

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

NATHALIA CAMPOS VILELA RESENDE

**AÇÃO GÊNICA E EFEITO RECÍPROCO PARA CARACTERES DE RAIZ EM
MILHO TROPICAL EM CONDIÇÕES CONTRASTANTES DE NITROGÊNIO**

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2020

NATHALIA CAMPOS VILELA RESENDE

**AÇÃO GÊNICA E EFEITO RECÍPROCO PARA CARACTERES DE RAIZ EM
MILHO TROPICAL EM CONDIÇÕES CONTRASTANTES DE NITROGÊNIO**

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

Orientador: Rodrigo Oliveira de Lima

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2020

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

R433a
2020 Resende, Nathalia Campos Vilela, 1996-
Ação gênica e efeito recíproco para caracteres de raiz em
milho tropical em condições contrastantes de nitrogênio /
Nathalia Campos Vilela Resende. – Viçosa, MG, 2020.
55 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Rodrigo Oliveira de Lima.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.47-55.

1. Milho - Efeito do nitrogênio. 2. Milho híbrido. 3. Fatores de estresse. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento. II. Título.

CDD 22 ed. 633.15894

NATHALIA CAMPOS VILELA RESENDE

**AÇÃO GÊNICA E EFEITO RECÍPROCO PARA CARACTERES DE RAIZ EM
MILHO TROPICAL EM CONDIÇÕES CONTRASTANTES DE NITROGÊNIO**

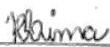
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 5 de agosto de 2020.

Assentimento:



Nathalia Campos Vilela Resende
Autora



Rodrigo Oliveira de Lima
Orientador

Ao meu pai Juliano Tadeu Vilela Resende e minha mãe Maria Cristina Campos Resende por todo carinho, amor, apoio e incentivo durante essa jornada. Às minhas irmãs por todo amor e companheirismo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar presente em todos os momentos decisivos da minha vida me guiando.

Aos meus pais, Juliano e Maria Cristina, minhas irmãs Millena, Alice e Julia e a todos os familiares por todo apoio, incentivo, carinho, amor e compreensão.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade da realização do curso e enorme contribuição em minha formação profissional e pessoal.

Ao CNPq pelo suporte financeiro para a concessão de bolsa e realização deste trabalho.

Ao professor Rodrigo de Lima por toda orientação, paciência, atenção e ensinamentos.

Aos membros da comissão avaliadora, Professor Pedro Carneiro, Professor Tiago Marçal e Dra. Lisandra Moura, por terem aceitado participar da banca e pelas sugestões.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação até o presente momento, em especial ao Professor Tiago Marçal por toda paciência e ajuda nas análises estatísticas.

A equipe do Programa Milho-UFV, estagiários, bolsistas de iniciação científica e pós-graduandos, pelo apoio, amizade e ajuda na execução do projeto, pois sem eles não seria possível a condução dos experimentos.

Ao Programa Milho Pipoca, em especial ao funcionário Leonardo e ao estudante Matheus, por terem emprestado o software WinRHIZO e o scanner, mas muito mais que isso, pelas conversas e ajuda prestada.

A todos os meus amigos que sempre acreditaram em mim e me apoiaram.

Muito Obrigada!

BIOGRAFIA

Nathalia Campos Vilela Resende, filha de Juliano Tadeu Vilela de Resende e Maria Cristina Campos Resende, nasceu em Lavras – MG, em 03 de maio de 1996.

Em 2014 ingressou na Universidade Federal de Lavras onde se graduou em Agronomia, obtendo o título em fevereiro de 2019.

Em março de 2019 iniciou o curso de Mestrado em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa.

RESUMO

RESENDE, Nathalia Campos Vilela, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2020. **Ação gênica e efeito recíproco para caracteres de raiz em milho tropical em condições contrastantes de nitrogênio.** Orientador: Rodrigo Oliveira de Lima.

Em milho, a eficiência no uso do nitrogênio (N) não ultrapassa 50% e uma forma de contornar esse problema é a melhoria da eficiência do uso e absorção de N (EUN) por meio do melhoramento genético de caracteres de morfologia e arquitetura de raízes. Embora o número de trabalhos com caracterização de genótipos para morfologia de raiz tem aumentado na última década, esses trabalhos tem focado na avaliação per se de linhagens e híbridos. Assim, pouco se sabe sobre a relação entre os parentais e seus cruzamentos em relação à morfologia de raiz, principalmente sobre condições contrastantes de N. Assim, neste trabalho, objetivou-se estimar a capacidade de combinação efeito recíproco entre linhagens de milho tropical eficientes no uso de N para caracteres de morfologia de raiz em condições contrastantes de N. Para isso, 10 linhagens de milho e os 90 híbridos (45 F₁ e 45 recíprocos) foram avaliados para caracteres de raiz em condições contrastantes de N em casa de vegetação. Houve baixa significância para a interação dos caracteres com o nível de N. A seleção em ambiente com diferentes níveis de N só seria recomendada para os caracteres AP, MPAS e DTR em linhagens e MPAS e RSR em híbridos. Efeitos aditivos tem papel importante na EUN, entretanto, para caracteres como RSR, MRS, CRA e VOL os efeitos não aditivos foram importantes. Para CGC houve significância para a maioria dos caracteres em ambos os níveis, exceto para RSR e CRA. O caractere que apresenta maior influência de efeito não aditivo é RSR. As linhagens que apresentaram efeito de CGC positivo para todos os caracteres, nos dois níveis de N, foram VML022 e VML016. A linhagem VML028 apresentou valores negativos para efeito de CGC em ambos os níveis de N. Para o efeito de RCGC positivo as linhagens que se destacaram foram VML004, VML017, VML020 e VML028. A CGC foi o parâmetro em que o nível de N apresentou maior influência. Correlações de média a baixa magnitude foram observadas para efeito de F₁ com recíproco e RCGC com F₁ em baixo N. Foi constatada alta correlação para efeito de RCGC e heterose dos recíprocos. Conclui-se que o efeito recíproco desempenha função importante, quando em baixo N, para promover EUN e influencia na manifestação da heterose. Os efeitos de CGC apresentam maior contribuição na expressão da maioria caracteres de raiz para EUN.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Eficiência no uso de N. Dialelo completo.

ABSTRACT

RESENDE, Nathalia Campos Vilela, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2020. **Gene action and reciprocal effects for root traits in tropical maize under contrasting nitrogen conditions.** Advisor: Rodrigo Oliveira de Lima.

In maize, the efficiency in the use of nitrogen (N) does not exceed 50% and one way to get around this problem is to improve the efficiency of the use and absorption of N (EUN) through the genetic improvement of characters of root morphology and architecture. Although the number of studies with genotype characterization for root morphology has increased in the last decade, these studies have focused on the per se evaluation of lines and hybrids. Thus, little is known about the relationship between parents and their crosses in relation to root morphology, mainly about contrasting conditions of N. So, this study aimed to estimate the ability to combine the reciprocal effect between efficient tropical corn lines. use of N for root morphology characters under contrasting N conditions. For this, 10 strains of corn and 90 hybrids (45 F₁ and 45 reciprocal) were evaluated for root characters under contrasting conditions of N in a greenhouse. There was a low significance for the interaction of the characters with the level of N. Selection in an environment with different levels of N would only be recommended for the characters AP, MPAS, and DTR in strains and MPAS and RSR in hybrids. Additive effects play an important role in EUN, however, for characters such as RSR, MRS, CRA, and VOL the non-additive effects were important. For CGC there was the significance for most characters at both levels, except for RSR and CRA. The lines that showed a positive CGC effect for all characters, at both levels of N, were VML022 and VML016. The line VML028 showed negative values for the CGC effect at both levels of N. For the effect of positive RCGC the strains that stood out were VML004, VML017, VML020, and VML028. CGC was the parameter on which the N level had the greatest influence. Correlations of medium to low magnitude were observed for the effect of F₁ with reciprocal and RCGC with F₁ in low N. A high correlation was found for the effect of RCGC and heterosis of the reciprocal. It is concluded that the reciprocal effect plays an important role when in low N, to promote EUN and influences the manifestation of heterosis. The effects of CGC make a major contribution to the expression of most root characters for EUN.

Keywords: Abiotic stress. Efficient use of N. Complete diallel.

SUMÁRIO

1	Introdução	9
2	Revisão de Literatura.....	12
2.1	Importância da cultura do milho.....	12
2.2	Melhoramento Genético para eficiência no uso de nitrogênio	12
2.2.1	Importância do nitrogênio.....	12
2.2.2	O papel das raízes na eficiência no uso de nitrogênio	15
2.3	Dialelos	17
2.4	Objetivo geral	19
2.4.1	Objetivos específicos	19
3	Material e Métodos	21
3.1	Material Genético	21
3.2	Implementação Experimental e Avaliação dos Genótipos	21
3.3	Análises estatísticas	23
3.3.1	Análise individual	23
3.3.2	Análise Conjunta.....	24
4	Resultados.....	26
4.1	Amplitude, média dos valores genotípicos e importância relativa dos componentes de variância.....	26
4.2	Estimativas de Componentes de Variância da Capacidade de Combinação	30
4.3	Efeito de Capacidade Geral de Combinação	34
4.4	Efeito da Capacidade Específica de Combinação e Heterose	37
5	Discussão	39
6	Conclusões.....	46
7	Referências Bibliográficas.....	47

1 Introdução

O milho é um dos cereais mais produzidos no mundo e largamente utilizado na alimentação humana, animal, na produção de etanol e, em menor escala, na produção de xaropes, cosméticos, bebidas alcoólicas dentre outros. Assim, ele apresenta alta versatilidade de uso, o que o torna extremamente importante e essencial para a economia agrícola mundial. Nos Estados Unidos da América, maior produtor de milho, estima-se que 39% da produção total de milho é destinada à produção de etanol. No Brasil esse cenário é diferente, somente 2,5% da produção de milho é utilizada para produção de etanol (USDA, 2019). Cerca de 65% do milho utilizado no Brasil é utilizado na alimentação animal, e 11% é destinado à indústria. Seu uso industrial não se restringe à indústria alimentícia, ele é amplamente utilizado na fabricação de espessantes e colantes e na produção de óleo. O Brasil se destaca no cenário produtivo de milho, sendo o terceiro maior produtor mundial, somente atrás de Estados Unidos e China. Na safra 2019/20, a área plantada com a cultura foi de aproximadamente 17,5 milhões de hectares e produção de quase 100 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2020).

Mediante perspectiva de aumento da população mundial, que até 2050 deverá ser de 9,6 bilhões de pessoas, faz-se necessário o aumento da produção global de alimentos para atender a demanda mundial (ROYAL SOCIETY OF LONDON, 2009). Em países como México, Moçambique, Angola e outros do continente africano, o milho é a principal fonte de energia na dieta, seja de forma direta com o consumo *in natura* ou indiretamente por meio da alimentação animal de aves e suínos. Torna-se, portanto, cada vez mais necessário o emprego de tecnologias que visem o aumento do rendimento por área das culturas, principalmente do milho.

Dentre as tecnologias aplicadas para esse propósito, o melhoramento genético tem contribuído de forma expressiva para o aumento nos ganhos de produtividade nas culturas. Como exemplo, tem-se o desenvolvimento de híbridos, os duplos na década de 30 e o híbrido triplo e simples a partir da década de 60. Esse avanço proporcionou aumentos significativos de produtividade, tanto pelo bom desempenho como pela tolerância ao adensamento de plantas, maior eficiência e resposta ao uso de insumos, tolerância a seca, precocidade e utilização de transgênicos (BOGUE, 1983; DUVICK et al., 2005).

Em virtude da escassez de áreas agricultáveis, associada à necessidade de maiores produções, fez-se necessária a expansão do cultivo para áreas de baixa fertilidade, visto que, tais solos geralmente apresentavam baixa fertilidade (PRETTY, 2008). Portanto, associado ao melhoramento genético foi indispensável a adoção de tecnologias para obtenção de uma adubação equilibrada, e manejo adequado para a construção da fertilidade do solo, os quais

associados ao potencial genético garantiram ganhos substanciais de produtividade ao longo dos últimos anos. No Brasil, houve um aumento significativo de produção, cerca de 208.6%, entre as safras 1998/1999 e 2018/2019. Esse aumento está diretamente relacionado ao aumento da produtividade. Enquanto a produção sofreu um aumento de 120,9% nos últimos 20 anos a área cultivada teve um aumento de somente 40% (KIST et al., 2019; CONAB, 2020). Entretanto, a produtividade brasileira ainda é considerada baixa ($5,72 \text{ kg ha}^{-1}$) quando comparada com Estados Unidos e Argentina. No Brasil cerca de 75% do milho é cultivado sob condições tropicais, nas quais o potencial de produção são menores do que em ambientes de condições temperadas. Isso se deve em grande parte à predominância de solos de baixa fertilidade, especialmente deficientes em N e fósforo (SUNOJ et al., 2016; VERGUTZ et al., 2017).

Dentre os nutrientes essenciais à cultura do milho, destaca-se o N, tanto em quantidade requerida quanto pela influência no aumento de produtividade (CIAMPITTI et al., 2010). Solos mais bem nutridos com N são capazes de acomodar maior densidade de plantas e aumentar a produtividade das culturas, em especial do milho. A planta de milho por apresentar metabolismo C4 tem boa eficiência no uso de N. Esse nutriente, participa como componente fundamental na biossíntese de aminoácidos e conseqüentemente de proteínas, estruturas de importância vital para a célula. A Rubisco, enzima de carboxilação no ciclo de Calvin é um exemplo, que junto a PEPcase, são responsáveis pela fixação de CO_2 atmosférico, utilizado na produção de carboidratos pela planta de milho. Ainda na fotossíntese, o N é componente de clorofila, molécula responsável pela captação de energia pelos fotossistemas. O N é produzido a partir de matérias primas importadas, e é obtido a partir de componentes fósseis como o gás natural, sendo necessário grande quantidade de energia para transformação do gás em ureia. Todo esse processo onera o custo de produção da lavoura. No milho, estima-se que 25% do custo total de produção é advindo do uso de fertilizantes nitrogenados (KIST et al., 2016). Nesse contexto, o desenvolvimento de genótipos de milho com maior eficiência na absorção e utilização de N é muito importante para manter e aumentar a produtividade nos plantios em áreas menos adaptadas ou em condições de baixo N.

Em locais, onde os fertilizantes nitrogenados são empregados indiscriminadamente, seu uso pode acarretar sérias conseqüências ambientais, incluindo o enriquecimento de N em ecossistemas naturais como a contaminação dos lençóis freáticos com nitrato e emissão de gases que causam efeito estufa como o N_2O (TILMAN et. al.2002; LIU et. al. 2013). Desse modo, o aumento da eficiência e uso racional de N, é um passo essencial para uma agricultura sustentável.

Para isso, estudos sobre a arquitetura e morfologia de raízes têm papel fundamental na seleção para genótipos com EUN (eficiência no uso do N) (MI et al., 2010; LYNCH, 2013; WHITE et al., 2013). Entretanto, pouca atenção tem sido direcionada para estudos relacionados às mudanças e distribuição dessas raízes no perfil do solo. Isso pode ser devido à dificuldade de realizar fenotipagem para caracteres de raízes, principalmente, em condições de campo (HIREL et al., 2007; GEWIN, 2010). As raízes são extremamente importantes para a sustentação da planta e suprimento da necessidade de absorção de água e nutrientes, entre eles o N. Um melhor desenvolvimento e crescimento de raiz garante maior produtividade de grãos (LYNCH et al., 2013; WHITE et al., 2013). Como uma estratégia para melhorar a EUN tem-se o aumento da absorção de N pelas culturas por meio do melhoramento genético para caracteres de raiz. A partir do desenvolvimento de cultivares superiores em morfologia de raiz espera-se obter maiores produtividades com menores doses de fertilizantes nitrogenados, reduzindo os custos e tornando o processo produtivo mais sustentável.

Obter genótipos que tenham maior eficiência radicular para busca de nutrientes em solos de baixa fertilidade é essencial para o aumento de produtividade. Para tanto, a variabilidade genética no germoplasma de milho deve ser estudada e utilizada com o intuito de obter combinações híbridas mais adequadas para maior ganho genético. Assim, estudos visando estimar a capacidade combinatória, ou seja, capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC), bem como as capacidades de combinação geral e específica recíprocas (RCGC e RCEC) e componentes genéticos devem ser realizados para que se encontre, de forma mais eficiente, combinações genéticas promissoras.

Diante do exposto, o objetivo desse estudo é identificar híbridos e linhagens de milho tropical responsivos e mais eficientes no uso de N, bem como estimar os efeitos de CGC, CEC, RCGC, RCEC e estudar a herança de caracteres de morfologia de raiz em condições contrastantes de N.

2 Revisão de Literatura

2.1 Importância da cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas mais plantadas no mundo. Devido à sua versatilidade e características nutricionais, ele é utilizado tanto na alimentação humana quanto animal. Além disso, também está presente em vários seguimentos da indústria de alta tecnologia, como a produção de filmes, embalagens biodegradáveis e diversos outros produtos. Recentemente o milho tem sido utilizado como matéria prima na produção de álcool (MORO e FRISTSCHÉ-NETO, 2015). Em relação à composição do grão, ele é composto por carboidratos (78%) e proteínas (9%), sendo considerado um alimento altamente energético (PAES, 2008).

