection of annual *Medicago* species. **Theor. Appl. Genet.**, v. 90, p. 755-761, 1995.

DUBREUIL, P.; CHARCOSSET, A. Genetic diversity within and among maize populations: a comparison between isozyme and nuclear RFLP loci. **Theor. Appl. Genet.**, v. 96, p. 577-587, 1998.

FAO. **The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture**. Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1998. 510 p.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D. **Plant genetics resources today: A critical appraisal**. In: HOLDEN, J. H. W.; WILLIAMS, J. T. (Ed.) **Crop genetic resources: Conservation and evaluation**. Winchester: Allen and Unwin, 1984.

GETHI, J.G.; LABATE, J.A.; LAMKEY, K.R.; SMITH, M.E.; KRESOVICH, S. SSR Variation in Important U. S. Maize Inbred Line. **Crop. Sci.** 42:951-957. 2002.

GIMENES, M. A.; LOPES, C. R. Isoenzimatic variation in the germplasm of brazilian races of maize (*Zea mays* L.). **Genet. Mol. Biol.**, São Paulo, v. 23, 2000.

HAMON, S.; DUSSERT, S.; NOIROT, M.; ANTOHOY, F.; HODGKIN, T. Core collections – accomplishments and challenges. **Plant. Breeding Abstracts**, Cambridge, v. 65, n. 8, p. 1125-1133, 1995.

HARLAN J. R. Genetics resources in sorghum. In: RAO, N. G. P.; HOUSE, L. R. (Ed.) **Sorghum in the seventies**. New Delhi: Oxford and IBH, p. 1-13, 1972.

JAMRAMILLO, S.; DAENA, S. **Material de apoyo a la capacitación en conservación ex situ de recursos fitogenéticos**. Cali: Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, 2000.

JOHNSON, R. C.; JOHNSTON, W. J.; NELSON, M. C.; SIMON, C. J.; GOLOB, C. T. Core utilization and development – an example with *Poa pratensis* L. In: JOHNSON, R. C.; HODGKIN, T. (Ed.) **Core collections for today and tomorrow**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, p. 49-60. 1999.

KIMURA, M. and CROW, J.F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. **Genetics**, v. 49, p. 725-738, 1964.

LIMA, M. L. A.; GARCIA, A. A. F. OLIVEIRA, K. M.; MARSUOKA, S.; ARIZONO, H.; SOUZA JR., C. L.; SOUZA, A. P. Analysis of genetic similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugar cane (*Saccharum* spp.). **Theor. Appl. Genet.**, v. 104, p. 30-38, 2002.

MALOSETTI, M.; DIAZ, J.; ABADIE, T. **Evaluación preliminar del proceso de regeneración de la colección de maíz. Informe de actividades desarrolladas en el marco del proyecto**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo. 2000. 9 p.

MATTHEWS, P.; AMBROSE, M. J. Development and use of a “core” collection for the John Innes Pisum collection. In: BALFOURIER, F.; PERRETANT, M. R. (Ed.) **Evaluation and exploitation of genetic resources, pre-breeding proceedings of the genetic resources section meeting of Eucarpia, Clermont-Ferrand**. 1994. p. 99-107.

MOONEY, P. R. **O escândalo das sementes, o domínio na produção de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1987. 146 p.

NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C. **Estratégias para a regeneração de germoplasma vegetal**. Comunicado técnico. Embrapa/Cenargen, n. 17, p. 1-8, 1997.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, p. 583-590, 1978.

NEI, M. Genetic distance between populations. **Am. Nat.**, v. 106, p. 283-292, 1972.

NOIROT, M.; HAMMON, S.; ANTHONY, F. The principal component scoring: a new method of constituting a core collection using quantitative data. **Genet. Resour. And Crop Evol.**, v. 43, p. 1-6, 1996.

ORTIZ, R.; RUIZ-TAPIA, E. N.; JACOBSEN, S. E.; MUJICA-SANCHEZ, A.; CHRISTIANSEN, J. L.; STOLEN, O. Validating core collection of *Peruvian quinoa* germoplasm. **Genet. Resour. And Crop Evol.**, v. 46, p. 285-290, 1999.

PADILHA, L. **Marcadores moleculares semi-automatizados na caracterização e determinação da diversidade genética entre linhagens de milho tropical**. 2002. 85 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, MG.

PEJIC, L.; AJMONE-MARSAN, P.; MORGATE, M.; KOZUMPLICK, P.; CASTIGLIONI, P.; TARAMINO, G.; MOTTO, M. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs. **Theor. Appl. Genet.**, v. 97, p. 1248-1255, 1998.

REBOURG, C.; DUBREUIL, P.; CHARCOSSET, A. Genetic diversity among maize populations: Bulk RFLP analysis of 65 acessions. **Maydica**, v. 44, p. 237-249, 1999.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa: Ed. UFV. 2001. 301 p.

SAGHAI MAROOF, M. A.; SILIMAN, K. M.; JORGENSON, R.; ALLARD, R. W. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance chromosomal location and population dynamics. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 81, p. 8014-8018, 1984.

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

SKINNER, D. Z.; BAUCHAN, G.; AURICHT, G; HUGHES, S. Developing a core collection from a large annual *Medicago* germplasm collection. In: JOHNSON, R.C.; HODGKIN, T. (Ed.) **Core collections for today and tomorrow**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, p. 61-67, 1999.

SPAGNOLETTI ZEULI, P. L.; QUALSET, C. O. Evaluation of five strategies for obtaining a core subset from a large genetic resource collection of durum wheat. **Theor. Appl. Genet.**, v. 87, p. 295-304, 1993.

van HINTUM, Th. J.L.; HAALMAN, D. Pedigree analysis for composing a core collection of moderns' cultivars, with examples from barley (*Hordeum vulgare* L.). **Theor. Appl. Genet.**, v. 88, p. 70-74, 1994.

van HINTUM, Th. J. L.; BROWN, A. H. D.; SPILLANE, C.; HODGKIN, T. **Core collections of plant genetics resources**. IPGRI Technical Bulletin, n. 3, Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 2000.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DER LEE, T.; HORNES, M. AFLP: a new concept for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Res.**, v. 23, p. 4407-4414, 1995.

YONEZAWA, K.; NONURA, T.; MORISHIMA, H. Sampling strategies for use in stratified germoplasm collection. In: HODGKIN, T.; BROWN, A. H. D., van HINTUM, Th. J. L.; MORALES, E. A. V. (Ed.) **Core collections of plant resources**. UK: John Wiley and Sons, p.35-54, 1995.

ZHU, J.; GALE, M. D.; QUARRIE, S.; JACKSON, M. T.; BRYAN, G. J. AFLP marker for the study of rice biodiversity. **Theor. Appl. Genet.**, v. 96, p. 602-611, 1998.