No cenário mundial, o Brasil ocupa posição de destaque com relação à produção e exportação de milho. O país é o terceiro maior produtor mundial, atrás somente dos Estados Unidos (347,78 milhões de toneladas) e China (260,77 milhões de toneladas) (USDA, 2020), e o segundo maior exportador. Estimativas da CONAB (2020) apontam que para a safra 2019/2020, o país produzirá aproximadamente 100 milhões de toneladas de grãos de milho em uma área de 18,2 milhões de hectares. A produtividade média brasileira de 5.720 kg ha⁻¹ é considerada baixa e é reflexo do baixo nível tecnológico utilizado pelos agricultores em algumas regiões do país. Para, além disso, a ocorrência de intempéries climáticas e ineficiente manejo cultural são fatores que contribuem para o baixo rendimento da cultura. A deficiência de N e P nos solos tropicais, também são fatores de importante contribuição para obtenção de baixas produtividades na cultura do milho (MUNDIM et al., 2018).

Nesse contexto, o melhoramento genético vem sendo amplamente empregado, de forma a se obter genótipos mais adaptados às condições tropicais. Sabe-se que a produtividade vem crescendo ao longo dos anos, isso se deve, principalmente, ao desenvolvimento de híbridos mais responsivos a ambientes de estresse, associado ao uso mais efetivo de tecnologias e manejo cultural, entre elas, o uso racional do N, baseado em doses mais adequadas. A utilização da biotecnologia com a inserção de diversos *traits* também vem auxiliando o crescimento e a efetividade da produção de milho no Brasil.

2.2 Melhoramento Genético para eficiência no uso de nitrogênio

2.2.1 Importância do nitrogênio

Na maioria das regiões agrícolas no Brasil e no Mundo, a produção é altamente dependente do suprimento de N por fontes externas que empregam energia não renováveis na sua fabricação. O aumento no uso de fertilizantes nitrogenados tem proporcionado um aumento na qualidade e produtividade das culturas, porém com aumento de custo de produção. Durante a Revolução Verde, altas produtividades na agricultura foram alcançadas com a intensificação da quantidade e do número de aplicações com fertilizantes (FOLEY et al., 2011; GREGORY e GEORGE, 2011). Alguns estudos mostraram que o aumento na produtividade de milho nos últimos 50 anos está associado ao aumento da adubação nitrogenada juntamente com o melhoramento genético (DUVICK, 2005; JIAO et al., 2016). Estima-se que aproximadamente metade da produção global de alimentos é aumentada diretamente pela aplicação de fertilizantes nitrogenados (ERISMAN et al., 2008; DAWSON e HILTON, 2011).

O N é o nutriente mais requerido pela cultura do milho, principalmente quando se deseja atingir altas produtividades. Além disso, o N é importante por ser constituinte de aminoácidos, proteínas, enzimas e ácidos nucléicos e, além disso, está associado a processos fisiológicos como fotossíntese, respiração e absorção iônica (TAIZ e ZEIGER, 2016). Desse modo, sua deficiência é considerada a causa mais limitante para a produção de milho (ZUCARELI et al., 2014; JANDREY, 2016). Essa deficiência se caracteriza pelo amarelecimento das folhas mais velhas, por ser um nutriente móvel na planta, em forma de V invertido que pode evoluir para necrose dos tecidos (MALAVOLTA et al., 1997). A coloração amarela das folhas velhas é causada pela deficiência na síntese de clorofila, associada a deficiência de aminoácidos envolvidos no transporte de substâncias pelo floema.

Estudos apontam que para cada 60 kg ha⁻¹ de grão de milho produzido é necessário 1 kg ha⁻¹ de N no solo (VERGUTZ e NOVAIS, 2015). Este N é absorvido pela planta de milho durante quase todo seu ciclo, dos estádios iniciais até próximo à maturação fisiológica do grão (GALVÃO et al., 2015; ZUFFO, 2016). Nitrato (NO₃⁻) e amônio (NH₄⁺) são as formas inorgânicas mais requeridas para o crescimento das plantas. Enquanto o NO₃⁻ é móvel no solo, o NH₄⁺ é fortemente fixado por suas partículas. Dessa forma o N orgânico é a forma mais abundante de N no solo (HAVLIN et al., 2016). Com o aumento da deficiência de N as plantas utilizam mais as fontes orgânicas de N. Portanto, do N disponível para absorção pelas culturas, somente uma pequena parte é adquirida por fluxo de massa, a maior parte é proveniente da mineralização do N orgânico.

Ao longo dos anos as cultivares modernas de milho foram desenvolvidas com foco em altas produtividades com a avaliação e seleção feita em ambientes de alta fertilidade. Portanto, devido à grande exigência nutricional, milhões de toneladas de fertilizantes nitrogenados são

adicionados ao solo para suportar o crescimento e desenvolvimento da cultura do milho para altas produtividades.

Todos os anos, para produção de adubos nitrogenados são utilizadas grandes quantidades de combustíveis fósseis. Os fertilizantes nitrogenados são provenientes da amônia, a qual é obtida a partir da transformação química do gás natural. Para que esse processo ocorra é necessária elevada quantidade de energia. Além disso, sabe-se que os adubos nitrogenados por serem um produto não renovável apresentam custo extremamente elevado, o que no final da equação de lucro, pode ocasionar perdas ao produtor, posto que o valor da saca varia ao longo dos anos. Os fertilizantes nitrogenados representam, em média, 22% do custo de produção da cultura do milho. Soma-se a isso o fato de que na cultura do milho a eficiência no uso de N é menor que 50% (GALLAIS e COQUE, 2008; HIREL et al., 2007), pois ocorre perdas por volatilização e lixiviação.

O uso excessivo de fertilizantes nitrogenados tem causado sérios danos ao meio ambiente. Dentre eles destaca-se a contaminação de lençóis freáticos por meio da nitrificação desses, com a consequente alteração da biodiversidade. Soma-se a isto a emissão de gases que provocam o efeito estufa como o N_2O (ERISMAN et al, 2013; LIU et al., 2013; BODIRSKY et al., 2014; HAN et al., 2015). Uma estratégia eficiente para reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados e aumentar a eficiência de adubação é o desenvolvimento de cultivares de milho com EUN. Moll et al. (1982) definiram eficiência no uso do N (EUN) como produtividade de grãos por unidade de N disponível à planta no solo. A EUN pode ser definida geneticamente como a habilidade de um determinado genótipo ter maiores produtividades em solos com baixo nível de N, quando comparado com outros genótipos (SATTELMACHER et al., 1995). Entretanto, York et al. (2015) definem que uma variedade moderna altamente eficiente no uso de N é caracterizada pela alta produtividade tanto em ambientes com alto, como baixo nível de N no solo. A EUN é função da eficiência de absorção do N (EAbN) e da eficiência na utilização de N (EUtN) nos processos fisiológicos da planta. EAbN é definida como a média entre a quantidade de N aplicada com a absorvida, já EUtN corresponde à habilidade de um genótipo em converter o N absorvido em biomassa e produção de grãos (MOLL et al., 1982). Alguns estudos conduzidos nos estádios iniciais de desenvolvimento da planta de milho, evidenciam que a EUN é normalmente estimada com base na massa seca de parte aérea e não na produção de grãos. Kant et al. (2011) estimaram que um aumento de 1% na EUN nas culturas, pode gerar economia de mais de US\$ 1,1 bilhão anualmente.

De acordo com Kant et al. (2011), apesar de todas as atividades desenvolvidas nos programas de melhoramento, explorando genes de interesse no germoplasma de milho, ainda

existe enorme variabilidade genética para EUN a ser explorada. Entretanto, segundo Santos et al. (2019), o desenvolvimento de cultivares eficientes no uso de N é um grande desafio, devido à sua complexidade genética e forte interação com o ambiente. Mundim et al. (2018) apontam que uma boa estratégia é a identificação de linhagens eficientes no uso de N, das quais se pode obter híbridos mais eficientes, diminuindo assim, a necessidade de aplicação de grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados.

Em um trabalho no qual avaliaram seis híbridos de milho para EUN em várias doses de N, Fernandes et al. (2005) concluíram que a eficiência no uso de N diminuiu quando se aumentou a dose de N. Em outro estudo, Santos et al. (2019) estudaram a herança da EUN em milho pipoca e concluíram que a dominância parcial é que controla essa eficiência, e que os efeitos aditivos são os mais importantes. Dovale et al. (2012) também obtiveram a mesma constatação de que os efeitos genéticos aditivos são mais importantes para os caracteres associados com EUN. Porém, DeLima (2010) observou efeito contrário, ou seja, os efeitos não aditivos foram os mais importantes. Gallais e Hirel (2004) verificaram que os genes responsáveis pelo controle da eficiência no uso de N são expressos de acordo com a disponibilidade do nutriente à planta, conseqüentemente, a magnitude da variabilidade genética é manifestada diferentemente nos ambientes contrastantes.

Cai et al. (2012a b) avaliaram 218 linhagens endogâmicas recombinantes de milho em baixo nível de N e fósforo com o objetivo de investigar respostas a estresses abióticos. Os autores identificaram alguns QTLs para área foliar, quantidade de clorofila, dentre outros, que sinalizam regiões para melhoramento genético para baixo N e fósforo. Em outro estudo, Rodrigues et al. (2017) encontraram correlações altas e positivas entre número de grãos e quantidade de clorofila nas folhas e EUN em condições de baixo N.

Makumbi et al. (2011) avaliaram a produtividade de grãos em híbridos provenientes de um dialelo entre linhagens originadas de três programas de melhoramento e relataram comportamento diferencial dos híbridos, quando avaliados em ambientes: bem nutridos e irrigados, sob estresse hídrico e com deficiência de N. Em outro trabalho, Rodrigues et al. (2017) observaram que há variabilidade genética para eficiência no uso de N em um conjunto de 64 linhagens de milho tropical avaliados em condições contrastantes de N. Os autores constataram redução na produtividade de grãos de aproximadamente 25%, quando em condições de estresse desse nutriente e identificaram alta correlação do número de grãos por espiga com a eficiência no uso de N.

2.2.2 O papel das raízes na eficiência no uso de nitrogênio

As raízes são o órgão primário para a aquisição de nutrientes e água do solo. Desse modo, desempenham papel fundamental na adaptação a vários estresses abióticos como a deficiência por N, seca e salinidade (MI et al., 2010; WHITE et al., 2013; KOEVOETS et al., 2016; MARIANI et al., 2017). A arquitetura do sistema radicular determina o acesso aos recursos do solo, o que vai influenciar na performance da planta e, conseqüentemente, na produtividade de grãos (COQUE e GALLAIS, 2006). Assim, a configuração do sistema radicular da planta no solo tem grande importância na eficiência de absorção de nutrientes (LI et al., 2016).

O crescimento da raiz depende da disponibilidade de carbono e fontes de nutrientes. O uso eficiente de carbono nas raízes é importante para se desenvolver um bom e eficiente sistema radicular quando em solos com deficiência de nutrientes (LYNCH e HO, 2005; LYNCH, 2013). O melhoramento genético para raízes tem sido proposto como fator chave na “Segunda Revolução Verde” para aumento nas produtividades e na eficiência de utilização de nutrientes e água (MU et al., 2015). Para melhorar as estratégias de melhoramento de raiz é necessário conhecer as respostas das raízes a diferentes condições de estresse, determinar as características desejáveis e entender os mecanismos fisiológicos por trás das respostas destas (SUN et al., 2020). Entretanto, ao longo dos anos pouca atenção foi dada às raízes, não havia um programa específico para o melhoramento dessas. As raízes foram sendo melhoradas indiretamente por meio da seleção de genótipos resistentes ao acamamento. O progresso nas pesquisas sobre raízes é lento se comparado a características de parte aérea. Isso ocorre devido à dificuldade de acesso às raízes para pesquisa (SMITH e DE SMET, 2012). Outro fator que pode ter colaborado para isso, seria o fato de que a função das raízes na EUN não é facilmente caracterizada em campo (GARNETT et al., 2009). Geralmente, o sistema radicular pode ser simplificado, como a combinação de raízes axiais e laterais, enquanto a arquitetura da raiz é, principalmente, determinada pela distribuição das raízes axiais (CHUN et al., 2005).

Diversos estudos apontam várias alterações nas raízes que são consequência de uma maior eficiência na absorção de N. Chun et al. (2005), concluíram que o comprimento das raízes estava diretamente correlacionado com a absorção de N após o florescimento. Já em ambiente de hidroponia o crescimento da raiz estava correlacionado positivamente com absorção de N e biomassa de parte aérea (WANG et al., 2004; TIAN et al., 2006). Entretanto, Mu et al. (2015) acreditam que a complexa relação entre a alongação da raiz e da parte aérea indica que a correlação entre crescimento de raiz e absorção de nutrientes pode ser explicada pelo maior potencial de desenvolvimento da parte aérea. Nesse mesmo contexto, foi proposto por Mi et al. (2010) e Lynch, (2013), que um sistema radicular mais profundo seria ideal para capturar o

nitrato em maior profundidade no solo. Segundo Zhan e Lynch (2015), raízes laterais mais longas em detrimento de maior quantidade de raízes laterais proporcionou um aumento na absorção de N em ambiente com baixa disponibilidade do nutriente.

Yu et al. (2015) concluíram que a EUN está associada positivamente com a proporção de massa seca de raiz/parte aérea e massa seca de raiz. Também propuseram que uma raiz com maior comprimento e profunda com parâmetros arquitetônicos apropriados está relacionado com maior EUN na produção de milho. Segundo Abdel-Ghani et al. (2013), a seleção baseada em peso seco de raiz e comprimento de raiz seminal em milho pode aumentar a eficiência de seleção para produtividade de grãos. Para Quiao et al. (2019), alguns caracteres de raiz, como comprimento total de raiz e massa seca de parte aérea podem servir como potenciais parâmetros para futuros programas de melhoramento que visam desenvolver cultivares mais adaptadas a ambientes adversos.

Desse modo, para que se alcance altas produtividades aliado a um menor impacto nos custos de produção e no meio ambiente, faz-se necessário o desenvolvimento de genótipos melhorados com sistemas radiculares mais desenvolvidos e que sejam eficientes na absorção de nutrientes minerais, principalmente em solos com baixa disponibilidade de nutrientes (HIREL et al., 2001; GALLAIS e HIREL 2004; WORKU et al., 2007; RODRIGUES et al., 2017; TORRES et al., 2019). O aumento do uso e eficiência de N seria um componente importante em qualquer estratégia para reduzir as perdas de fertilizante nitrogenado na agricultura (GARNETT et al., 2009). Le Marié et al. (2019) acreditam que a seleção direta para cultivares com alta EUN em solos com baixo N, poderia ser uma estratégia de melhoramento para reduzir a aplicação de fertilizantes sem que haja perda na produtividade. Portanto, a partir do desenvolvimento de genótipos superiores em morfologia de raiz espera-se obter maiores produtividades com menores doses de N aplicadas, o que reduziria o custo e tornaria o processo mais sustentável.

2.3 Dialelos

Dialelo é definido como um delineamento genético no qual se obtém um conjunto de $p(p-1) / 2$ híbridos resultantes do cruzamento entre p genitores. Além dos genitores e dos híbridos F1, o dialelo também pode incluir os híbridos recíprocos e outras gerações relacionadas (GRIFFING, 1956). Os dialelos têm por objetivo principal, a avaliação dos parentais em cruzamento. Além disso, eles são utilizados em larga escala para se estudar a herança de algum caractere, estimar a capacidade de combinação entre um conjunto de genitores, estimar a

existência de efeitos recíprocos e para alocar linhagens em grupos heteróticos com base em estimativas de capacidade específica de combinação (CEC) (HALLAUER et al., 2010).

De acordo com Cockerham e Weir (1977), através das análises dialélicas é possível estimar os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC), efeito recíproco da CGC (RCGC) e efeito recíproco da CEC (RCEC). Assim, a CGC refere-se ao comportamento médio de um genitor em uma série de combinações híbridas, e está associado aos efeitos aditivos dos alelos (GRIFFING, 1956). Os valores de CGC são importantes no melhoramento, pois quantificam o potencial do genitor que será passado para as progênes. A CEC corresponde ao desvio do desempenho médio de uma combinação específica em relação à média dos genitores envolvidos no cruzamento (FALCONER e MACKAY, 1996). A CEC está diretamente relacionada aos desvios não aditivos, os desvios de dominância e epistasia. Para se obter um híbrido superior, a combinação mais favorável para população base deve ser aquela que apresentar alta CEC e que seja resultante de um cruzamento em que pelo menos um dos genitores apresente elevada CGC (CRUZ et al., 2012). Populações com alta diversidade genética possuem alta CEC, pois a heterose está relacionada com a divergência genética dos genitores envolvidos no cruzamento (FALCONER e MACKAY, 1996). Além dos efeitos de CGC e CEC, os efeitos dessas capacidades de combinação podem ser particionados em RCGC e RCEC, respectivamente. Segundo Cockerham e Weir (1977), o RCGC é definido como o efeito causado por genes extranucleares, enquanto a RCEC é o efeito causado pela interação dos genes do núcleo com os extranucleares. Os efeitos recíprocos têm grande impacto nas estimativas de CEC, e eliminação de cruzamentos importantes podem ocorrer quando se ignora os efeitos de RCGC e RCEC (YAO et al., 2013). Um outro ponto interessante do cálculo de RCEC e RCGC é que os efeitos dos componentes de variância de CEC e CGC ficam mais precisos, já que se retira os efeitos de RCGC e RCEC que estavam confundidos com os efeitos de CEC e CGC (MARÇAL et al., 2019).

Diversos trabalhos foram realizados visando a determinação da herança genética e capacidades de combinação através de cruzamentos dialélicos. São encontrados trabalhos realizados em nível de campo e em casa de vegetação. Makumbi et al. (2011) estimaram a capacidade de combinação de 15 linhagens em dialelos a campo. Eles encontraram, que em condições ótimas e em ambientes de seca, os efeitos aditivos para produtividade de grãos são mais importantes que os não aditivos. Porém, para o ambiente com estresse por N, não foi observada a mesma importância dos efeitos aditivos. Badu-Apraku et al. (2013) investigaram o controle genético de caracteres relacionados a condições de baixo N e concluíram que a CGC foi maior que CEC, indicando, portanto, para os caracteres avaliados, os efeitos aditivos são

mais importantes que os não aditivos na herança dos caracteres. Em outro trabalho com dialelo em campo, Guedes et al., (2014), encontraram maiores valores de CEC para produtividade de grãos, indicando maior importância dos efeitos não aditivos. Chun et al. (2005), em avaliações de linhagens em casa de vegetação, constatou maior importância dos efeitos aditivos para caracteres de raiz. Avaliando híbridos provenientes de um cruzamento dialélico juntamente com os seus parentais para caracteres agronômicos em ambientes contrastantes de N, Rodrigues (2019) observou que tanto os efeitos aditivos como os não aditivos são importantes para os caracteres que foram estudados.

Os resultados encontrados na literatura para milho para RCGC e RCEC são muito divergentes. Jumbo e Carena (2007) não identificaram efeito de RCGC e RCEC para caracteres agronômicos em milho. Por outro lado, Fan et al., (2014), ao estudar 66 híbridos F1 e os recíprocos destes, concluíram que a inclusão de cruzamentos recíprocos em um dialelo, impactaram grandemente na produtividade de grãos e as estimativas dos efeitos de CGC e CEC. As diferenças encontradas nos cruzamentos recíprocos são explicadas, em grande parte, pelo conteúdo citoplasmático como por exemplo as mitocôndrias e cloroplastos (ZHANG et al., 2016). Para Yao et al. (2013) em estudo com diversos métodos dialélicos de cruzamento, concluíram que os efeitos recíprocos e maternos são importantes para os melhoristas na seleção de linhagens para uso como parentais fêmeas e machos. O DNA não-nuclear presente nessas organelas é herdado somente de um dos pais, normalmente provenientes da mãe. A interação entre os genes nucleares e extranucleares faz com que haja significância para os efeitos recíprocos. Portanto, fica evidente que a herança e expressão de um caractere não é dependente somente dos efeitos gênicos, mas também do efeito recíproca, ou seja, a contribuição do genitor feminino para o genótipo dos descendentes. Se o efeito recíproco for significativo, tem-se diferença na escolha de qual genitor feminino deverá ser usado no cruzamento. Análises quantitativas do efeito recíproco é uma estratégia que pode aumentar a eficiência do melhoramento genético para EUN, uma vez que parâmetros fisiológicos podem estar relacionados com ela (DoVALE et al., 2011).

2.4 Objetivo geral

Estimar a capacidade de combinação efeito recíproco entre linhagens de milho tropical eficientes no uso de N para caracteres de morfologia de raiz em condições contrastantes de N.

2.4.1 Objetivos específicos

Quantificar a variação genotípica entre dez linhagens de milho tropical e entre seus híbridos e recíprocos para caracteres de raiz de morfologia de raiz em condições contrastantes de N.

Estimar as capacidades geral e específica de combinação, e os efeitos recíprocos entre dez linhagens de milho tropical para caracteres de morfologia de raiz em condições contrastantes de N.

Estudar a influência do efeito recíproco na estimativa de heterose entre linhagens de milho tropical para caracteres de raiz em condições contrastantes de N.

Estudar a influência da disponibilidade de N nas estimativas das capacidades geral e específicas de combinação e nos efeitos recíprocos de dez linhagens de milho tropical.

3 Material e Métodos

3.1 Material Genético

Foram utilizadas 10 linhagens endogâmicas de milho (VML004, VML009, VML016, VML017, VML020, VML022, VML028, VML033, VML051 e VML188), pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma do Programa Milho®, Programa de Melhoramento de Milho da Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Agronomia. Essas foram selecionadas com base no seu comportamento *per se* para eficiência no uso de N e seus componentes secundários, eficiência de absorção e de utilização de N em condições de campo (Tabela 1; Rodrigues et al., 2017). Além destas, também foram utilizados 90 híbridos experimentais F1, oriundos do cruzamento entre as 10 linhagens de milho em esquema de dialelo completo (híbridos e recíprocos).

Tabela 1. Descrição das dez linhagens de milho usadas para obtenção dos cruzamentos no dialelo.

Linhagem	Tipo de endosperma	Origem	Tipo de fonte
VML004	Duro	GM012	Pop. sintética ^{1/}
VML009	Dentado	GM020	Pop. sintética
VML016	Duro	GM022	Pop. sintética
VML017	Duro	BR106	Var. de pol. aberta
VML020	Duro	CMS28	Pop. base ampla
VML022	Semi-duro	GM035	Pop. sintética
VML028	Duro	GM007	Pop. sintética
VML033	Semi-dentado	GM011	Pop. sintética
VML051	Semi-dentado	GM022	Pop. sintética
VML188	Duro	CMS50	Pop. base ampla

^{1/}Populações provenientes de cruzamentos bi-parentais entre linhagens elites.

3.2 Implementação Experimental e Avaliação dos Genótipos

Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, localizada no Campo Experimental Diogo Alves de Mello, pertencente ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (latitude 20°46'S; longitude 42°52'W; 640 metros de altitude). Um experimento foi conduzindo considerando-se condição de alto N e o outro em baixo N disponível às plantas. Os experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos ao acaso com três repetições. As datas de plantio da primeira, segunda e terceira repetição foram em 7 de fevereiro, 27 de fevereiro e 11 de março de 2020, respectivamente. Cada unidade experimental foi constituída por um recipiente de polietileno com as seguintes dimensões: 0,10 m de diâmetro, 0,50 m de altura e volume de 4,0 dm³. Cada recipiente foi preenchido com substrato constituído por areia lavada e coada. Cada recipiente continha uma planta.

Dez dias após a semeadura, as plântulas foram adubadas com 0,3 dm³, por recipiente, de solução nutritiva em intervalos de dois dias. Nos dias em que não foi fornecida solução nutritiva, as plantas foram irrigadas com água deionizada, mantendo-se a umidade próxima da capacidade de campo. Foi utilizada solução nutritiva adaptada à descrita por Chun et al. (2005). A solução em alto nível de N continha (em mmol L⁻¹): 8,0 Ca(NO₃)₂, 3,0 K₂SO₄, 2,67 MgSO₄, 0,4KCl, 1,0 KH₂PO₄, 4x10⁻³ H₃BO₃, 4x10⁻³ MnSO₄, 4x10⁻⁴ CuSO₄, 4x10⁻³ ZnSO₄, 2x10⁻⁵ (NH₄)₆Mo₇O₂₄, e 0,08 Fe-EDTA. A solução que foi fornecida ao experimento de baixo N continha: 0,4 mmol L⁻¹ de Ca(NO₃)₂, ou seja, concentração de N vinte vezes menor que a da condição de alta disponibilidade de N. Além disso, a concentração de cálcio foi compensada pela adição de CaCl₂ na solução de baixo N. Para os demais nutrientes, a concentração foi igual à solução fornecida ao experimento de alto N.

As plantas foram coletadas no estágio vegetativo de quatro folhas completamente expandidas (V4), aproximadamente 20 dias após a emergência. No momento da coleta das plântulas, as raízes foram separadas da parte aérea, as plântulas foram cortadas ao nível do solo, sendo a parte aérea de cada linhagem acondicionada em sacos de papel e colocada em estufa de circulação forçada de ar a 70°C por 72 horas, e a parte radicular lavada e estocada em solução contendo água e álcool (3:1) para posterior análise de imagem.

Foram avaliados os seguintes caracteres: altura de planta (AP, cm), diâmetro do colmo (DC, mm), massa de raiz seca (MRS, g), massa da parte aérea seca (MPAS, g), massa total seca (MTS, g), relação raiz/parte aérea (RSR, g g⁻¹), comprimento radicular axial (CRA, cm), comprimento radicular lateral (CRL, cm), comprimento total radicular (CRT, cm), diâmetro radicular médio (DRM, mm), área superficial radicular (ASR, cm²), volume de raízes (VOL, cm³) e densidade do tecido radicular (DTR, g cm⁻³).

As raízes foram avaliadas utilizando-se o software WinRHIZO Pro 2009a (Basic, Reg, Pro & Arabidopsis for Root Measurement), acoplado ao scanner EPSON Perfetion V700/V750 equipado com luz adicional de acordo com os procedimentos sugeridos por Bouma et al. (2000). Para facilitar o processo de caracterização das linhagens, Trachsel et al. (2009), em trabalho realizado com milho, propuseram a simplificação das dez classes de diâmetro fornecidas pelo WinRHIZO Pro 2009a em apenas duas. Assim, fragmentos de raiz com diâmetro inferior a 0,5 mm são classificadas como raiz lateral e fragmentos com diâmetro superior a 0,5 mm como raiz axial. Após a avaliação do sistema radicular, as raízes foram secadas em estufa a 70°C por 72 horas para a obtenção da massa de raiz seca. Além da massa da parte aérea e raiz secas, também foram calculados a massa total seca, a razão raiz/arte aérea e a densidade do tecido radicular. A

densidade do tecido radicular foi obtida pela razão entre a massa de raiz seca pelo volume radicular (BIROUSTE et al., 2014).

3.3 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos às análises individuais (baixo N e alto N) e conjunta em duas etapas apresentadas nas próximas seções. Para uma melhor compreensão da herança dos caracteres de parte aérea e raiz sob baixo N, os efeitos genotípicos de híbridos e da interação híbridos por ambientes (H×N) foram desdobrados na análise dialélica. Assim, o efeito genotípico de híbridos foi decomposto em capacidade geral de combinação (CGC), capacidade específica de combinação (CEC), CGC recíproca (RCGC) e CEC recíproca (RCEC), enquanto o efeito da interação H×N foi decomposto em CGC×N, CEC×N, RCGC×N e RCEC×N.

As análises individuais, considerando os efeitos de RCGC e RCEC, foram realizadas a partir do modelo linear misto descrito por Marçal et al. (2019) adaptado de Cockerham e Weir (1977) para considerar o efeito *per se* dos parentais como sugerido por Möhring et al. (2011). Este modelo apresenta algumas vantagens quando comparado com o Método 1 de Griffing (parentais + híbridos F₁ e híbridos F₁ recíprocos), pois o segundo pode apresentar estimativas viesadas dos componentes de variância de CGC e CEC, devido a inclusão dos parentais nos efeitos de CGC e CEC (MÖHRING et al., 2011, MARÇAL et al., 2019) e/ou o confundimento dos efeitos de genes nucleares e extranucleares nos efeitos de CGC e CEC (COCKERHAM e WEIR, 1977). Cabe ressaltar, que a magnitude do viés nos efeitos de CGC e CEC é proporcional à diferença entre os parentais e os híbridos, fato que já é esperado na cultura do milho devido à heterose. Interessantemente, o problema do confundimento dos efeitos de genes nucleares e extranucleares nos efeitos de CGC e CEC é facilmente resolvido incluindo-se os efeitos de RCGC e RCEC no modelo de análise dialélica (COCKERHAM e WEIR, 1977; MARÇAL et al., 2019). A análise dialélica conjunta foi realizada por meio da expansão do modelo descrito por Marçal et al. (2019) para contabilizar os seguintes efeitos de interação: CGC×N, CEC×N, RCGC×N e RCEC×N.

Em todas as análises, os componentes de variância foram estimados pelo método de *residual maximum likelihood* (REML) proposto por Patterson e Thompson (1971). A estimação dos efeitos fixos e predição dos efeitos aleatórios foram obtidas por meio do sistema de equações de modelos mistos de acordo com Henderson et al. (1959). Para testar os componentes de variância foi utilizado o método *likelihood ratio test* (LRT) contrastando o modelo completo com os modelos reduzidos.

3.3.1 Análise individual

O modelo para as análises individuais é apresentado a seguir (Eq. [1]).

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\tau} + \mathbf{Z}_h\mathbf{u}_h + \mathbf{Z}_p\mathbf{u}_p + \mathbf{e} \quad [1]$$

em que \mathbf{y} é o vetor de observações fenotípicas; $\boldsymbol{\tau}$ é o vetor de efeitos fixos de repetições, média dos híbridos e média dos parentais; \mathbf{u}_h é o vetor de efeitos genotípicos aleatórios de híbridos, com $\mathbf{u}_h \sim N(0, s_h^2 \mathbf{I}_h)$; \mathbf{u}_p é o vetor de efeitos genotípicos aleatórios dos parentais, com $\mathbf{u}_p \sim N(0, s_p^2 \mathbf{I}_p)$; \mathbf{e} é o vetor de erros aleatórios, com $\mathbf{e} \sim N(0, s_e^2 \mathbf{I}_n)$; \mathbf{X} , \mathbf{Z}_h e \mathbf{Z}_p são as matrizes de incidência associadas aos vetores de efeitos $\boldsymbol{\tau}$, \mathbf{u}_h e \mathbf{u}_p .

Para a realização da análise dialélica, a parte da Eq. [1] referente ao efeito de híbridos ($\mathbf{Z}_h\mathbf{u}_h$) foi expandida como pode ser observado na Eq. [2].

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\tau} + \mathbf{Z}_g\mathbf{u}_g + \mathbf{Z}_d\mathbf{u}_d + \mathbf{Z}_s\mathbf{u}_s + \mathbf{Z}_r\mathbf{u}_r + \mathbf{Z}_p\mathbf{u}_p + \mathbf{e} \quad [2]$$

em que \mathbf{u}_g é o vetor de efeitos aleatórios de CGC, com $\mathbf{u}_g \sim N(0, s_g^2 \mathbf{I}_g)$; \mathbf{u}_d é o vetor de efeitos aleatórios de RCGC, com $\mathbf{u}_d \sim N(0, s_d^2 \mathbf{I}_d)$; \mathbf{u}_s é o vetor de efeitos aleatórios de CEC, com $\mathbf{u}_s \sim N(0, s_s^2 \mathbf{I}_s)$; \mathbf{u}_r é o vetor de efeitos aleatórios de RCEC, com $\mathbf{u}_r \sim N(0, s_r^2 \mathbf{I}_r)$; \mathbf{Z}_g , \mathbf{Z}_d , \mathbf{Z}_s e \mathbf{Z}_r são as matrizes de incidência associadas aos vetores de efeitos \mathbf{u}_g , \mathbf{u}_d , \mathbf{u}_s e \mathbf{u}_r .

3.3.2 Análise Conjunta

O modelo para análise conjunta é apresentado a seguir (Eq. [3]).

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\tau} + \mathbf{Z}_h\mathbf{u}_h + \mathbf{Z}_{he}\mathbf{u}_{he} + \mathbf{Z}_p\mathbf{u}_p + \mathbf{Z}_{pe}\mathbf{u}_{pe} + \mathbf{e} \quad [3]$$

em que \mathbf{y} é o vetor de observações fenotípicas dos experimentos em alto e baixo N; $\boldsymbol{\tau}$ é o vetor de efeitos fixos de repetições dentro de ambientes (alto N e baixo N), média dos híbridos dentro de ambientes e média dos parentais dentro de ambientes; \mathbf{u}_h é o vetor de efeitos genotípicos aleatórios de híbridos, com $\mathbf{u}_h \sim N(0, s_h^2 \mathbf{I}_h)$; \mathbf{u}_{he} é o vetor de efeitos aleatórios da interação H×N, com $\mathbf{u}_{he} \sim N(0, s_{he}^2 \mathbf{I}_{he})$; \mathbf{u}_p é o vetor de efeitos genotípicos aleatórios dos parentais, com $\mathbf{u}_p \sim N(0, s_p^2 \mathbf{I}_p)$; \mathbf{u}_{pe} é o vetor de efeitos aleatórios da interação parentais por ambientes, com $\mathbf{u}_{pe} \sim N(0, s_{pe}^2 \mathbf{I}_{pe})$; \mathbf{e} é o vetor de erros aleatórios, com $\mathbf{e} \sim N(0, s_e^2 \mathbf{I}_n)$; \mathbf{X} , \mathbf{Z}_h , \mathbf{Z}_{he} , \mathbf{Z}_p e \mathbf{Z}_{pe} são as matrizes de incidência associadas aos vetores de efeitos $\boldsymbol{\tau}$, \mathbf{u}_h , \mathbf{u}_{he} , \mathbf{u}_p e \mathbf{u}_{pe} .

Para a realização análise dialélica conjunta, tanto a parte da Eq. [3] referente aos efeitos de híbridos ($\mathbf{Z}_h\mathbf{u}_h$) e quanto a parte da Eq. [3] referente interação (H×N) foram expandidas como pode ser observado na Eq. [4].

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\tau} + \mathbf{Z}_g\mathbf{u}_g + \mathbf{Z}_d\mathbf{u}_d + \mathbf{Z}_s\mathbf{u}_s + \mathbf{Z}_r\mathbf{u}_r + \mathbf{Z}_p\mathbf{u}_p + \mathbf{Z}_{ge}\mathbf{u}_{ge} + \mathbf{Z}_{de}\mathbf{u}_{de} + \mathbf{Z}_{se}\mathbf{u}_{se} + \mathbf{Z}_{re}\mathbf{u}_{re} + \mathbf{Z}_{pe}\mathbf{u}_{pe} + \mathbf{e} \quad [4]$$

em que \mathbf{u}_g é o vetor de efeitos aleatórios de CGC, com $\mathbf{u}_g \sim N(0, s_g^2 \mathbf{I}_g)$; \mathbf{u}_d é o vetor de efeitos aleatórios de RCGC, com $\mathbf{u}_d \sim N(0, s_d^2 \mathbf{I}_d)$; \mathbf{u}_s é o vetor de efeitos aleatórios de CEC, com $\mathbf{u}_s \sim N(0, s_s^2 \mathbf{I}_s)$; \mathbf{u}_r é o vetor de efeitos aleatórios de RCEC, com $\mathbf{u}_r \sim N(0, s_r^2 \mathbf{I}_r)$; \mathbf{u}_{ge} é o vetor de efeitos aleatórios da interação CGC×N, com $\mathbf{u}_{ge} \sim N(0, s_{ge}^2 \mathbf{I}_{ge})$; \mathbf{u}_{de} é o vetor de efeitos aleatórios da interação RCGC×N, com $\mathbf{u}_{de} \sim N(0, s_{de}^2 \mathbf{I}_{de})$; \mathbf{u}_{se} é o vetor de efeitos aleatórios da interação CEC×N, com $\mathbf{u}_{se} \sim N(0, s_{se}^2 \mathbf{I}_{se})$; \mathbf{u}_{re} é o vetor de efeitos aleatórios da interação RCEC×N, com $\mathbf{u}_{re} \sim N(0, s_{re}^2 \mathbf{I}_{re})$; $\mathbf{Z}_g, \mathbf{Z}_d, \mathbf{Z}_s, \mathbf{Z}_r, \mathbf{Z}_{ge}, \mathbf{Z}_{de}, \mathbf{Z}_{se}$ e \mathbf{Z}_{re} são as matrizes de incidência associadas aos vetores de efeitos $\mathbf{u}_g, \mathbf{u}_d, \mathbf{u}_s, \mathbf{u}_r, \mathbf{u}_{ge}, \mathbf{u}_{de}, \mathbf{u}_{se}$ e \mathbf{u}_{re} .

Para inferir sobre a importância e tipo das interações (H×N, CGC×N, CEC×N, RCGC×N e RCEC×N), foram estimadas as correlações genéticas entre ambientes de acordo com Smith (1999) para o modelo de simetria composta pela estrutura de (co)variância que modela os efeitos genotípicos nas análises conjuntas.

Em ambos os níveis de N, foi estimada a matriz dos coeficientes de correlação de Pearson entre efeito de CGC dos caracteres avaliados, e também foi estimada a correlação de Spearman entre ambientes para cada caractere. Também foi estimado o coeficiente de correlação de Pearson entre a heterose média das linhagens parentais utilizadas como machos e as linhagens parentais utilizadas como fêmeas, entre RCGC e a heterose média das 10 linhagens parentais utilizadas como machos e entre RCGC e a heterose média das 10 linhagens parentais utilizadas como fêmeas.

A importância dos efeitos aditivos envolvidos no controle genético dos caracteres avaliados, foram determinados pela estatística Θ , determinada por:

$$\Theta = \frac{\delta^2 gl}{\delta^2 gl + \delta^2 gh + \delta^2} \text{ para linhagens, } \frac{\delta^2 gh}{\delta^2 gl + \delta^2 gh + \delta^2} \text{ para híbridos e } \frac{\delta^2}{\delta^2 gl + \delta^2 gh + \delta^2} \text{ para o}$$

resíduo, de acordo com Baker (1978). Dessa forma foi possível obter a importância de cada componente para a variância fenotípica.

4 Resultados

4.1 Amplitude, média dos valores genotípicos e importância relativa dos componentes de variância

Em ambos os níveis de N, houve uma considerável amplitude dos valores genotípicos para todos os caracteres avaliados nos pais e nos híbridos (Tabela 2). Em geral, houve uma maior variação para os híbridos em AN. Em BN, MRS variou de 120 a 360 mg e 70 a 520mg para pais e híbridos, respectivamente. No ambiente de AN o caractere MRS também apresentou grande variação, sendo ela de 0,08 a 0,45 para pais e 0,04 a 0,67 para híbridos. O caractere CRT apresentou grande variação para híbridos em AN, variando de 121,95cm a 3369,91cm. A diferença na disponibilidade de N ocasionou redução na média do valor genotípico da maioria dos caracteres, exceto MRS, RSR, CRA, para pais e híbridos, e CRT para híbrido e DTR para pais. Para esses caracteres, a falta de N resultou em aumento das médias: MRS (5,26% e 3,45%), RSR (68,58% e 61,76%), CRA (2,72% e 2,26%) para pais e híbridos, respectivamente. Os valores de coeficiente de variação (CV) variaram de 6,19% (DRM) a 36,79% (VOL) e de 7,33% (DRM) a 33,57% (VOL) em BN e AN, respectivamente. A maioria dos caracteres demonstrou valores de CV de intermediário para baixo, a exceção de MRS, CRL e VOL, em ambos níveis de N, e CRT e ASR, em BN, e RSR, em AN, que apresentaram valores altos (>28%) de CV. Os valores de CV foram ligeiramente maiores em BN do que em AN para maioria dos caracteres, a exceção de RSR, DRM e DTR, que demonstraram valores de CV maiores em AN do que em BN.

Tabela 2. Valores genotípicos mínimo, média e máximo, e coeficiente de variação de 13 caracteres de raiz e parte área mensurados em dez linhagens endogâmicas, 45 híbridos F1 e 45 recíprocos, derivados dos cruzamentos dessas linhagens, avaliados em baixo e alto nitrogênio.

Caracteres ^{1/}	Baixo nitrogênio							Alto nitrogênio							% redução da média país ^{3/}	% redução da média híbridos		
	País			Híbridos				CV% ^{2/}	País			Híbridos					CV%	
	Mín.	Média	Máx.	Mín.	Média	Máx.	Mín.		Média	Máx.	Mín.	Média	Máx.					
AP (cm)	3,60	6,12	8,50	4,71	6,84	9,03	16,56	5,00	7,73	11,00	2,99	8,31	12,59	13,40	-20,83	-17,69		
DC (mm)	3,00	4,29	6,30	4,00	5,12	7,47	16,74	4,80	5,70	7,70	4,54	6,20	9,31	11,32	-24,74	-17,42		
MRS (mg)	120,00	200,00	360,00	70,00	300,00	520,00	33,87	80,00	190,00	450,00	40,00	290,00	670,00	32,28	5,26	3,45		
MPAS (mg)	100,00	210,00	370,00	440,00	270,00	960,00	24,30	150,00	330,00	740,00	120,00	440,00	990,00	22,57	-35,66	-38,64		
MTS (mg)	230,00	390,00	680,00	200,00	560,00	1.010,00	25,44	230,00	520,00	1.160,00	130,00	730,00	1.450,00	21,31	-25,00	-23,29		
RSR (g g ⁻¹)	0,56	1,03	1,83	0,45	1,10	1,71	23,51	0,35	0,61	1,25	0,35	0,68	1,28	28,80	68,85	61,76		
CRL (cm)	463,27	871,86	1.474,79	348,07	1.362,04	2.349,06	31,68	295,44	916,42	1.997,84	373,73	1.332,90	2.639,84	27,28	-4,86	2,19		
CRA (cm)	250,64	388,94	565,84	240,36	583,94	987,22	25,90	207,55	378,63	697,84	117,72	571,02	988,77	22,59	2,72	2,26		
CRT (cm)	713,90	1.261,11	1.975,75	608,99	1.946,63	3.291,46	28,43	507,14	1.295,46	2.654,39	121,95	1.904,46	3.369,91	24,04	-2,65	2,21		
DRM (mm)	0,42	0,50	0,61	0,38	0,51	0,65	6,19	0,43	0,52	0,67	0,40	0,53	0,66	7,33	-3,85	-3,50		
ASR (cm ²)	122,59	196,94	325,67	113,98	312,30	538,86	28,23	84,03	203,18	405,99	49,41	316,14	515,28	23,41	-3,07	-1,21		
VOL (cm ³)	1,97	3,64	7,24	1,69	6,28	12,69	36,79	1,41	3,85	8,47	1,44	6,94	14,92	33,57	-5,45	-9,51		
DTR (g cm ⁻³)	0,05	0,08	0,11	0,05	0,07	0,11	12,71	0,05	0,07	0,10	0,04	0,07	0,10	13,06	4,50	-5,41		

^{1/} AP, altura de planta; DC diâmetro de colmo; MRS, massa de raiz seca; MPAS massa de parte aérea seca; MTS massa total seca; RSR, relação raiz/parte aérea; CRL, comprimento radicular lateral; CRA, comprimento radicular axial; CRT, comprimento radicular total; DRM, diâmetro radicular médio; ASR, área superficial radicular; VOL, volume radicular; DTR densidade do tecido radicular. ^{2/} CV (%): coeficiente de variação residual, calculado em porcentagem, dividindo-se o desvio-padrão da variância residual pela média fenotípica de cada caractere. ^{3/} % redução da média = $[(\overline{BN} - \overline{AN})/\overline{AN}] \times 100\%$. \overline{AN} e \overline{BN} são as médias genotípicas nos ambientes de alto e baixo N, respectivamente.

Em AN, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre linhagens para maioria dos caracteres, a exceção de RSR (Tabela 3 e Material suplementar). Entretanto, a deficiência de N influenciou a manifestação da variação genotípica, e, em BN, houve diferença significativa entre as linhagens apenas para MPAS, MTS, DRM e DTR. Em relação aos híbridos, houve diferença significativa ($P < 0,05$) para todos os caracteres, com exceção de CRL em BN. O resíduo variou de 32,20 (DRM) a 69,58 (RSR) e 26,82 (CRL) a 70,91 (RSR) em BN e AN, respectivamente. Em BN, os híbridos apresentaram maior importância relativa para a variância fenotípica do que as linhagens para maioria dos caracteres, a exceção de MPAS, CRL, DRM e DTR, enquanto que, em AN, a contribuição para a variância fenotípica das linhagens foi maior do que a contribuição dos híbridos, a exceção de VOL.

A razão $>QMR / <QMR$ apresentou valores de baixa magnitude para todos os caracteres e, portanto, há homogeneidade entre as variâncias residuais e pode-se realizar análise combinada dos dois níveis de N (Tabela 3). Não houve interação genótipos \times níveis de N ($P > 0,05$) para maioria dos caracteres, com exceção de AP e DTR (linhagens \times N), RSR (híbridos \times N) e MPAS (linhagens/híbridos \times N). Na análise conjunta o resíduo variou de 31,58 (MPAS) a 70,00 (RSR). No geral, para a maioria dos caracteres, as linhagens contribuíram mais para a variação fenotípica. As estimativas de correlações genéticas entre os níveis de N foram positivas e foram maiores para híbridos do que para linhagens. Elas variaram de 0,06 a 1,00 e de 0,43 a 1,00, para linhagens e híbridos, respectivamente. O caractere DRM apresentou menores estimativas para linhagens e híbridos. No geral, as correlações foram de média a alta magnitude, a exceção de RSR e DRM para linhagens.

Tabela 3. Importância relativa dos componentes de variância para a variação fenotípica e do resíduo de 13 caracteres de raiz e parte área mensurados em dez linhagens endogâmicas, 45 híbridos F1 e 45 recíprocos, derivados dos cruzamentos dessas linhagens, avaliados em baixo e alto nitrogênio.

Caracteres	Baixo N			Alto N			>QMR/<QMR	Análise Conjunta					Correlações Genéticas (N+/N-)	
	Linhagens	Híbridos	Resíduo	Linhagens	Híbridos	Resíduo		Linhagens	Híbridos	Linhagens × N	Híbridos × N	Resíduo	Linhagens	Híbridos
AP ^{1/}	19,31	28,14**	52,55	40,90**	25,51**	33,58	1,20	16,57	24,05**	17,12*	2,91	39,35	0,49	0,89
DC	21,50	21,68**	56,82	39,27**	21,71**	39,02	1,35	34,91**	21,15**	5,92E-06	1,17E-05	43,93	1,00	1,00
MRS	18,94	26,95**	54,11	26,62*	20,46**	52,92	1,20	22,17*	16,59**	5,54E-06	19,06	42,18	1,00	0,47
MPAS	26,65*	23,62**	49,73	48,24**	23,59**	28,17	2,67	22,60	17,60**	22,11**	6,12**	31,58	0,51	0,74
MTS	26,26*	27,36**	46,38	49,77**	22,58**	27,65	1,64	31,37	22,29**	11,66	1,23	33,44	0,73	0,95
RSR	9,97	20,45**	69,58	18,07	11,02**	70,91	1,80	4,13	7,35	8,72	9,80*	70,00	0,32	0,43
CRL	26,99	24,64	48,37	52,92**	20,26**	26,82	1,06	37,66*	23,17**	5,37	4,43E-06	33,80	0,88	1,00
CRA	10,87	26,89**	62,24	33,17**	22,85**	43,98	1,09	26,16*	24,43**	6,59E-06	1,78E-05	49,41	1,00	1,00
CRT	22,92	23,75**	53,33	50,24**	20,95**	28,81	1,14	37,13*	23,47**	2,64	4,81E-06	36,75	0,93	1,00
DRM	35,75**	32,05**	32,20	45,39**	16,58**	38,03	1,55	0,46*	22,85**	7,49	33,80	35,40	0,06	0,40
ASR	14,84	26,83**	58,33	41,56**	23,03**	35,41	1,10	31,70**	25,43**	9,13E-06	2,41E-05	42,88	1,00	1,00
VOL	10,41	33,11**	56,48	22,24*	27,48**	50,28	1,32	20,89*	28,80**	6,70E-06	0,12	50,19	1,00	1,00
DTR	42,61**	9,36**	48,03	42,18**	18,49**	39,33	1,02	18,52	14,93**	23,72*	3,06E-05	42,83	0,44	1,00

^{1/} AP (cm), altura de planta; DC (mm) diâmetro de colmo; MRS (g), massa de raiz seca; MPAS (g) massa de parte aérea seca; MTS (g) massa total seca; RSR (g g⁻¹), relação raiz/parte aérea; CRL (cm), comprimento radicular lateral; CRA (cm), comprimento radicular axial; CRT (cm), comprimento radicular total; DRM (mm), diâmetro radicular médio; ASR cm², área superficial radicular; VOL (cm³), volume radicular; DTR (g cm³) densidade do tecido radicular. ^{2/} * e ** sig. a 5 e 1% de probabilidade pelo teste de razão de verossimilhança.

4.2 Estimativas de Componentes de Variância da Capacidade de Combinação

Os componentes de variância de CGC foram significativos ($P < 0,05$) para quase todos os caracteres, a exceção de RSR em ambos os níveis de N e CRA em BN (Tabela 4). Em relação a CEC, houve significância ($P < 0,05$) em BN para os caracteres MRS, MTS, RSR, CRA, DRM e VOL, e, AN, para MPAS, MTS, CRA, ASR e VOL. Em geral os componentes de variância de CGC tiveram maior importância relativa para a variação fenotípica para quase todos os caracteres, a exceção de RSR, CRA e VOL em ambos os níveis de N e MRS em BN. Para os componentes de variância dos recíprocos, houve significância ($P < 0,05$) de RCGC para caracteres MRS, MPAS, MTS, CRA, ASR e VOL em ambos os níveis de N (Tabela 4). Além disso, houve efeito de RCGC para CRT em BN. Para o componente de variância recíproco RCEC não houve diferenças significativas para nenhum caractere.

As proporções entre os componentes de variância mostraram que os caracteres em que a RCGC teve menor participação na composição de CGC são AP e DTR (Tabela 5). Além disso, em AN, o caractere CRL apresentou baixa proporção de RCGC em CGC. Em BN, a porcentagem da CGC que corresponde à RCGC é maior quando comparada ao AN. Os caracteres que apresentam maior proporção de RCGC em CGC são MRS, MTS e VOL para ambos os níveis de N. Além disso, ASR em BN e CRA em AN. As proporções variaram de 87,76% (VOL) a 0% (DTR), em BN, e 64,96% (VOL) a 0% (DTR), em AN. No geral as proporções de RCEC dentro de CEC variaram de 11,60% (RSR) a 54,89% (MTS) em BN e 40,76% (VOL) a 83,42% (ASR). A proporção de CEC com relação ao total (CEC+CGC) variou muito em ambos os níveis de N e, em geral, elas foram maiores em BN. Em BN, os valores variaram de 0% (CRL) a 91,56% (RSR), enquanto, em AN, de 1,80% (DC) a 61,04% (VOL).

Houve significância para a interação de CGC x N somente para os caracteres AP, MPAS e MTS (Tabela 6). A significância para interação de RCGC x N só ocorreu para RSR. Na interação de CEC x N os caracteres AP e MPAS foram significativos. Não houve significância para a interação de RCEC x N.

Tabela 4. Importância relativa dos componentes de variância dos efeitos de CGC, RCGC, CEC, RCEC e do resíduo para a variação fenotípica em 13 caracteres de raiz e parte aérea mensurados em dez linhagens endogâmicas, 45 híbridos F₁ e 45 recíprocos, derivados dos cruzamentos dessas linhagens, avaliados em baixo e alto nitrogênio.

Caracteres	Efeitos Dialelo Baixo N					Efeitos Dialelo Alto N				
	CGC	RCGC	CEC	RCEC	Resíduo	CGC	RCGC	CEC	RCEC	Resíduo
AP	22,25**	0,46	5,74	2,72E-05	71,30	28,79**	0,39	4,28	5,75E-05	66,54
DC	14,72**	0,53	6,01	0,17	78,57	19,39**	2,00	0,36	4,77	73,48
MRS	7,49*	3,10*	13,84**	3,31	72,26	8,56**	2,82*	8,03	3,60	76,99
MPAS	12,18**	3,87**	7,01	3,16	73,78	18,63**	3,12*	10,72**	5,14	62,39
MTS	10,77**	4,36**	8,84*	4,85	71,18	17,18**	4,32**	9,43*	5,13	63,94
RSR	1,68	0,00	18,17**	2,11	78,04	2,54	0,11	7,16	2,00	88,19
CRL	23,66**	1,64	9,84E-06	1,43E-05	64,86	26,62**	3,06E-01	1,77	4,20	67,10
CRA	3,85	4,15**	12,49**	5,15	74,36	10,44**	2,79*	10,63*	4,49	71,65
CRT	18,36**	2,57*	6,53E-05	0,89	78,18	23,77**	0,98	2,87	4,98	67,40
DRM	24,78**	1,13	13,35**	1,88	58,86	16,43**	1,66	4,15	7,35E-06	77,60
ASR	8,73**	4,39**	7,40	4,18	75,30	14,56**	3,25*	7,72*	6,44	68,03
VOL	5,64*	4,95**	14,27**	6,43	68,71	7,58**	4,92**	11,87**	4,84	70,79
DTR	11,12**	1,15E-05	1,80	6,31E-05	87,08	18,28**	9,83E-06	7,06	6,72E-05	74,69

^{1/} AP (cm), altura de planta; DC (mm) diâmetro de colmo; MRS (g), massa de raiz seca; MPAS (g) massa de parte aérea seca; MTS (g) massa total seca; RSR (g g⁻¹), relação raiz/parte aérea; CRL (cm), comprimento radicular lateral; CRA (cm), comprimento radicular axial; CRT (cm), comprimento radicular total; DRM (mm), diâmetro radicular médio; ASR cm², área superficial radicular; VOL (cm³), volume radicular; DTR (g cm³) densidade do tecido radicular. ^{2/} * e ** sig. a 5 e 1% de probabilidade pelo teste de máxima verossimilhança.

Tabela 5. Proporção entre os componentes de variância dos efeitos de RCGC/CGC, RCEC/CEC e CEC/(CGC+CEC) para 13 caracteres de raiz e parte área mensurados em dez linhagens endogâmicas, 45 híbridos F1 e 45 recíprocos, derivados dos cruzamentos dessas linhagens (%), avaliados em baixo e alto nitrogênio.

Caracteres ^{1/}	Baixo N			Alto N		
	RCGC/CGC	RCEC/CEC	CEC/ (CGC + CEC)	RCGC/CGC	RCEC/CEC	CEC/ (CGC + CEC)
AP (cm)	2,05	100,00	20,50	1,34	100,00	12,95
DC (mm)	3,59	100,00	28,99	10,32	100,00	1,80
MRS (g)	41,36	23,91	64,90	33,01	100,00	48,39
MPAS (g)	31,82	100,00	36,53	16,76	47,96	36,53
MTS (g)	40,53	54,89	45,08	25,15	54,44	35,43
RSR (g g ⁻¹)	100,00	11,60	91,56	100,00	100,00	100,00
CRL (cm)	6,92	100,00	0,00	1,15	100,00	6,24
CRA (cm)	100,00	41,19	76,43	26,78	42,24	50,46
CRT (cm)	14,01	100,00	0,00	4,13	100,00	10,76
DRM (mm)	4,54	14,05	35,01	10,12	100,00	20,15
ASR (cm ²)	50,25	100,00	45,85	22,32	83,42	34,65
VOL (cm ³)	87,76	45,06	71,67	64,93	40,76	61,04
DTR (g cm ⁻³)	0,00	100,00	13,95	0,00	100,00	27,87

^{1/} AP, altura de planta; DC diâmetro de colmo; MRS, massa de raiz seca; MPAS massa de parte aérea seca; MTS massa total seca; RSR, relação raiz/parte aérea; CRL, comprimento radicular lateral; CRA, comprimento radicular axial; CRT, comprimento radicular total; DRM, diâmetro radicular médio; ASR, área superficial radicular; VOL, volume radicular; DTR densidade do tecido radicular.

Tabela 6. Importância relativa dos componentes de variância dos efeitos de CGC, RCGC, CEC, RCEC ,interação CGC x níveis de N, interação RCGC x níveis de N, interação de CEC x níveis de N, interação de RCEC x níveis de N e resíduo para a variação fenotípica em 13 caracteres avaliados de raiz e parte área mensurados em dez linhagens endogâmicas, 45 híbridos F1 e 45 recíprocos, derivados dos cruzamento dessas linhagens, avaliados em baixo e alto nitrogênio.

Caracteres ^{1/}	Efeitos Dialelo				Interações				Resíduo
	CGC	RCGC	CEC	RCEC	CGC × N	RCGC × N	CEC × N	RCEC × N	
AP (cm)	22,94**	0,71	2,39	8,97E-06	3,12*	8,97E-06	2,73*	1,01E-05	68,10
DC (mm)	15,52**	1,56*	5,42*	1,38	1,16	9,82E-06	3,46E-05	0,36	74,59
MRS (g)	7,61**	3,33**	8,32*	1,80	0,50	9,85E-06	2,72	0,96	74,76
MPAS (g)	11,88*	3,22**	9,50**	1,45	5,33**	0,09	0,45**	3,12	64,96
MTS (g)	11,95*	4,69**	11,07**	3,38	2,78**	8,57E-06	8,57E-06	1,01	65,11
RSR (g g ⁻¹)	2,60	1,08E-05	5,83	4,45E-05	1,08E-05	1,2E-05*	7,72	2,16	81,69
CRL (cm)	25,38**	1,14	1,03	2,42	9,22E-06	9,22E-06	9,22E-06	6,36E-05	70,03
CRA (cm)	6,50*	4,06**	12,68**	3,70	0,59	9,50E-06	5,30E-05	0,34	72,13
CRT (cm)	21,17**	2,06	2,87	3,17	9,31E-06	9,31E-06	9,31E-06	5,15E-06	70,73
DRM (mm)	18,52**	1,52*	9,14**	0,69	1,60	9,02E-06	4,88E-05	8,05E-06	68,52
ASR (cm ²)	11,42**	4,31**	9,00**	5,09*	0,16	9,22E-06	3,24E-05	9,59E-06	70,02
VOL (cm ³)	5,47*	5,34**	13,68**	5,34*	1,21	9,08E-06	6,35E-05	1,26E-05	68,96
DTR (g cm ⁻³)	14,48*	1,06E-05	4,79	0,02	0,33	1,06E-05	1,96E-05	6,28E-05	80,37

^{1/} AP, altura de planta; DC diâmetro de colmo; MRS, massa de raiz seca; MPAS massa de parte aérea seca; MTS massa total seca; RSR, relação raiz/parte aérea; CRL, comprimento radicular lateral; CRA, comprimento radicular axial; CRT, comprimento radicular total; DRM, diâmetro radicular médio; ASR, área superficial radicular; VOL, volume radicular; DTR densidade do tecido radicular. ^{2/} * e ** sig. a 5 e 1% de probabilidade pelo teste de máxima verossimilhança).

4.3 Efeito de Capacidade Geral de Combinação

Em geral, as linhagens que mais se destacaram, com efeitos positivos de CGC, foram VML016 e VML022 em ambos os níveis de N (Tabela 7). A linhagem VML016 teve efeito negativo somente para o caractere DRM. Outra linhagem que se destacou em BN foi a VML033, onde ela teve estimativa negativa para CGC somente para os caracteres DC e DTR. Mas, em AN, ela apresentou efeito negativo para maioria dos caracteres. A linhagem VML004 apresentou comportamento similar, porém contrário, em baixo N, com CGC negativa para todos os caracteres, exceto DC e DTR. Em AN os valores, para a linhagem VML004 foram em geral positivos a exceção de CRL, CRA, CRT, ASR e VOL. Por outro lado, as linhagens VML017 e VML028 apresentaram efeito de CGC negativo para todos os caracteres, em BN. O mesmo aconteceu para a VML017 em AN, com exceção do caractere DTR. Em AN a linhagem VML028 apresentou efeito positivo para os caracteres CRL, CRA, CRT e ASR. Em relação a RCGC, as linhagens VML004, VML017, VML020 e VML028 se destacaram com estimativas positivas para todos os caracteres em BN e AN (Tabela 8). No sentido contrário, as linhagens VML022 e VML188 apresentaram efeito negativo para todos os caracteres em ambos os níveis.

As estimativas de correlações de Spearman entre os níveis de N foram positivas, significativas ($P < 0,05$) e de alta magnitude (Figura 1). A maioria das estimativas das correlações de Pearson foram de baixa magnitude e não significativas em ambos os níveis de N. Os caracteres mais importantes que apresentaram correlações maiores ($> 0,70$) e positivas em AN foram VOL x MRS (0,77), ASR x CRT (0,95), ASR x VOL (0,80), MPAS x AP (0,73), MTS x VOL (0,72) e CRA x VOL (0,81). Em BN, os caracteres que se destacaram por apresentar estimativa de correlação positiva e significativa foram VOL x MPAS (0,76), VOL x MTS (0,92), ASR x VOL (0,80) e CRT x ASR (0,91). Os caracteres CRL x DMR (-0,82 em BN e -0,84 em AN) e CRT x DMR (-0,76 em BN e -0,79 em AN) apresentaram correlações significativas, porém, negativas nos dois níveis de N. O caractere MPAS de parte aérea e MRS de raiz tiveram correlação significativa e positiva em AN (0,67) e BN (0,74).

Tabela 7. Estimativas de capacidade geral de combinação (CGC) de dez linhagens genitoras de milho para caracteres de raiz e parte aérea em baixo e alto nitrogênio

Linhagens	AP	DC	MRS	MPAS	MTS	CRL	CRA	CRT	DRM	ASR	VOL	DTR
Baixo N												
VML004	-2,38E-02	0,16	-1,33E-02	-7,91E-03	-2,21E-02	-166,30	-	-202,69	6,77E-03	-25,43	-0,42	2,31E-03
VML009	-8,49E-01	0,48	2,59E-03	-6,69E-03	-7,23E-03	-120,91	-	-153,51	1,48E-02	-14,06	-0,01	2,82E-03
VML016	2,53E-01	0,33	8,43E-03	1,90E-02	2,41E-02	280,16	-	299,82	-4,05E-02	18,02	0,04	3,36E-03
VML017	-3,60E-01	-0,11	-8,21E-03	-1,76E-02	-2,54E-02	-3,33	-	-18,53	-8,25E-03	-6,17	-0,18	-6,87E-04
VML020	4,67E-01	-0,36	-6,73E-03	-1,50E-02	-2,14E-02	-181,84	-	-201,16	2,13E-02	-16,65	-0,13	-5,05E-04
VML022	6,71E-02	0,01	3,68E-02	1,99E-02	6,26E-02	126,55	-	153,38	3,83E-03	24,37	0,55	3,90E-03
VML028	-5,13E-01	-0,09	-2,58E-02	-1,97E-02	-4,80E-02	-32,04	-	-44,41	-5,30E-03	-8,10	-0,33	-5,26E-03
VML033	2,49E-01	-0,31	2,14E-02	9,89E-03	3,53E-02	116,82	-	168,09	2,86E-03	25,87	0,46	-2,51E-04
VML051	-2,49E-01	-0,45	-1,98E-02	-1,58E-02	-3,70E-02	98,68	-	99,00	-1,92E-02	3,66	-0,22	-4,65E-03
VML188	9,58E-01	0,34	4,62E-03	3,40E-02	3,91E-02	-117,79	-	-100,00	2,36E-02	-1,50	0,23	-1,03E-03
Alto N												
VML004	2,53E-03	0,13	4,88E-03	1,36E-02	1,92E-02	-147,62	-26,99	-177,96	7,09E-03	-23,54	-0,30	5,36E-03
VML009	-1,58E+00	0,42	-1,03E-02	-4,50E-02	-5,67E-02	-151,41	-61,15	-222,25	6,71E-03	-32,10	-0,46	4,00E-03
VML016	6,35E-01	0,51	1,29E-02	6,43E-02	7,88E-02	323,54	36,42	362,43	-3,72E-02	30,50	0,22	2,41E-03
VML017	-2,53E-01	-0,26	-1,73E-02	-3,24E-02	-5,21E-02	-93,49	-30,40	-128,56	-3,60E-03	-21,18	-0,52	1,39E-04
VML020	8,26E-02	-0,59	2,97E-03	-5,32E-02	-4,96E-02	-211,49	-19,80	-232,62	2,95E-02	-19,16	-0,13	3,93E-04
VML022	4,63E-01	0,11	5,55E-02	6,27E-02	1,26E-01	115,52	31,35	150,91	6,42E-03	30,60	0,94	4,99E-03
VML028	-1,81E-01	-0,29	-2,74E-02	-3,35E-02	-6,45E-02	58,14	4,24	62,12	-1,03E-02	2,76	-0,34	-6,04E-03
VML033	4,70E-01	-0,02	-3,28E-03	3,20E-03	-4,38E-04	111,03	34,47	151,48	-5,01E-03	21,68	0,36	-4,26E-03
VML051	-4,54E-01	-0,22	-1,24E-02	-3,04E-02	-4,42E-02	83,66	39,85	130,89	-1,44E-03	20,12	0,32	-7,02E-03
VML188	8,11E-01	0,20	-5,66E-03	5,05E-02	4,39E-02	-87,88	-7,98	-96,45	7,92E-03	-9,67	-0,08	2,51E-05

^{1/} AP (cm), altura de planta; DC (mm) diâmetro de colmo; MRS (g), massa de raiz seca; MPAS (g) massa de parte aérea seca; MTS (g) massa total seca; RSR (g g⁻¹), relação raiz/parte aérea; CRL (cm), comprimento radicular lateral; CRA (cm), comprimento radicular axial; CRT (cm), comprimento radicular total; DRM (mm), diâmetro radicular médio; ASR cm², área superficial radicular; VOL (cm³), volume radicular; DTR (g cm³) densidade do tecido radicular.

Tabela 8. Estimativas de capacidade geral de combinação recíproca (RCGC) de dez linhagens genitoras de milho para caracteres de raiz e parte aérea em baixo e alto nitrogênio.

Linhagens	Baixo N						Alto N						
	MRS ^{1/}	MPAS	MTS	CRA	ASR	VOL	MRS	MPAS	MTS	CRA	CRT	ASR	VOL
VML004	4,46E-03	6,20E-03	1,11E-02	8,40	4,91	1,58E-01	9,48E-03	1,77E-02	3,04E-02	10,34	28,96	7,87	0,19
VML009	2,30E-03	3,58E-04	6,56E-03	-3,85	0,22	3,84E-02	-6,40E-03	-4,90E-03	-1,30E-02	-0,43	-2,92	-2,67	-0,21
VML016	1,34E-04	-6,79E-03	-1,02E-02	1,73	-0,28	-6,66E-02	-8,22E-03	7,79E-04	-8,67E-03	-12,13	-28,74	-7,32	-0,27
VML017	9,27E-03	8,10E-03	1,80E-02	21,88	11,56	2,67E-01	1,10E-02	3,68E-03	1,70E-02	23,13	31,55	10,90	0,38
VML020	9,69E-03	1,06E-02	2,12E-02	18,13	9,39	2,49E-01	1,41E-02	9,02E-03	2,62E-02	9,90	16,04	7,69	0,30
VML022	-2,59E-02	-1,74E-02	-4,56E-02	-43,91	-26,04	-7,48E-01	-2,43E-02	-3,78E-02	-6,97E-02	-31,09	-51,58	-20,97	-0,76
VML028	1,36E-02	6,91E-03	2,17E-02	22,38	11,60	3,61E-01	9,06E-03	1,73E-02	2,94E-02	14,64	16,65	8,62	0,36
VML033	-6,89E-03	3,38E-03	-3,87E-03	0,36	1,60	-1,61E-02	4,31E-03	-7,35E-03	-3,03E-03	5,18	2,32	3,71	0,28
VML051	5,44E-03	4,48E-03	1,03E-02	2,08	2,87	7,43E-02	-3,57E-03	1,00E-02	6,81E-03	-4,74	-3,20	-0,95	0,01
VML188	-1,21E-02	-1,58E-02	-2,92E-02	-27,19	-15,84	-3,19E-01	-5,48E-03	-8,35E-03	-1,55E-02	-14,81	-9,08	-6,90	-0,28

^{1/}MRS (g), massa de raiz seca; MPAS (g) massa de parte aérea seca; MTS (g) massa total seca; CRA (cm), comprimento radicular axial; CRT (cm), comprimento radicular total; ASR (cm²), área superficial radicular; VOL (cm³), volume radicular.

Tabela 9. Coeficiente de correlação de Pearson entre a heterose média das linhagens parentais utilizadas como machos e as linhagens parentais utilizadas como fêmeas, entre RCGC e a heterose média das 10 linhagens parentais utilizadas como machos e entre RCGC e a heterose média das 10 linhagens parentais utilizadas como fêmeas.

Correlação	Baixo N						Alto N						
	MRS ^{1/}	MPAS	MTS	CRA	ASR	VOL	MRS	MPAS	MTS	CRA	CRT	ASR	VOL
F ₁ / Recíproco	0,40	-0,09	0,17	0,42	0,35	0,26	0,59	0,63	0,62	0,88	0,81	0,81	0,57
RCGC/F ₁	-0,37	-0,55	-0,42	-0,15	-0,17	-0,35	-0,06	0,18	0,10	0,42	0,36	0,25	0,04
RCGC/ Recíproco	0,68	0,85	0,80	0,82	0,85	0,81	0,76	0,85	0,82	0,77	0,81	0,77	0,83

^{1/}MRS (g), massa de raiz seca; MPAS (g) massa de parte aérea seca; MTS (g) massa total seca; CRA (cm), comprimento radicular axial; CRT (cm), comprimento radicular total; ASR (cm²), área superficial radicular; VOL (cm³), volume radicular.

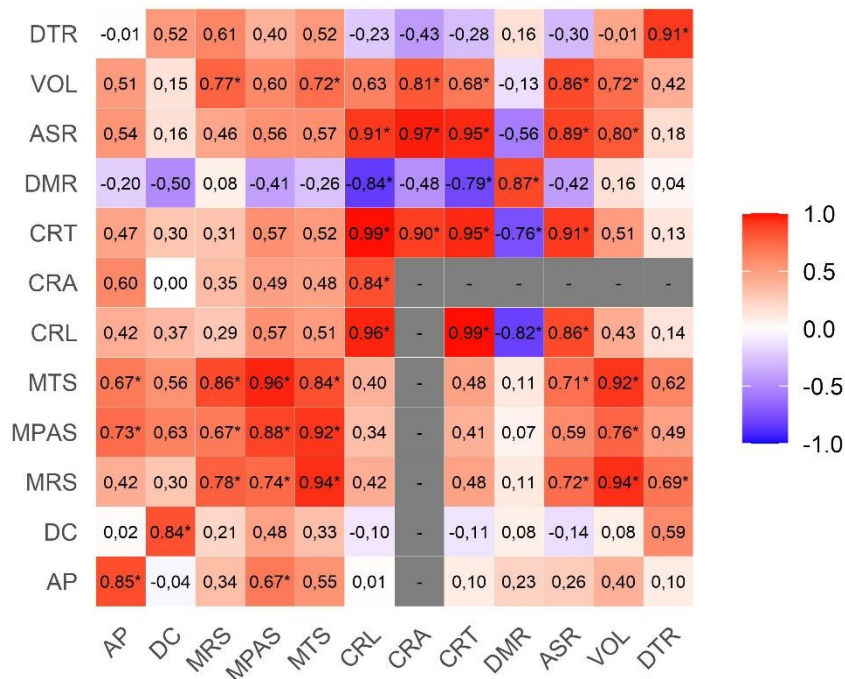


Figura 1. Estimativas de correlações de Pearson entre as estimativas de CGC em alto N (acima da diagonal) e baixo N (abaixo da diagonal) e as correlações de Spearman do mesmo caractere em baixo e alto N (diagonal) de dez linhagens genitoras de milho para caracteres de raiz e parte área em baixo e alto nitrogênio.

4.4 Efeito da Capacidade Específica de Combinação e Heterose

Em BN, os efeitos de CEC foram em sua maioria negativos (Material suplementar). Entretanto, alguns híbridos se destacaram por possuir efeito de CEC positivo para todos os caracteres, sendo eles: VML004/VML020, VML009/VML028, VML016/VML020, VML017/VML020, VML017/VML051, VML020/VML028, VML022/VML051 e VML033/VML188. Por outro lado, no ambiente de alto nível de N os valores positivos para efeito de CEC predominaram. Os híbridos que apresentaram efeito de CEC negativo para todos os caracteres foram VML004/VML016, VML004/VML033, VML009/VML016, VML009/VML017, VML009/VML028, VML017/VML188, VML17/VML022, VML020/VML028, VML033/VML188, VML033/VML051.

A estimativa de heterose média (HME) e heterose com base no maior pai (HMP) foram maiores para os recíprocos do que para os F1 para todos os caracteres em BN (Material suplementar). Em AN, as estimativas de heteroses dos recíprocos só não foram maiores para os caracteres RSR, DTR e CRL. O caractere DTR apresentou valores de HME e HMP negativos tanto para F1 como para os recíprocos. O caractere DRM também apresentou valores de heterose negativos, porém apenas para HMP.

As estimativas de correlações entre a heterose do F1 com o recíproco para o ambiente de BN foi, no geral, baixa para todos os caracteres. Entretanto, em AN, essas estimativas variaram de 0,57 (VOL) e 0,88 (CRA). Para a correlação dos efeitos de RCGC com F1, os valores foram baixos, tanto em AN como em BN, para todos os caracteres. O contrário ocorreu para a correlação dos efeitos de RCGC com os recíprocos, no qual as correlações para todos os caracteres em ambos os níveis foram de alta magnitude. Para essa correlação, houve variação dos valores, sendo o mais baixo 0,68 para MRS em BN e o mais alto 0,85 para MPAS em BN e AN.

5 Discussão

A avaliação de caracteres de raiz se mostra essencial na seleção de genótipos de milho mais eficientes no uso de N e, conseqüentemente, com maiores produtividades de grãos (MOROSONI et al., 2017; ALMEIDA et al., 2018; TORRES et al., 2018; SUN et al., 2020). Assim, muitos estudos têm sido realizados para entender a resposta de genótipos de milho a diferença de disponibilidade de N e selecionar genótipos mais eficientes no uso de N com base em caracteres de raiz. Entretanto, a maioria desses estudos tem priorizado a caracterização *per se* de genótipos de milho em condições de campo e casa de vegetação (KUMAR et al., 2012; RODRIGUES et al., 2017; ALMEIDA et al., 2018; TORRES et al., 2019; SANTOS et al., 2019), e praticamente não há trabalhos com intuito de entender a herança de caracteres relacionados a raiz e como o estresse de N pode influenciar a escolha de parentais para formação de híbridos mais eficientes em N. Em milho, o cultivar do tipo híbrido é mais plantado pelos agricultores nas principais regiões produtoras de milho no mundo. No Brasil, estima-se que 95% da área plantada com milho é cultivada com algum tipo de híbrido (SOUZA, 2018). Desse modo, para a obtenção de híbridos responsivos faz-se necessário estimar capacidades de combinação das linhagens e verificar a existência de efeitos recíprocos entre os genitores envolvidos nos cruzamentos. A partir desses parâmetros é possível direcionar os cruzamentos, com intuito de obter híbridos mais produtivos e mais eficientes no uso de N.

Os híbridos podem apresentar grande variação, a qual é dependente da interação dos genes presentes nos parentais, portanto, podem apresentar grande variabilidade (ZHANG et al., 2016). No ambiente de baixo N, a variância genotípica foi significativa para quase todos os caracteres entre os híbridos. Em relação às linhagens, não houve significância para a maioria dos caracteres. Como as dez linhagens usadas neste trabalho foram selecionadas para EUN, elas apresentaram menor e não significativa variância genotípica para muitos caracteres testados (RODRIGUES et al., 2017; TORRES et al., 2019). A significância para variância genotípica em híbridos no baixo N pode ser proveniente das diversas possibilidades de cruzamento e expressão da variabilidade existente nas próprias linhagens. Em alto N, houve significância para a maioria dos caracteres em linhagens, isso, provavelmente, pelo fato de que em a variabilidade não relacionada a EUN tenha sido expressa. Essas diferenças significativas podem ser devido a forma de expressão dos genes envolvidos no controle desses caracteres, principalmente, como resultado do cruzamento entre as linhagens (HALLAUER e MIRANDA et al, 1988) ou pelo perfil de expressão do gene e os níveis de expressão, sendo diferentes em ambos, parentais e híbridos (ZHANG et al., 2016). Em alto N, os híbridos são capazes de

expressar todo o seu potencial, pois todos apresentam bom desempenho e, portanto, não contribuem muito para a variância fenotípica. Presume-se que as linhagens cultivadas em alto N não apresentam a necessidade de expressar genes referentes à EUN, porém expressam outros genes, que permitem a manifestação de maior variabilidade fenotípica entre elas.

Saengwilai et al. (2014) observaram que as raízes axiais estão diretamente relacionadas com produtividade de milho em baixo N. Gao et al. (2015) relataram que o aumento no comprimento das raízes axiais, ocorreu quando a concentração de N na parte aérea diminuiu em torno de 30%. Essa condição é evidente, tendo em vista a necessidade de crescimento da raiz em função da escassez de N no seu entorno. Isto faz com que as reservas de aminoácidos e proteínas da parte aérea, sejam redistribuídas para o sistema radicular, para atendimento dos processos metabólicos (TAIZ e ZEIGER, 2016). No presente trabalho, foi encontrado aumento no CRL em baixo N para os híbridos e um decréscimo para as linhagens. Presume-se que a diferença encontrada entre híbridos e linhagens, pode advir do fato de que as linhagens foram selecionadas anteriormente para EUN (RODRIGUES et al., 2017; TORRES et al., 2019), portanto apresentam maior capacidade de adaptação a baixo nível de N. Sun et al. (2020) sugerem que em baixo N, a primeira resposta do milho é promover o crescimento de raiz lateral em busca do N no solo.

O caractere RSR é frequentemente utilizado para estimar a alocação de biomassa nas raízes (YU et al., 2015), tendo em vista que os fotoassimilados, em especial a sacarose, são transportados das folhas até os drenos, nesse caso a raiz. Cultivares modernas de milho com maior RSR são mais propensas a resistência a fatores de estresse e, portanto, têm maior EUN do que cultivares mais antigos (DUVICK et al., 2005; ABDEL-GHANI et al., 2013; YU et al., 2015). O aumento na RSR pode ser consequência da alocação de carbono, da parte aérea para a raiz, nas plantas e são influenciadas pelas condições ambientais. Em condições de baixo N as plantas alocam maior proporção de fotoassimilados nas raízes (SUN et al., 2020). Em alto N cerca de 40% dos fotoassimilados são transportados para a raiz e 25% utilizados em processos metabólicos do carbono, portanto não havendo necessidade de aumento na translocação da parte aérea para a raiz (CAI et al., 2012; IRVING et al., 2015). Ambientes com baixos níveis de N alteram o metabolismo dos carboidratos nas plantas, pois há a necessidade das raízes aumentarem a área de exploração em busca dos nutrientes, o que explica o aumento da MRS em baixo N. (GAO et al., 2015; SUN et al., 2020). A resposta diferencial à alocação de carbono e consequente aumento na MRS, está relacionada ao hormônio citocinina, que tem papel fundamental nesse processo. O baixo nível de N no meio promove respostas endógenas para auxina que ativa, junto ao DNA das células, a síntese de proteínas estruturais integrais de

transporte de açúcares para floema e, conseqüentemente, aumenta o fluxo de carbono para o sistema radicular (TAIZ e ZEIGER, 2016). Isso pode causar crescimento unidirecional no sentido da raiz, em detrimento a parte aérea.

A CGC e CEC são parâmetros determinantes da performance dos híbridos em cruzamentos dialélicos (GRIFFING, 1956). Os parâmetros de CGC estão diretamente relacionados a efeitos aditivos ou frequência de alelos favoráveis. A CEC corresponde aos efeitos de genes não aditivos (dominância e epistasia) ou efeitos de complementação intragênico e intergênico e está relacionada a divergência gênica entre as linhagens (SANTOS et al., 2019). O conhecimento sobre a significância de CGC e CEC é muito importante no melhoramento, pois orienta o melhorista sobre qual estratégia de melhoramento será mais efetiva para um determinado caractere (BADU-APRAKU et al., 2015). A significância encontrada para quase todos os caracteres em CGC, em alto e baixo N, mostra que os efeitos aditivos apresentam maior contribuição para a expressão dos caracteres. Diversos estudos comprovaram a importância dos efeitos aditivos para a EUN (CHUN et al., 2005; WORKU et al., 2007; MAKUMBI et al., 2011; DoVALE et al., 2012; BADU-APRAKU et al., 2013; SANTOS et al., 2019). Li et al. (2015) realizaram um estudo de mapeamento de QTL para caracteres de raiz e também constataram que os efeitos aditivos corresponderam a 70% para variação de caracteres de raiz. Os níveis de N têm grande influência na CGC (CHUN et al., 2005). Para alguns caracteres (MRS, MTS, DRM e VOL) em baixo N houve significância para ambos, CGC e CEC. Portanto, para esses caracteres tanto os efeitos aditivos como os não aditivos, contribuem para a expressão (SANTOS et al., 2019). Para Zhang et al. (2016), os caracteres de EUN parecem ser controlados por dois ou mais tipos de dominância e ambos os genes nucleares e extranucleares são expressos em níveis diferentes. Segundo os autores a expressão desses genes dependem da forma como um alelo selecionado em um cruzamento se expressa e como esses alelos diferentes se interagem em um bioprocessos para um caractere.

Poucos trabalhos foram realizados utilizando-se cruzamentos dialélicos para caracteres de raiz em milho. Para conhecimento do autor do presente trabalho, apenas Chun et al. (2005) empregaram dialélico para estudar a capacidade de combinação de linhagens de milho para caracteres de raiz em condições de estresse de N. Entretanto, os autores não consideraram os efeitos recíprocos dos cruzamentos. Assim, a presente pesquisa é pioneira no que diz respeito à estimativa dos efeitos recíprocos para esse tipo de experimento. Os efeitos recíprocos podem ser atribuídos a fatores genéticos citoplasmáticos ou de interação entre genes nucleares e efeito de genes citoplasmáticos (MUKANGA et al., 2010). Eles podem estar relacionados ao processo de metabolismo do N, no qual genes extra nucleares são importantes para a formação dos

aparatos fotossintéticos do cloroplasto (MUKANGA et al., 2010). Desse modo, é aconselhável usar genótipos EUN como parental feminino em blocos de cruzamentos (SANTOS et al., 2019). Segundo Marçal et al. (2019), a inclusão dos efeitos de RCGC e RCEC no modelo, torna os componentes de variância de CGC e CEC mais exatos, pois retira os efeitos de RCGC e RCEC que estavam confundidos em CGC e CEC. Mesmo não havendo significância para os efeitos recíprocos, a sua inclusão no modelo torna os resultados de CEC e CGC mais confiáveis. As variâncias de RCGC foram significativas para a maioria dos caracteres relacionados diretamente à raiz. Os efeitos de RCGC foram mais pronunciados e mais importantes em proporção para a variância fenotípica em baixo N, sugerindo que a ação dos alelos que controlam o efeito recíproco, seja melhor expressa em condições de deficiência de N.

Os resultados encontrados na presente pesquisa a respeito do impacto da RCGC na CGC divergem daqueles obtidos por Fan et al. (2014), no qual a inclusão dos recíprocos no dialelo não teve impacto na variância de CGC. Para os caracteres ASR, MTS em baixo N e, VOL em alto e baixo N, a proporção da CGC que corresponde à RCGC, é maior que 50%. Portanto, o efeito do recíproco influencia alguns caracteres, principalmente em baixo N. A seleção de alelos a serem expressos é determinado por um sistema de controle (GOFF, 2011), o qual corresponde a algumas mudanças na parte interna do organismo e que é influenciado pelo ambiente externo ou também pelo efeito recíproco (ZHANG et al., 2016).

A correlação genética alta, entre os níveis de N, para a maioria dos caracteres avaliados em linhagens e híbridos, demonstra tratar-se de interação simples. Para linhagens e híbridos, os caracteres que apresentaram de média a baixa correlação genética foram RSR e DRM e AP e DTR em linhagem e MRS em híbridos. Essas correlações demonstram que a interação para esses caracteres é do tipo complexa (van EEUWIJK et al., 2016). Interações não significativas encontradas no experimento de casa de vegetação para caracteres de raiz são similares a outros estudos com a cultura do milho (CHUN et al., 2005; ABDEL-GHANI et al., 2013; TORRES et al., 2019). Segundo Mi et al. (2004), em geral, a interação linhagem x N não pode ser observada, quando grande número de genótipos é comparado. A existência de interação para plantas adultas, indica que os melhores genótipos em baixo N não são os melhores em alto N para determinados caracteres (MEDICI et al., 2005).

Existe uma expressão diferencial da variabilidade genética em milho em baixo e alto N, foram encontrados diferentes QTLs para essas condições ambientais (GALLAIS E HIREL, 2004; ZHENG et al., 2007; LIU et al., 2012). Worku et al. (2012) avaliaram híbridos de milho tropical em diferentes níveis de N e constataram que os caracteres para comprimento de raiz não foram significativamente relacionados com EUN. Isso indica que a seleção para melhor

performance sob baixo N, não aumenta o comprimento radicular nesses híbridos tropicais. No presente trabalho, não foram encontradas significância para os caracteres de raiz relacionados com o comprimento radicular e o nível de N. As observações de interação entre CEC com o ambiente foram significativas apenas para caracteres relacionados à parte aérea. Dessa forma, infere-se que a alteração de disponibilidade de N foi mais importante para expressão de alelos de efeito de dominância em parte aérea. Para CGC foi encontrada significância para a interação em AP, MPAS e MTS, mostrando comportamento diferencial dos genótipos nos ambientes de alto e baixo N para esses caracteres. A interação com recíprocos só foi significativa para RSR, o que está em concordância com a importância do efeito recíproco para a EUN.

Com relação à importância para a variação fenotípica, a CGC é a mais importante para a maioria dos caracteres em ambos os níveis. Isto comprova a importância dos efeitos aditivos no controle dos caracteres para EUN. Em um programa de melhoramento, portanto, a seleção de genótipos mais eficientes pode ser feita com base nas linhagens *per se*. No caso de genes aditivos, a média dos pais é igual à média dos híbridos, portanto, não é necessário testar as linhagens em cruzamento para saber o potencial do híbrido formado (CRUZ et al., 2012).

O efeito de CGC mostrou valores positivos para as linhagens VML022 e VML016 em ambos os níveis de N. Tal resultado ratifica com o encontrado por Torres et al. (2019), no qual essas linhagens, obtiveram ótimos resultados para caracteres de raiz. Como a EUN é predominantemente controlada por genes de efeito aditivo, ou seja, possuem os alelos favoráveis fixados, seria esperado efeitos positivos em ambos os níveis. Por outro lado, as linhagens VML033 e VML004 apresentaram comportamento diferencial. Em baixo N VML033 apresentou valores no geral positivos e VML004 valores negativos. Em alto N VML033 obteve efeito negativo e VML004 efeito positivo. Uma possível explicação para isso seria os alelos fixados para caracteres de raiz na VML033, entretanto, em alto N, com a mudança do ambiente, tem-se uma alteração na expressão dos alelos. A linhagem VML004 não possui alelos fixados para caracteres de raiz, porém, talvez, possua alguns alelos de efeito de dominância que também contribuem para EUN. Um ponto importante a se ressaltar é o fato de que a linhagem VML028 apresentou valores negativos de efeito de CGC para a maioria dos caracteres em alto e baixo N. Entretanto, a mesma linhagem apresentou valores positivos para efeito de RCGC para todos os caracteres. Isso demonstra que existe grande influência de efeitos recíprocos nos caracteres de raiz e, portanto, na EUN. Um ponto importante a ser ressaltado a respeito das correlações de Pearson para os efeitos de CGC dos caracteres consiste na significância encontrada para a correlação entre MPAS e MRS (0,74) em baixo N. A correspondência entre caracteres de parte aérea e radiculares levanta a possibilidade de que os caracteres de raiz, possam, em parte, serem

previstos a partir de caracteres de parte aérea mais facilmente observados (TJOELKER et al., 2005). A MRS é um caractere importante para definir EUN, portanto, seria interessante fazer seleção indireta a partir de MPAS, visto que este é mais fácil de ser mensurado.

Mudanças no ambiente interno ou externo pode fazer com que haja uma expressão diferente de um alelo ou que haja uma seleção para impactar na escolha do processo epigenético a ser usado (ZHANG et al., 2016). É interessante ressaltar que as linhagens que apresentaram CGC positivas para alto e baixo N, obtiveram efeito RCGC negativos para todos os caracteres em ambos os ambientes. Portanto, provavelmente, quando os alelos estão fixados, não existe necessidade de ativação dos alelos extranucleares ou da interação destes com os genes nucleares. Outro ponto interessante, seriam os valores positivos encontrados para a linhagem VML028 para os efeitos de RCGC, enquanto que para efeito de CGC esta apresentou, em sua maioria, valores negativos para a maioria dos caracteres em alto e baixo N. Linhagens com RCGC positivos para caracteres de raiz devem ser utilizadas como parental feminino em programas de melhoramento. Um genótipo ideal para EUN, seria aquele que agregasse genes de efeito aditivo e de dominância para os caracteres nos quais cada efeito é mais importante. E além disso, genes de efeito recíproco, os quais se mostraram importantes para promover EUN. Uma maneira de conciliar todas essas características, seria o desenvolvimento de uma população de melhoramento com as linhagens que se destacaram para cada parâmetro, seguida de seleção recorrente para os caracteres e efeitos desejados. Com a extração de linhagens no final do processo, é possível realizar cruzamentos para obter híbridos mais EUN com todos os genes favoráveis possíveis.

As três hipóteses mais aceitas para explicar a heterose são as hipóteses de dominância (BRUCE 1910; KEEBLE e PELLEW, 1910; JONES, 1917), sobredominância (EAST, 1936; HULL, 1946; CROW, 1948) e epistasia (RICHEY, 1942). Entretanto, alguns estudos em escala genômica têm sugerido que essas três hipóteses não seriam suficientes para explicar todas as alterações relacionadas com a heterose (GOFF, 2011). Os resultados do presente estudo também confirmaram essa pressuposição, pois foi possível observar influência do efeito recíproco na expressão da heterose, principalmente, em baixo N. A baixa correlação para a maioria dos caracteres em baixo N para F₁/ Recíprocos, confirma a presença de outros fatores contribuindo para heterose. Caso fosse somente efeitos de dominância, sobredominância e epistasia, seria esperada alta correlação entre os híbridos diretos e os recíprocos. A correlação baixa e negativa em ambos os níveis de N para os efeitos de RCGC com os híbridos F₁ mostra que o efeito recíproco não está diretamente relacionado com os híbridos F₁. Por outro lado, a correlação entre o efeito de RCGC com os híbridos recíprocos foram de alta magnitude para todos os

caracteres nos dois níveis de N. Isso confirma a participação dos efeitos recíprocos na manifestação da heterose. Alguns trabalhos têm sugerido que os genes na mitocôndria e no cloroplasto, e as interações destes com os genes nucleares têm papel importante na manifestação da heterose em alguns caracteres (McDANIEL, 1972; SRIVASTAVA, 1983). Mahgoub, (2011) e Yao et al. (2013) relataram que o efeito recíproco afetou fortemente as estimativas de CEC, as quais estão diretamente relacionadas com a heterose. Zhang et al. (2016) também concluíram que a interação entre os genes citoplasmáticos e nucleares, tem papel importante na geração da heterose. A explicação encontrada pelos mesmos autores seria de que os alelos dos genes citoplasmáticos e nucleares podem ser coexpressos ou seletivamente expressos do mesmo modo nos híbridos e nos parentais.

6 Conclusões

A significância encontrada para quase todos os caracteres em CGC, em alto e baixo N, mostra que os efeitos aditivos apresentam maior contribuição para a expressão dos caracteres.

A alteração de disponibilidade de N foi mais importante para expressão de alelos de efeito de dominância em parte aérea.

A CGC tem papel mais importante na variação fenotípica para a maioria dos caracteres em ambos os níveis.

Os efeitos aditivos e não aditivos influenciam na expressão dos caracteres de raiz para EUN, as variações são dependentes do caractere em avaliação.

A seleção em ambiente com diferentes níveis de N só seria recomendada para os caracteres AP, MPAS e DTR em linhagens e MPAS e RSR em híbridos.

O efeito de RCGC é importante no controle dos caracteres estudados quando em baixo nível de N.

O efeito de CGC mostrou valores positivos para as linhagens VML022 e VML016 em ambos os níveis de N.

Para caracteres de raiz é necessário realizar seleção para parental feminino.

A linhagem VML028 possui alelos de efeito recíproco favoráveis para caracteres de raiz, sendo um genótipo promissor para ser usado como parental feminino em cruzamentos.

O efeito recíproco exerce influência na manifestação da heterose principalmente em ambiente de baixo nível de N.

A correlação positiva e significativa para MRS e MPAS em baixo N possibilita seleção indireta através de MPAS.

7 Referências Bibliográficas

- ABDEL-GHANI, A.H.; KUMAR, B.; REYES-MATAMOROS, J.; GONZALEZ-PORTILHA, P.J.; JANSEN, C.; MARTIN, J.P.S.; LEE, M.; LÜBBERSTEDT, T. (2013) **Genotypic variation and relationships between seedlings and adult plant traits in maize (*Zea mays* L.) inbred lines grown under contrasting nitrogen levels.** *Euphytica* 189: 123-133.
- ALMEIDA, V. C.; VIANA, J. M. S.; DeOLIVEIRA, H. M.; RISSO, L.A.; RIBEIRO, A.F.S.; DeLIMA, R.O. (2018). **Genetic diversity and path analysis for nitrogen use efficiency of tropical popcorn (*Zea mays* spp. *everta*) inbred lines in adult stage.** *Plant Breed.* 137:839-847.
- BADU-APRAKU, B.; OYEKUNLE, M.; FAKOREDE, M. A. B.; VROH, I.; AKINWALE, R. O.; ADEROUNMU, M. (2013) **Combining ability, heterotic patterns and genetic diversity of extra-early yellow inbreds under contrasting environments.** *Euphytica.* 192:413–433.
- Baker, R.J. 1978. **Issues in diallel analysis.** *Crop Sci.* 18:533–536.
- BIROUSTE, M.; ZAMORA-LEDEZMA, E.; BOSSARD, C.; PE´REZ-RAMOS, I. M.; ROUMET, C. (2014). **Measurement of fine root tissue density: a comparison of three methods reveals the potential of root dry matter content.** *Plant Soil* 374:299–313.
- BODIRSKY, B.; POPP, A.; LOTZE-CAMPEN, H. (2014). **Reactive nitrogen requirements to feed the world in 2050 and potential to mitigate nitrogen pollution.** *Nat Commun* 5, 3858.
- BOGUE AG. 1983. **Changes in mechanical and plant technology: the Corn Belt, 1910–1940.** *Journal of Economic History* 43, 1–25.
- BOUMA, T. J.; NIELSON, K. L.; KOUTSTAAL, B. A. S. **Sample preparation and scanning protocol for computerized analysis of root length and diameter.** *Plant and Soil*, v.218, p. 185-196, 2000.
- BRUCE, A. B. (1910). **The Mendelian theory of heredity and the augmentation of vigor.** *Science* 32: 672-628.
- CAI, H.; CHU, Q.; YUAN, L.; LIU, J.; CHEN, X.; CHEN, F.; MI, G.; ZHANG, F. (2012a) **Identification of quantitative trait loci for leaf area and chlorophyll content in maize (*Zea mays*) under low nitrogen and low phosphorus supply.** *Mol Breeding* 30:251–266.
- CAI, H.; CHU, Q.; GU, R.; YUAN, L.; LIU, J.; ZHANG, X.; CHEN, F.; MI, G.; ZHANG, F. (2012b) **Identification of QTLs for plant height, ear height and grain yield in maize (*Zea mays* L.) in response to nitrogen and phosphorus supply.** *Plant Breed* 131:502–510.
- CIAMPITTI, I. A.; BOXLER, M.; GARCÍA, F. O. (2010). **Nutrición de Maíz: Requerimientos y absorción de nutrientes. Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica.** Ediciones IPNI. v. 48, p. 14 -18.

CHUN, L.; MI, G.; LI, J.; CHEN, F.; ZHANG, F. (2005). **Genetic analysis of maize root characteristics in response to low nitrogen stress**. *Plant and Soil*, v.276, p.369-382.

CONAB (2020). **Acompanhamento Da Safra Brasileira De Grãos Safra 2019/20 - Décimo Segundo Levantamento**. 2019. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 24 março de 2020.

COCKERHAM, C.C.; WEIR, B.S. (1977) **Quadratic analyses of reciprocal crosses**. *Biometrics* 33:187–203.

COQUE, M.; GALLAIS, A. (2006) **Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize**. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 1205-1220.

CROW, J. F. (1948). **Alternative hypotheses of hybrid vigor**. *Genetics* 33: 477-487.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. (2012). **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. 4. ed. Viçosa, MG: Editora UFV.

DAWSON, C.J.; HILTON, J. (2011). **Fertilizer availability in a resource-limited world: production and recycling of nitrogen and phosphorus**. *Food Policy* 36: S14–S22.

DELIMA R.O. (2010). **Herança e correlação de caracteres de raiz e eficiência de uso do nitrogênio em milho**. Viçosa :UFV. 38p. (Dissertação de Mestrado).

DOVALE, J. C.; FRITSCHÉ-NETO, R.; BERMUDEZ, F.; MIRANDA, G. V. (2012). **Efeitos gênicos de caracteres associados à eficiência no uso de nitrogênio em milho**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 385–392.

DOVALE, J.C.; DELIMA, R.O.; FRITSCHÉ-NETO, R.; MIRANDA, G.V. (2011). **Melhoramento para eficiência no uso do nitrogênio**. Livro Melhoramento de Plantas para Condições de Estresses Abióticos. p 86.

DUVICK, D. N. (2005) **The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays L.*)**. In: Sparks DL, ed. *Advances in agronomy*, volume 86, Vol. 86. San Diego: Elsevier Academic Press Inc: 83–145.

EAST, E. M. (1936). **Heterosis**. *Genetics* 21: 375-397.

ERISMAN, J. W.; GALLOWAY, J.N.; SEITZINGER, S.; BLEEKER, A.; DISE, N.B.; PETRESCU, A.M.R.; LEACH, A.M.; DE VRIES, W. (2013). **Consequences of human modification of the global nitrogen cycle**. *Philosophical Transactions of Royal Society B*, v.368, n.1621.

ERISMAN J.W., SUTTON M.A., GALLOWAY J., KLIMONT Z., WINIWARTER W. (2008) **How a century of ammonia synthesis changed the world**. *Nat Geosci* 1: 636–639.

FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. (1996) **Introduction to quantitative genetics**. 4th Ed. Longman Hallow, London.

- FAN, X. M.; ZHANG, Y.D.; YAO, W. H.; BI, Y. Q.; LIU, L.; CHEN, H. M.; KANG, M. S. (2014). **Reciprocal diallel crosses impact combining ability, variance estimation, and heterotic group classification.** *Crop Science*, Vol. 54, January – February.
- FERNANDES, F. C. S.; BUZETTI, S.; ARF, O.; ANDRADE, J. A. C. (2005). **Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho.** *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 4, n. 2, p. 195-204.
- FOLEY JA, RAMANKUTTY N., BRAUMAN K. (2011). **Solutions for a cultivated planet.** *Nature* 478:337–342.
- GALLAIS, A.; HIREL, B. (2004). **Na approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize.** *Journal of Experimental Botany*, v.55, p.295-306.
- GALLAIS, A.; COQUE, M.; BERTIN, P. (2008). **Response to selection of a maize population for adaptation to high or low nitrogen fertilization.** *Maydica*, 53:21-18.
- GALLAIS, A.; HIREL, B. (2004). **An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize.** *Journal of Experimental Botany*, v. 55, n. 396, p. 295-306.
- GALVÃO, J. C. C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M. A. (2015). **Milho do plantio à colheita.** Viçosa, MG Ed. UFV, 351 p.
- GAO, K.; CHEN, F.; YUAN, L.; ZHANG, F.; MI, G. (2015). A comprehensive analysis of root morphological changes and nitrogen allocation in maize in response to low nitrogen stress. *Plant Cell Environ.* 38:740-750.
- GARNETT, T.; CONN, V.; KAISER, B.N. (2009). **Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants.** *Plant, Cell and Environment*, v.32, p.1272-83.
- GEWIN, V., (2010). **An Underground Revolution.** *NATURE* 466, 552–553.
- GOFF, S.A. (2011). **A unifying theory for general multigenic heterosis: Energy efficiency, protein metabolism, and implications for molecular breeding.** *New Phytol.* 189:923–937.
- GUINGO, E.; HÉBERT, Y.; CHARCOSSET, A. (1998). **Genetic analysis of root traits in maize.** *Agronomie* 18, 225–235.
- GREGORY, P.J.; GEORGE, T.S. (2011) **Feeding nine billion: the challenge to sustainable crop production.** *J Exp Bot.*
- GRIFFING, B. (1956). **Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems.** *Australian journal of biological sciences*, v. 9, n. 4, p. 463-493. 23
- GUEDES, F. L.; DINIZ, R. P.; BALESTRE, M.; RIBEIRO, C.; CAMARGOS, R. B.; SOUZA, J. C. (2014). **Inheritance of nitrogen use efficiency in inbred progenies of tropical maize based on multivariate diallel analysis.** *The Scientific World Journal.*
- HALLAUER, A. R.; CARENA, M. J.; MIRANDA FILHO, J. B. (2010). **Quantitative genetics in maize breeding.** (Vol. 6). Springer Science & Business Media.

HALLAUER, A.R., AND MIRANDA, J.B. (1988). **Quantitative genetics in maize breeding**. 2nd ed. Iowa State Univ. Press, Ames, IA.

HAN, M.; OKAMOTO, M.; BEATTY, P.H.; ROTHSTEIN, S.J. (2015). **The genetics of nitrogen use efficiency in crop plants**. *Annu. Rev. Genet.* 49: 269-289.

HAVLIN, J.L.; TISDALE, S.L.; NELSON, W.L. (2016) **Soil fertility and fertilizers**. Pearson Education, India

HENDERSON, C.R. (1959) **Estimation of variance and covariance components**. *Biometrics*, 17(1): 226-252.

HIREL, B.; BERTIN, P.; QUILLERÉ, I.; BOURDONCLE, W.; ATTAGNANT, C.; DELLAY, C.; GOUY, A.; CADIOU, S.; RETAILLIAU, C.; FALQUE, M.; GALLAIS, A. (2001). **Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize**. *Plant Physiology*, 125(3):1258-70.

HIREL, B.; LE GOUIS, J.; NEY, B.; GALLAIS, A. (2007). **The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches**. *J. Exp. Bot.* 58, 2369– 2387.

HULL, F. H. (1946). **Overdominance and corn breeding where hybrid seed is not feasible**. *J. Amer. Soc. Agron.* 38: 1100-1103.

IRVING, L.J. (2015). **Carbon assimilation, biomass partitioning and productivity in grasses**. *Agriculture* 5(4):1116–1134

JANDREY, D. B. (2016). **Manejo de nitrogênio em milho safrinha**. (2016). Disponível: <<http://www.pioneersementes.com.br/blog/84/manejo-de-nitrogenio-em-milho-safrinha>> Acesso em: 20 de maio de 2020.

JIAO, X.; LYU, Y.; WU, X. (2016). **Grain production versus resource and environmental costs: towards increasing sustainability of nutrient use in China**. *J Exp Bot* 67(17):4935–4949.

JONES, D. F. (1917). **Dominance of linked factors as a mean of accounting for heterosis**. *Genetics* 2: 466-479.

JUMBO, M. B.; CARENA, M. J. (2008) **Combining ability, maternal, and reciprocal effects of elite early-maturing maize populations hybrids**. *Euphytica* (2008) 162:325-333.

KANT, S.; BI, Y. M.; ROTHSTEIN, S. J. (2011). **Understanding plant response to nitrogen limitation for the improvement of crop nitrogen use efficiency**. *J Exp Bot.* 62: 1499–1509.

KEEBLE, F. e PELLEW, C. (1910) **The mode of inheritance of stature and of time of flowering in peas (*Pisum sativum*)**. *J. Genet.* 1: 47-56.

KIST, B. B.; SANTOS, C. E. Dos; BELING, R. R. (2019). **Anuário Brasileiro do milho 2019**. Santa Cruz do Sul.

KOEVOETS, I. T.; VENEMA, J. H.; ELZENGA, J.T. (2016). **Roots withstanding their environment: exploiting root system architecture responses to abiotic stress to improve crop tolerance**. *Front Plant Sci* 7:1335.

LE MARIÉ, C.A.; YORK, L.M.; STRIGENS, A. (2019). **Shovelomics root traits assessed on the EURoot maize panel are highly heritable across environments but show low genotype-by-nitrogen interaction**. *Euphytica* 215, 173.

LI, X.; ZENG, R.; LIAO, H. (2016). **Improving crop nutrient efficiency through root architecture modifications**. *J. Integr. Plant Biol.* 58:193–202.

LIU, R.; ZHANG, H.; ZHAO, P.; ZHANG, Z.; LIANG, W. (2012). **Mining of candidate maize genes for nitrogen use efficiency by integrating gene expression and QTL data**. *Plant Mol. Biol. Rep.* 30:297–308

LIU, X.; ZHANG, Y.; HAN, W.; TANG, A.; SHEN, J.; (2013). **Enhanced nitrogen deposition over China**. *Nature* 494: 459–463.

LYNCH, J.P. (2013). **Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems**. *Ann. Bot.* 112, 347–357.

LYNCH, J.P.; HO, M.D. (2005) **Rhizoeconomics: carbon costs of phosphorus acquisition**. *Plant Soil* 269: 45–56.

MAHGOUB, G.M.A. 2011. **Partitioning of general and specific combining ability effects for estimating maternal and reciprocal effects**. *J. Agric. Sci.* 3:213–221.

MAKUMBI, D.; BETRÁN, J. F.; BÄNZIGER, M.; RIBAUT, J. M. (2011). **Combining ability, heterosis and genetic diversity in tropical maize (*Zea mays* L.) under stress and non-stress conditions**. *Euphytica*, 180(2), 143-162.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A (1997). **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFOS, 390p.

MARIANI, L.; FERRANTE, A. (2017). **Agronomic management for enhancing plant tolerance to abiotic stresses—drought, salinity, hypoxia, and lodging**. *Horticulturae* 3(4):52.

MARÇAL, T. S.; ROCHA, J. R. A. C.; SALVADOR, F. V.; ANJOS, R. S. R.; SILVA, A. C.; CARNEIRO, P. C. S.; CARNEIRO, J. E. S. (2019) **Estimation of Variance for Reciprocal General and Specific Combining Ability Effects by EM-AI Algorithm**. *Crop Sci.* 59:1–10.

MCDANIEL, R.G. 1972. **Mitochondrial heterosis and complementation as biochemical measures of yield**. *Nat. New Biol.* 236:190–191.

MEDICI, L.O.; PEREIRA, M.B.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. **Identification of maize lines with contrasting responses to applied nitrogen**. *J Plant Nutr.* 2005; 28:903±915.

- MI, G.H.; CHEN, F.J.; WU, Q.P.; LAI, N.W.; YUAN, L.X.; ZHANG, F.S. (2010). **Ideotype root architecture for efficient nitrogen acquisition by maize in intensive cropping systems.** *Sci. China Life Sci.* 53, 1369–1373.
- MOLL, R. H.; KAMPRATH, E. L.; JACKSON, A. (1982) **Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization.** *Agronomy Journal*, v. 74., p.562-564. 17.
- MÖHRING, J.; MELCHINGER, A.E.; PIEPHO, H.P. (2011). **REML based diallel analysis.** *Crop Sci.* 51:470–478.
- MÔRO, G.V.; FRITSCHÉ-NETO, R. (2015). **Importância e usos do milho no Brasil.** In: BORÉM, A.; GALVÃO, J.C.C.; PIMENTEL, M.A. (Ed) *Milho do plantio à colheita.* Viçosa: Ed. UFV.
- MUKANGA, M.; DERERA, J.; TONGOONA, P. (2010). **Gene action and reciprocal effects for ear rot resistance in crosses derived from five tropical maize populations.** *Euphytica.* 174: 293–301.
- MUNDIM, G. B.; RODRIGUES, M. C.; DELIMA, R. O. (2018). **Melhoramento para Estresse Abióticos.** In: DELIMA, R. O.; BORÉM, A. (Eds.). *Melhoramento de Milho.* Viçosa, MG: Editora UFV. p. 396.
- MU, X.; CHEN, F.; WU, Q.; CHEN, Q.; WANG, J.; YUAN, L.; MI, G. (2015). **Genetic improvement of root growth increases maize yield via enhanced post-silking nitrogen uptake.** *European Journal of Agronomy*, v.63, p.55-61.
- PATTERSON, H.D.; R. THOMPSON. (1971). **Recovery of inter-block information when block sizes are unequal.** *Biometrika* 58:545–554.
- QIAO, S.; FANG, Y.; WU, A. (2019). **Dissecting root trait variability in maize genotypes using the semi-hydroponic phenotyping platform.** *Plant Soil* 439, 75–90.
- PRETTY J. 2008. **Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence.** *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363, 447–65.
- RICHEY, F. D. (1945). **Bruce's explanation of hybrid vigor.** *J. Hered.* 36: 243-244.
- RODRIGUES, M. C.; REZENDE, W. M.; SILVA, M. E. J.; FARIA, S. V.; ZUFFO, L. T.; GALVÃO, J. C. C.; DELIMA, R. O. (2017). **Genotypic variation and relationships among nitrogen-use efficiency and agronomic traits in tropical maize inbred lines.** *Genetics and Molecular Research*, [s. l.], v. 16, n. 3.
- RODRIGUES, M.C. (2019). **Capacidade de combinação e efeito recíproco de linhagens de milho tropical em ambientes contrastantes de nitrogênio.** Tese de Doutorado Universidade Federal de Viçosa.
- ROYAL SOCIETY OF LONDON. (2009). **Reaping the benefits: science and the sustainable intensification of global agriculture.**

SAENGWILAI, P.; TIAN, X.; LYNCH, J.P. (2014). **Low crown root number enhances nitrogen-acquisition from low-nitrogen soils in maize.** *Plant Physiol* 166:581–589.

SANTOS AD, AMARAL JUNIOR ATD, FRITSCHÉ-NETO R, KAMPHORST SH, FERREIRA, F.R.A.; AMARAL, J.F.T. (2019). **Relative importance of gene effects for nitrogen-use efficiency in popcorn.** *PLoS ONE* 14 (9): e0222726.

SATTELMACHER, B.; THOMS, K. (1995). **Morphology and physiology of the seminal root system of young maize (*Zea mays* L.) plants as influenced by a locally restricted nitrate supply.** *J Plant Nutr Soil Sci* 158:493–497.

SMITH, S.; DE SMET, I. (2012). **Root system architecture: insights from Arabidopsis and cereal crops Introduction.** *Philosophical Transactions of the Royal Society B—Biological Sciences* 367: 1441–1452.

SMITH, A.B.; CULLIS, B.R.; GILMOUR, A.R.; THOMPSON, R. (1999). **Multiplicative models for interaction in spatial mixed model analyses of multi-environment trial data.** *Proc IBC98 Int Biometrics Conf, Cape Town, South Africa, 13–18 Dec 1998*, pp 91.

SOUZA, J.C. (2018). **Cultivares.** In: DELIMA, R. O.; BORÉM, A. (Eds.). *Melhoramento de Milho*. Viçosa, MG: Editora UFV. p. 295.

SRIVASTAVA, H.K. 1983. **Heterosis and intergenomic complementation: Mitochondria, chloroplast, and nucleus.** In: R. Frankel, editor, *Heterosis monographs on theoretical and applied genetics*. Vol. 6. Springer-Verlag, Berlin, Germany. p. 260–286.

SUN, X., CHEN, F., YUAN, L. (2020). **The physiological mechanism underlying root elongation in response to nitrogen deficiency in crop plants.** *Planta* 251, 84.

SUNOJ, J.; SHROYER, K.; JAGADISH, K.; PRASAD, P. V. (2016). **Diurnal temperature amplitude alters physiological and growth response of maize (*Zea mays* L.) during the vegetative stage.** *Environmental and Experimental Botany*. 130.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. (2016). **Plant Physiology**, 6th ed. Sinauer Associates.

TIAN, Q.Y.; CHEN, F.J.; ZHANG, F.S.; MI, G.H. (2006). **Genotypic difference in nitrogen acquisition ability in maize plants is related to the coordination of leaf and root growth.** *Journal Plant Nutrition*, v.29, p.317-330.

TILMAN, D.; CASSMAN, K.G.; MATSON, P.A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. (2002). **Agricultural sustainability and intensive production practices.** *Nature* 418: 671–677.

TJOELKER, M.G.; CRAINE, J.M.; WEDIN, D.; REICH, P.B.; TILMAN, D. **Linking leaf and root trait syndromes among 39 grasslands and savannah species.** *New Phytologist*, v.167, p. 493-508, 2005.

TORRES, L. G.; CAIXETA, D. G.; REZENDE, W. M.; SCHUSTER, A.; AZEVEDO C. F.; SILVA, F. F.; DELIMA, R. O. (2019) **Genotypic variation and relationships among traits**

for root morphology in a panel of tropical maize inbred lines under contrasting nitrogen levels. *Euphytica*, 215:51.

TRACHSEL, S.; MESSMER, R.; STAMP, P.; HUND, A. Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. *Theoretical Applied Genetics*, v.119, p.1413-1424, 2009.

USDA (2019). (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos). **Safra Mundial de Milho 2018/19 – 12° Levantamento.**

VAN EEUWIJK, F.A.; BUSTOS-KORTS, D.V.; MALOSETTI, M. (2016). **What should students in plant breeding know about the statistical aspects of genotype × environment interactions?** *Crop Sci.*, 56: 2119-2140.

VERGUTZ, L.; NOVAIS, R.F (2015) **Recomendação de corretivos e adubação.** In: Milho “do plantio a colheita”. Editora UFV, Viçosa, p.108-136.

VERGUTZ L, NOVAIS RF, VALADARES RV (2017) **Recommendation of fertilization for maize.** In: Borém; A., Galvão; J.C.C., Pimentel, M.A. (Eds.). *Maize: from sowing to harvest (in portuguese)*. 2 ed. Viçosa, Minas Gerais, Brazil, pp.107-137.

WANG, Y.; MI, G.; CHEN, F.; ZHANG, J. AND ZHANG, F. (2004). **Response of root morphology to nitrate supply and its contribution to nitrogen accumulation in maize.** *Journal Plant Nutrition*. v. 27, p. 2189-2202.

WHITE, P.J.; GEORGE, T.S.; GREGORY, P.J.; BENGOUGH, A.G.; HALLETT, P.D.; MCKENZIE, B.M. (2013). **Matching roots to their environment.** *Ann. Bot.* 112, 207–222.

WORKU, M.; BANZIGER, M.; ERLEY, G.S.; FRIESEN, D.; DIALLO, A.O.; HORST, W.J. (2007). **Maize Nitrogen Uptake and Utilization in Contrasting Nitrogen Efficient Tropical Hybrids.** *Cropp Science*, 47:519-528.

WORKU, M.; BÄNZIGER, M.; FRIESEN, D.; DIALLO, A.O.; HORST, W.J. (2012). **Nitrogen efficiency as related to dry matter partitioning and root system size in tropical mid-altitude maize hybrids under different levels of nitrogen stress.** *Fields Crop Res* 130:57–67

YAO, W.H.; ZHANG, Y.D.; KANG, M.S.; CHEN, H.M.; LIU, L.; YU, L.J.; FAN, X.M. (2013). **Diallel analysis models: A comparison of certain genetic statistics.** *Crop Sci.* 53:1481–1490.

YORK, L.M.; GALINDO-CASTANEDA T.; SCHUSSLER, J.R.; LYNCH, J.P. (2015). **Evolution of US maize (*Zea mays* L.) root architectural and anatomical phenes over the past 100 years corresponds to increased tolerance of nitrogen stress.** *J Exp Bot* 66:2347–2358.

YU, P.; LI, S.; WHITE, P.J.; LI, C. (2015). **A large and deep roots system underlies high nitrogen use efficiency in maize production.** *PLoS ONE* 10(e0126293): e0126293.

ZHAN, A.; LYNCH, J.P. (2015). **Reduced frequency of lateral root branching improves N capture from low-N soils in maize.** *J Exp Bot* 66:2055–2065.

ZHANG, Y. D.; FAN, X.; YAO, W.; PIEPHO, H.; KANG, M. S. (2016). **Diallel analysis of four maize traits and a modified heterosis hypothesis**. *Crop Science*, Vol. 56, May – June.

ZHENG, Z.; HUANG, Y.; TIAN, M.; TAN, Z. (2007). **Mapping QTLs and epistasis for plant type traits in maize under two nitrogen levels**. *J Maize Sci* 15:14–18

ZUCARELI, C.; ALVES, G. B.; OLIVEIRA, M. A.; MACHADO, M. H. (2014). **Desempenho agronômico do milho safrinha em resposta às épocas de aplicações e fontes de nitrogênio**. *Científica*, 42:60-67.

ZUFFO, L. T. (2016). **Avaliação de Híbridos Comerciais de Milho para Caracteres Agronômicos e Eficiência na Utilização de Nitrogênio**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa.