

RODRIGO OLIVEIRA DE LIMA

**HERANÇA E CORRELAÇÃO DE CARACTERES DE RAIZ E EFICIÊNCIA DE
USO DO NITROGÊNIO EM MILHO**

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*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

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

T

L732h
2010

Lima, Rodrigo Oliveira de, 1982-

Herança e correlação de caracteres de raiz e eficiência
de uso do nitrogênio em milho / Rodrigo Oliveira de Lima.

– Viçosa, MG, 2010.

vii, 29f. : il. ; 29cm.

Orientador: Glauco Vieira Miranda.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 14-24.

1. Milho - Melhoramento genético. 2. Nitrogênio.
 3. Milho - Efeito de stress. 4. Milho - Interação
genótipo-ambiente. 5. Fatores hereditários e ambientais.
- I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 633.152

RODRIGO OLIVEIRA DE LIMA

**HERANÇA E CORRELAÇÃO DE CARACTERES DE RAIZ E EFICIÊNCIA DE
USO DO NITROGÊNIO EM MILHO**

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*.



“Se a ciência nos ensina algo, ela deveria ensinar-nos a duvidar e a questionar cada afirmação, não importando a autoridade de sua fonte.”

-Douglas Futuyama-

“Quem decidir se colocar como juiz da Verdade e do Conhecimento é naufragado pela gargalhada dos deuses.”

-Albert Einsten-

Aos meus pais, Geraldo e Norma, ao meu irmão, Ronaldo e à minha namorada, Josiane.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pelas minhas conquistas, pela família que eu tenho e por tudo que me permitiu viver e aprender.

Aos meus queridos pais, Geraldo Francisco de Oliveira e Norma Oliveira de Lima, pelo carinho, amor, preocupação, orações e por sacrificarem seus sonhos em favor dos meus. Ao meu irmão Ronaldo Francisco de Lima, pela amizade e pelos anos de convivência juntos, especialmente, na época da Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia.

À minha namorada Josiane Cristina de Assis, pelo amor, carinho, atenção e paciência durante todo esse tempo.

Aos meus primos Renato Ferreira do Prado, “Marquinho” e Gilma Ferreira, pelo incentivo, apoio, amizade e enorme ajuda nessa longa caminhada da minha vida.

A todos os professores da Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia, em especial à professora Zilda Lacerda, que me mostrou o caminho para que eu pudesse chegar até aqui.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Fitotecnia, ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pela oportunidade de realização deste curso, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Glaucio Vieira Miranda, pela amizade, orientação e, principalmente, pela enorme oportunidade de crescimento acadêmico e profissional.

Aos professores José Marcelo Soriano Viana e Pedro Crescêncio Souza Carneiro, ao pesquisador Dr. Rogério Faria Vieira, pela amizade, pelos ensinamentos e valiosas sugestões durante a elaboração desse trabalho.

Aos amigos do Programa Milho, Prof. João Carlos Cardoso Galvão, Lauro, Aurélio, Lucimar, Leandro Vagno, Birigui, Fernando, Ciro, Éder Mantovani, Marcelo, Joyce, Jéferson, Helder, Gustavo, Priscila, Júlio, Luciano, Luciana, Débora, Jardécio, Ítalo, Leandro Basf, Paulo Coutinho, Yuri (Butina), Éder Lanes, Roberto, Felipe, Rafael e José Roberto Assis de Bem, pela amizade e por todos os momentos compartilhados.

Aos amigos Evandro, Eduardo Gões, Geraldo e Felipe Lemos, da República “Conta Atrasada”, pela excelente convivência.

Enfim, um agradecimento especial aos amigos de todas as horas: Ronaldo Lima, Renato Prado, Adérico, José Eduardo, Eugênio, Geraldo, Leandro Vagno, Izabel e Roberto.

BIOGRAFIA

RODRIGO OLIVEIRA DE LIMA, filho de Geraldo Francisco de Oliveira e Norma Oliveira de Lima, nasceu em 04 de Agosto de 1982, em Santa Vitória, Minas Gerais.

Em maio de 2002, formou-se Técnico em Agrícola com Habilitação em Agropecuária pela Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia.

Em janeiro de 2008, graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG. Em março de 2003, iniciou o curso de Mestrado em Genética e Melhoramento nesta mesma instituição, sob a orientação do professor Glauco Vieira Miranda. Defendeu a dissertação de mestrado em fevereiro de 2010.

Em março de 2010, iniciou o curso de Doutorado em Genética e Melhoramento, pela Universidade Federal de Viçosa.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	vi
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
4. CONCLUSÕES.....	23
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
6. TABELAS.....	30

RESUMO

LIMA, Rodrigo Oliveira de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010.
Herança e correlação entre caracteres de raiz e eficiência de uso do nitrogênio em milho. Orientador: Glauco Vieira Miranda. Co-orientadores: Pedro Crescêncio Souza Carneiro e José Marcelo Soriano Viana.

A eficiência da adubação nitrogenada em milho não ultrapassa 50%. Entre as propostas existentes para aumentar a eficiência de uso de nitrogênio em milho destaca-se a maior absorção de nitrogênio com base em maior comprimento do sistema radicular, principalmente, em ambientes com baixa disponibilidade de nitrogênio. Assim, os objetivos desse trabalho foram: estudar a influência do nitrogênio na variabilidade genética de caracteres de raiz e eficiência do uso do nitrogênio em milho; estimar a relação e desdobrá-la em efeitos diretos e indiretos dos caracteres de raiz sobre os índices de eficiência do nitrogênio e se essas estimativas são influenciadas pela disponibilidade de nitrogênio; e estudar a herança dos efeitos gênicos que controlam os caracteres de raiz e índices de eficiência do nitrogênio em milho. Para isso, 183 progênies $F_{2:3}$, as duas linhagens genitoras, o híbrido F_1 e os dois retrocruzamentos de milho foram avaliados em casa de vegetação pertencente a Universidade Federal de Viçosa, no ano de 2009. Os 188 genótipos foram avaliados até o estágio de quatro folhas, em vasos cilíndricos de PVC preenchidos com uma mistura de areia lavada e vermiculita inerte. O experimento foi composto por um fatorial 2×188 (duas doses de nitrogênio e 188 genótipos) em blocos completos casualizados, com duas repetições. A unidade experimental correspondeu a um vaso. Foram utilizadas duas doses de N (1 mM e 15 mM): 75% na forma nítrica e 25% na forma amoniacal. Avaliaram-se os seguintes caracteres: peso de parte aérea seca, peso de raiz seca, comprimento e volume de raiz lateral e axial, eficiência de absorção, utilização e uso de nitrogênio. Conclui-se que há alteração no desempenho relativo dos genótipos de milho em virtude da diferença das doses de nitrogênio apenas para eficiência de uso do nitrogênio; os caracteres de raiz não explicam a diferença entre genótipos para eficiência do uso do nitrogênio nas duas doses utilizadas; o controle genético dos caracteres de raiz e os índices de eficiências de nitrogênio são predominantemente de efeitos não-aditivos, e a disponibilidade de nitrogênio não influencia nas estimativas de correlação, nos efeitos diretos e indiretos de caracteres de raiz sobre eficiência de uso do nitrogênio e no controle genético dos caracteres de raiz e índices de nitrogênio.

ABSTRACT

LIMA, Rodrigo Oliveira de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2010. **Inheritance and correlation between root traits and nitrogen use efficiency in maize.** Adviser: Glauco Vieira Miranda. Co-advisers: Pedro Crescêncio Souza Carneiro and José Marcelo Soriano Viana.

The efficiency of nitrogen fertilization in maize did not exceed 50%. Among the existing proposals to increase the efficiency of nitrogen use in maize stands the higher N uptake from the increase of the root system, especially in environments with low availability of N. The objectives of this work were to study the influence of nitrogen in the genetic variability of root characters and nitrogen use efficiency in maize; to estimate the relationship and unfold in such a direct and indirect effects of root traits on the indices of efficiency nitrogen and whether these estimates are influenced by nitrogen availability and identify the genetic control of root traits and indices of efficiency of nitrogen. For this, 183 F_{2,3}, two inbred lines, the F1 hybrid and the two backcrosses were evaluated in a greenhouse belonging to the Federal University of Viçosa, in the year 2009. The 188 genotypes were evaluated until the four leaf stage developed in cylindrical PVC pots filled with a mixture of sand and vermiculite inert. The experiment consisted of a 188 x 2 factorial (two levels of nitrogen and 188 genotypes) in a randomized complete block with two replications. The experimental unit corresponded to a vase. It used two levels (1 mM and 15 mM), this 75% in nitrate form and 25% as ammonium. We evaluated the following traits: shoot dry weight, root dry weight, root length and volume of lateral and axial, uptake, utilization and use nitrogen. We concluded that no change in the relative performance of genotypes of maize due to the difference in nitrogen levels only for efficient use of nitrogen; the root traits do not explain the difference between genotypes for nitrogen use efficiency in two doses nitrogen; the genetic control of root traits and indices of efficiency of nitrogen are predominantly non-additive effects and the availability of nitrogen did not influence the estimates of gene effects, of the correlation and direct and indirect effects of root traits on efficiency of use nitrogen.

1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio tem ação fundamental no metabolismo da planta, principalmente na síntese de aminoácidos e, conseqüentemente, na formação da cadeia polipeptídica. Essa é importante na produção e no teor proteico do grão (Taiz e Zeiger, 2006). No mundo, anualmente, cerca de 100 milhões de hectares são cultivados com milho. Aproximadamente 50% dessa área está em países em desenvolvimento, nos quais há predominância de condições edafoclimáticas tropicais. Geralmente, o cultivo de milho nessas regiões é feito em condições de baixa disponibilidade de nitrogênio (N) devido à baixa fertilidade natural dos solos, à pouca aplicação de fertilizantes nitrogenados e à ocorrência de seca (Monneveux *et al.*, 2005).

Quanto aos outros 50% da área cultivada com milho no mundo, o problema é a quantidade em excesso de nitrogênio. Nessas regiões, para atingir altas produtividades e atender à demanda mundial de milho, quantidades consideráveis de nitrogênio são adicionadas ao solo. Na safra 2007/8, a quantidade de nitrogênio aproximou-se das 128 milhões de toneladas (FAO, 2008). Parte do nitrogênio adicionado ao solo é perdida por volatilização e desnitrificação ou lixiviação. Dessas perdas, resultam problemas de poluição, principalmente, em agriculturas com alto nível tecnológico que chegam a aplicar mais de 300 kg ha⁻¹ de nitrogênio no solo (Cantarella e Duarte, 2004). Logo, a eficiência da adubação nitrogenada no milho não ultrapassa os 50% (Gallais e Hirel, 2004; Hirel *et al.*, 2007; Deuner *et al.*, 2008). A eficiência no uso do nitrogênio em milho é muito importante, porque permite alcançar alta produtividade com menores custos e de modo sustentável (Algren *et al.*, 2008). Moll *et al.* (1982) definiram a eficiência no uso do nitrogênio em milho como produtividade de grãos ou de parte aérea seca por unidade de nitrogênio disponível para a planta (nitrogênio no solo mais o fornecido com a adubação).

Os cultivares de milho modernos foram desenvolvidos em condições de alta fertilidade de solo, com foco em alta produtividade. Isso levou a uma redução da diversidade alélica associada à tolerância em solos com baixa fertilidade, principalmente, do nitrogênio e fósforo (Wissuwa *et al.*, 2009). Deste modo, a seleção de cultivares eficientes no uso do nitrogênio é necessária como estratégia para obter produtividade de grãos suficiente e sustentável em áreas marginais e, ainda, preservar os recursos ambientais da poluição pelo nitrato (Gallais e Coque, 2005). O germoplasma de milho selecionado em

condições ótimas de cultivo geralmente não é adequado para utilização em condições de estresses abióticos (Cecarelli, 1996; Fidelis *et al.*, 2007). Isso ocorre porque alguns genes importantes que controlam a produtividade de grãos em condições de estresses abióticos são diferentes daqueles em condições ótimas (Atlin e Frey, 1989; Souza *et al.*, 2008, 2009; Fritsche-Neto *et al.*, 2010). Em outras palavras, o melhoramento tradicional com foco em altas produtividades de grãos não melhora a eficiência no uso do nitrogênio.

Entre as propostas para aumentar a eficiência no uso do nitrogênio em milho destacam-se: aumento da atividade enzimática nas raízes (Chevalier e Scherader, 1977) e nas folhas (Hirel *et al.*, 2007; aumento do peso de planta seca produzida por unidade de nitrogênio (Maranville *et al.*, 1980); aumento da quantidade de nitrogênio total no grão (Tsai *et al.*, 1980); manipulação genética a nível de expressão de proteínas regulatórias (Cavalar *et al.*, 2007); e maior aquisição de nitrogênio do solo com base no aumento do sistema radicular, principalmente, em solos com baixa disponibilidade de nitrogênio (Worku *et al.* 2007; Dawson *et al.*, 2008; Garnett *et al.*, 2009; Bonifas & Lindquist, 2009).

Estudos relacionados com a morfologia do sistema radicular de plantas podem fornecer informações relevantes sobre a eficiência no uso do nitrogênio em cultivares de milho (Majerowicz *et al.*, 2002). Entretanto, a influência de caracteres de raiz na eficiência no uso do nitrogênio ainda é pouco conhecida. A razão disso é que há dificuldade na caracterização morfológica e funcional do sistema radicular no solo. Uma alternativa para estudar esses caracteres é conduzir experimentos em laboratório com plântulas, pois permitem rápida fenotipagem, de baixo custo e avaliação de elevado número de genótipos (Tuberosa *et al.*, 2002).

Quando são considerados dois níveis contrastantes de nitrogênio, o sistema radicular tem efeito considerável na produtividade de grãos de milho, principalmente, em baixo nitrogênio (Coque e Gallais, 2006). Alguns estudos mostram que o comportamento do sistema radicular de milho é função da disponibilidade de nitrogênio no solo. Chun *et al.* (2005) observaram que o peso de raiz seca foi superior no nível de nitrogênio, enquanto o peso de parte aérea foi inferior em relação à dose adequada de nitrogênio. Segundo esses autores, o peso da raiz seca depende da alocação de carbono da parte aérea para a raiz. Logo, em baixa disponibilidade de nitrogênio, a planta tende a ter um sistema radicular maior que objetiva aumentar a superfície de absorção do nutriente. Além disso, o comprimento total de raiz foi maior em baixo nitrogênio. Liu *et al.* (2009) avaliaram duas

linhagens de milho contrastantes quanto à eficiência no uso do nitrogênio para comparar a influência do sistema radicular nesse caráter. Os autores constataram que a linhagem com maior peso de raiz seca, no estágio de seis folhas, foi a mais eficiente no uso do nitrogênio quando no estágio de maturidade dos grãos.

Caráter como densidade de comprimento radicular, que é comprimento por volume de raiz, pode melhorar a aquisição de nitrogênio do solo pelo aumento da área de superfície da raiz sem aumento na alocação de carbono da parte aérea da planta para a raiz (Marschner, 1995). Outro caráter que pode ser importante na aquisição de nitrogênio é a profundidade do sistema radicular, pois maior camada do solo é explorada e, conseqüentemente, maiores quantidades de água e nutrientes são absorvidas (Garnett *et al.*, 2009). Segundo Chun *et al.* (2005), genótipos de milho respondem à deficiência de nitrogênio com aumento de comprimento total de raiz e com maior proliferação de raiz lateral. Em milho, a presença de regiões coincidentes de QTLs, responsáveis pela absorção de nitrogênio e pelos caracteres de raiz sugerem que uma estratégia para aumentar a eficiência no uso do nitrogênio em milho é a seleção de um sistema radicular mais eficiente na absorção de nitrogênio (Coque *et al.*, 2008).

A identificação e a quantificação dos efeitos gênicos de determinado caráter permite avaliar a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento. Os parâmetros genéticos são obtidos com base nos componentes de médias e variâncias de populações obtidas de cruzamentos, em que são conhecidos os coeficientes de parentesco entre os indivíduos e/ou progênies avaliadas (Mather & Jinks, 1982).

A investigação da base genética da variação de caracteres de raiz de milho demonstrou ser de natureza quantitativa (Rahman *et al.*, 1988, 1994). Para esses, os efeitos gênicos de natureza não aditiva demonstraram ter maior importância (Chun *et al.*, 2005; Paschold *et al.*, 2009). Apesar de os efeitos não aditivos serem importantes no controle de caracteres de raiz em milho, quando foram avaliados híbridos e seus genitores em alto e baixo nitrogênio, o padrão de heterose foi influenciado pelo estresse de nitrogênio (Chun *et al.*, 2005). Esses resultados sugerem que para melhorar os caracteres de raiz em milho é necessário avaliar as combinações híbridas em alto e baixo nitrogênio.

Os genes responsáveis pelo controle genético da eficiência do uso do nitrogênio são expressos em função da disponibilidade desse nutriente no solo (Gallais e Hirel, 2004; Souza *et al.*, 2008). Souza *et al.* (2008) observaram que, em alto nitrogênio, os efeitos

gênicos aditivos são mais importantes no controle genético da eficiência no uso do nitrogênio, enquanto em baixo nitrogênio não foi detectada diferença entre a importância dos efeitos gênicos no controle desse caráter.

Além do conhecimento da herança, as estimativas de correlações entre caracteres permitem ao melhorista conhecer as mudanças que ocorrem em determinados caracteres em função da seleção praticada em outro (Ramalho *et al.*, 1993). Apesar de a provável variação do sistema radicular de milho explicar a variação na eficiência no uso do nitrogênio (Garnett *et al.*, 2009) e na produtividade de grãos em milho (Coque *et al.*, 2008), pouco é conhecido da influência dos caracteres de raiz na eficiência no uso do nitrogênio, principalmente, em baixa disponibilidade de nitrogênio. Assim, estudos dos efeitos diretos e indiretos de caracteres de raiz na eficiência do uso do nitrogênio são importantes e necessários para que se possa entender melhor sua relevância para fins de melhoramento. Estes estudos podem ser feitos pelo uso do método denominado análise de trilha, proposto por Wright (1921), no qual se desdobram as estimativas de correlações em efeitos diretos e indiretos dos caracteres estudados sobre um caráter independente, de interesse principal.

Diante do exposto, os objetivos desse trabalho foram: estudar a influência do nitrogênio na variabilidade genética de caracteres de raiz e eficiência no uso do nitrogênio em milho; estimar a influência da disponibilidade de nitrogênio na relação entre caracteres de raiz e eficiência no uso do nitrogênio; e identificar os efeitos genéticos que controlam a herança de caracteres de raiz e eficiência no uso do nitrogênio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo, uma população de milho com 183 progênies $F_{2:3}$ segregando para caracteres de raiz e eficiência do uso do nitrogênio foi obtida pelo cruzamento entre as linhagens endogâmicas P_1 e P_2 , eficientes e não eficientes no uso do nitrogênio, respectivamente. Também foram obtidos os respectivos retrocruzamentos. O genitor P_1 foi originado da população de milho BR 106 e o genitor P_2 , da população CMS 28.

As 183 progênies $F_{2:3}$, os dois genitores, o híbrido F_1 e os dois retrocruzamentos foram avaliados na casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, no ano de 2009. Para isso, quatro sementes de cada um dos 188 genótipos de milho foram esterilizadas por um minuto em uma solução 0,5% de hipoclorito e, posteriormente, lavadas duas vezes com água deionizada. As sementes foram colocadas para germinar em bandejas de polietileno. Dois dias após o início da germinação, duas plântulas de cada genótipo foram transplantadas para vasos cilíndricos de PVC. As dimensões dos vasos foram de 0,10 m de diâmetro x 0,50 m de altura, com capacidade de 4 litros. Foram colocados em cada vaso quatro litros da mistura areia lavada:vermiculita inerte, na proporção de 1:1.

O experimento foi composto por um fatorial 2 x 188 (duas doses de nitrogênio e 188 genótipos) em blocos completos casualizados, com duas repetições. A unidade experimental correspondeu a um vaso. As plantas receberam solução nutritiva de Hoagland (Passos, 1996) modificada quanto à concentração de nitrogênio. Foram utilizadas duas doses de nitrogênio, 1 mM e 15 mM, 75% na forma nítrica e 25% na forma amoniacal, respectivamente. A aplicação da solução nutritiva foi iniciada sete dias após o transplante das plântulas de milho. Aplicaram-se 250 mL vaso⁻¹ de solução nutritiva, de dois em dois dias, em ambos os ambientes. Nos dias em que não foi fornecida solução nutritiva às plantas, elas foram irrigadas com água deionizada, mantendo-se o teor de água próximo da capacidade de campo.

As plantas foram coletadas quando apresentaram quatro folhas completamente desenvolvidas. Após a coleta das plantas, as raízes foram separadas da parte aérea. Os caracteres avaliados foram: peso de parte aérea seca (PPAS), peso de raiz seca (PRS), comprimento de raiz lateral (RLat), comprimento de raiz axial (RAXi), volume de raiz lateral (VLat), volume der raiz axial (VAXi), eficiência na absorção (EAbN), de utilização

(EUtN) e no uso do nitrogênio (EUsN). O peso de parte aérea seca foi determinado após secagem em estufa por 72 horas a 65°C, com circulação forçada de ar. O comprimento e volume de raiz foram obtidos por meio do analisador de imagens *WinRHIZO 4.1* acoplado ao scanner profissional *Epson XL 10000* equipado com unidade de luz adicional (TPU). Foi utilizada a definição de 400 dpi, como descrito por Bouma *et al.* (2000). Raízes com diâmetro inferior ou igual a 0,5 mm foram consideradas raízes laterais, aquelas com diâmetros acima de 0,5 mm, raízes axiais (Traschsel *et al.*, 2009). Nos dois ambientes após a extração de nitrogênio total da parte aérea das plantas, os índices de eficiência de nitrogênio foram obtidos (Moll *et al.*, 1982):

$$EUtN = \frac{PPAS}{CNPA} \qquad EAbN = \frac{CNPA}{NTAV} \qquad EUN = \frac{PPSA}{NTAV} = EUtN \times EAbN$$

em que:

PPAS: peso de parte aérea seca;

CNPA: conteúdo de nitrogênio total na parte aérea da planta; e

NTAV: nitrogênio total aplicado por vaso.

Foi feita a análise de variância fatorial para todos os caracteres. O modelo estatístico utilizado para análise de variância foi o de Pimentel Gomes (2000):

$$Y_{ijk} = m + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \omega_k + \varepsilon_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} : é o valor observado para a variável em estudo referente a k-ésima repetição da combinação do i-ésimo nível do fator A (genótipos) com o j-ésimo nível do fator B (dose de N);

m : é a média de todas as unidades experimentais para o carácter em estudo;

α_i : é o efeito do i-ésimo genótipo (i=1, 2, 3,..., 188) no valor observado Y_{ijk} ;

β_j : é o efeito da j-ésima dose de nitrogênio (j= 1, 2) no valor observado Y_{ijk} ;

ω_k : é o efeito do k-ésimo bloco (k=1,2) no valor observado Y_{ijk} ;

$(\alpha\beta)_{ij}$: é o efeito da interação o i-ésimo genótipo com j-ésima dose de nitrogênio no valor observado Y_{ijk} ; e

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

Apesar da condução do experimento em casa de vegetação, o delineamento em blocos foi implantado para viabilizar a coleta das plantas. As estimativas de correlação fenotípicas (r_p) entre os caracteres de raiz e as eficiências de nitrogênio foram obtidas e testadas a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t. Foi feita análise de multicolinearidade da matriz de correlação das variáveis independentes, com base no número de condição (NC), que é a relação entre o maior e o menor autovalor da matriz (Montgomery e Peck, 1981).

Posteriormente, foi feito o desdobramento das correlações fenotípicas por meio da análise de trilha (Wright, 1921), nas duas doses de nitrogênio, em efeitos diretos e indiretos dos caracteres: PRS, RLat, RAXi, VLat, VAXi (variáveis explicativas) sobre o carácter EUN (variável dependente). As herdabilidades no sentido amplo ($h^2_A = \sigma^2_G / \sigma^2_P$) e no sentido restrito ($h^2_R = \sigma^2_A / \sigma^2_P$) e os componentes de variância aditiva, devido aos efeitos de dominância e ambiental, foram estimados para todos os caracteres, à exceção de peso da parte aérea seca nas duas doses de nitrogênio (Kearsey e Pooni, 1996).

Todas as análises genético-estatísticas foram conduzidas com o auxílio do programa estatístico computacional Statistical Analysis System (SAS), versão 9.1 (SAS Institute, 2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação genótipos (G) x doses de nitrogênio (N) não foi significativa a 5% de probabilidade pelo teste F para a maioria dos caracteres, à exceção de EUN. Para EUN, os genótipos de milho tiveram desempenho diferente, dependendo da quantidade de N (Tabela 1). Resultados contraditórios quanto à interação G x N para caracteres de raiz são relatados na literatura. Interação G x N significativa para PRS, RLat e RAXi foi encontrada em linhagens de milho (Chun *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2008; Soares *et al.*, 2009) quando avaliadas em dois níveis contrastantes de disponibilidade de N no solo. Entretanto, Majerowicz *et al.* (2002) não detectaram interação G x N significativa a 10% de probabilidade para PPAS e PRS em variedades de milho. Assim, parece que a significância da interação G x N não é função apenas da quantidade de N usado para discriminar os ambientes de estresse e sem estresse de N, mas principalmente do conjunto de genótipos avaliados. Nesse trabalho, a falta de interação G x N em relação aos caracteres de raiz pode ter sido devida ao tamanho efetivo da população F_{2:3} avaliada, originada de apenas duas linhagens genitoras. Além disso, essas linhagens divergentes para a maioria dos caracteres avaliados não apresentaram interação G x N do tipo complexa quando foram selecionadas para serem as genitoras dessa população. Conseqüentemente, as progênies F_{2:3} não apresentaram mudança de desempenho de acordo com a quantidade de N disponível.

Deve-se proceder à seleção de genótipos eficientes no uso do N para ambientes específicos com relação à disponibilidade de N no solo, de modo a capitalizar a interação G x N. Isso se deve ao fato de que a expressão dos genes responsáveis pelo controle da EUN é influenciada da quantidade de N no solo disponível à planta (Bertin e Gallais, 2000). A interação G x N não significativa é indicativo de padrões de similaridade de resposta dos genótipos a quantidade de N, ou seja, a variabilidade limitada dos genótipos para interação G x N. Assim, esses genótipos poderiam ser avaliados em um único ambiente (alto ou baixo N), e as decisões tomadas para esse ambiente seriam repassadas para os demais. Nesse caso, seriam economizados recursos, mão de obra e tempo (Cruz *et al.*, 2004).

Quanto à fonte de variação para genótipos, houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) para os sete caracteres, à exceção de EUtN e VAXi (Tabela 1). Como os genótipos foram compostos por material de constituição genética diferente, a soma de quadrado de genótipos foi desdobrada em progênies, genitores, soma de retrocruzamentos + F₁ e o

contraste pais vs F_1 . Não houve diferença significativa entre os dois pais, ou seja, não foi detectada variância fenotípica entre os dois pais para todos os caracteres. Para a fonte de variação retrocruzamentos + F_1 , também não foi evidenciada diferença significativa entre os três genótipos. O efeito do contraste pais vs F_1 , que mede a superioridade do F_1 em relação aos pais, foi significativo ($P \leq 0,01$) para RLat e VLat, ou seja, para esses dois caracteres foi detectada heterose.

As progênies são diferentes significativamente apenas para RAXi, VAXi e EUtN. Deste modo, para os demais caracteres há variabilidade genética nessa população de milho, e essa população pode ser submetida a uma técnica seletiva. Resultados semelhantes são encontrados na literatura em populações de milho para caracteres de raiz (Liu *et al.*, 2008) e eficiência do uso do nitrogênio (Majerowicz *et al.*, 2002; Lima *et al.*, 2009; Ervilha *et al.*, 2009). Todos os caracteres, à exceção de VAXi, apresentaram diferença significativa, a 1% de probabilidade pelo teste F, entre as duas doses de nitrogênio. Assim, as doses de nitrogênio foram eficientes em distinguir os genótipos da população e, ainda, a diferença de nível de nitrogênio influenciou o desempenho dos genótipos nesses caracteres.

O efeito de blocos foi evidenciado para todos os caracteres, devido à colheita escalonada. Os valores do coeficiente de variação experimental (CV) foram relativamente altos, estando de acordo com valores observados para caracteres de raiz e eficiência do nitrogênio em milho no estágio de plântulas (Majerowicz *et al.*, 2002; Brito, 2009; Lima *et al.*, 2009).

Apesar de o sistema radicular ser essencial para aquisição de nitrogênio no solo, pouco é conhecido sobre a relação entre caracteres de raiz e absorção de nitrogênio, principalmente em milho. Assim, os coeficientes de correlação entre as eficiências de nitrogênio e caracteres de raiz foram estimados. As estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica (r_p) apresentaram, nas duas doses de N, magnitudes muito baixas, inferiores a 0,70 (Tabela 2). Nota-se, entretanto, que mesmo alguns valores de r_p baixos foram significativos. Isso foi devido ao alto grau de liberdade associado ao teste t, usado para testar a hipótese de nulidade da correlação entre os caracteres. Não houve correlação significativa entre EUtN e os caracteres de raiz em alto nitrogênio, entretanto, em baixo nitrogênio, a EUtN se correlacionou significativamente com todos os caracteres, com exceção de PRS. O comprimento de raiz não se correlacionou com EAbN em baixo nitrogênio. Kamara *et al.* (2002) avaliaram 18 linhagens de milho para caracteres de raiz

em baixo nitrogênio, tendo encontrado correlação positiva entre resistência de raiz e EabN e entre resistência e EUtN.

O PRS teve r_p de 0,55 e 0,66 com EAbN e EUsN em alto nitrogênio e 0,60 com EUsN em baixo nitrogênio. As correlações que envolveram PRS foram as de maiores magnitudes, e ele não se correlacionou apenas com EUtN. Todos os caracteres de raiz se correlacionaram significativamente com EAbN e EUN em alto nitrogênio. Diante das estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica, percebe-se que os caracteres de raiz tiveram maior importância para as eficiências de nitrogênio em alto nitrogênio. Esses resultados são contraditórios com alguns trabalhos encontrados na literatura (Bonifas *et al.*, 2005; Chun *et al.*, 2005). Segundo esses autores, genótipos de milho respondem à deficiência de nitrogênio pelo aumento de alocação de carbono da parte aérea para a raiz. Assim, apesar da significância dos r_p entre alguns caracteres de raiz e eficiências de nitrogênio, a utilização desses caracteres parece dispensável na seleção de genótipos mais eficientes no uso do nitrogênio.

O estudo de correlações é uma medida de associação e não permite tirar conclusões sobre o estudo da relação de causa e efeito. Por isso, procedeu-se à análise de trilha, que investiga a relação de causa e efeito e, ainda, estima o efeito da variável residual sobre a variável principal (Wright, 1921). Essa análise proporciona um conhecimento detalhado da influência dos caracteres envolvidos e justifica a existência de correlações positivas e negativas de alta e baixa magnitude entre os caracteres estudados (Silva *et al.*, 2005).

Para obtenção dos efeitos diretos e indiretos da análise de trilha, é necessário que a matriz $X'X$ seja bem condicionada. Problemas de multicolinearidade podem torná-la singular, e fazer, conseqüentemente, com que as estimativas de quadrados mínimos não sejam confiáveis (Cruz e Carneiro, 2006). O diagnóstico da multicolinearidade da matriz de correlações fenotípicas indicou $NC < 100$, o que caracteriza multicolinearidade fraca e não constitui problema para a análise de trilha.

O desdobramento das correlações fenotípicas em efeitos diretos e indiretos mostrou que eles não foram muito influenciados pela disponibilidade de nitrogênio, com exceção do volume de raiz (Tabela 3). O VLat apresentou efeito direto nulo em alto nitrogênio, enquanto em baixo nitrogênio, ele teve efeito direto de 0,255 sobre EUN. No alto nitrogênio, 75% da correlação fenotípica foi causada pelo efeito indireto de V_{Axi} via R_{axi} de sentido negativo sobre EUN. Já V_{axi} teve efeitos diretos de sentidos contrários sobre

EUN. Em alto nitrogênio, V_{Axi} apresentou efeito direto de 0,376 e, em baixo, de -0,176 sobre EUN. Os efeitos diretos de PRS sobre EUN foram os de maiores magnitudes e representaram 86 e 89% da correlação fenotípica entre PRS e EUN. Isso indica que tal correlação foi causada pelos efeitos diretos e que os demais caracteres não apresentaram contribuição considerável via indireta para EUN. O PRS apresentou efeito indireto via todos os demais caracteres em torno de 0,200 sobre EUN, em alto e baixo nitrogênio.

Os comprimentos de raiz apresentaram efeitos diretos muito baixo sobre EUN, com destaque para R_{axi}, que teve efeito direto sobre EUN negativa nas duas doses de nitrogênio. Os comprimentos de raiz tiveram maior contribuição via indireta pela PRS sobre EUN, nas duas doses de nitrogênio, à exceção de R_{axi}, que teve maior contribuição via indireta pelo V_{Axi} sobre EUN em alto nitrogênio. O efeito da variável residual sobre a variável EUN (0,730 e 0,791) foi muito superior aos efeitos das cinco variáveis explicativas (0,467 e 0,374) em alto e baixo nitrogênio, respectivamente. Portanto, os efeitos de outros caracteres que não foram incluídos no modelo explicam mais EUN do que caracteres de raiz.

O baixo efeito direto de R_{Lat} e R_{Axi} sobre a eficiência no uso de nitrogênio significa que a absorção e o uso de nitrogênio não estão correlacionados com comprimento de raiz, ou seja, a variação dos caracteres de raiz não é importante na seleção de genótipos com maior absorção de nitrogênio em plântulas de milho. Essa falta de correlação pode ser devida a dois fatores. Primeiro, porque raízes laterais são mais importantes para absorção de nutrientes pouco móveis no solo, como o P (Nye e Tinker, 1977). Para nutrientes mais móveis no solo, como NO₃⁻ e NH₄⁺, caracteres de raiz são considerados de menor importância (Burns, 1980; Jungk, 2001). Além disso, parâmetros fisiológicos como pH e temperatura são mais importantes para absorção de N do que a morfologia da raiz (Glass, 2003). Segundo, parece que comprimento de raiz é importante para absorção de nitrogênio em ambientes de seca, pois genótipos de milho mais eficientes na absorção de água modificam o padrão de alocação de C em direção à formação de raízes mais profundas (Hund *et al.*, 2009). Assim, é possível que com raízes maiores os genótipos consigam atingir maiores profundidades, onde absorvem maiores quantidades de água e junto nitrogênio, que é dependente da água para se mover no solo. Isso explica por que o melhoramento de genótipos para tolerância à seca está relacionado ao melhoramento para solos pobres em nitrogênio ou, ainda, à base genética similar em milho entre seca e

condições de baixa disponibilidade de nitrogênio no solo (Ribaut *et al.*, 2007; Craine *et al.*, 2003). No presente trabalho, o tamanho do vaso e a manutenção da capacidade de campo durante toda a realização do experimento inviabilizaram que genótipos mais eficientes na absorção de nitrogênio se diferenciasssem quanto ao comprimento de raiz. Com isso, a diferença na absorção de nitrogênio pode ser resultado da diferença de expressão de genes de transportadores de nitrogênio entre os genótipos de milho (Tian *et al.*, 2006; Shrawat *et al.*, 2008) ou, ainda, devido à associação entre as enzimas nitrato redutase e glutamina sintetase com EUN, em baixo nitrogênio (Lima *et al.*, 2010).

Nas duas doses de nitrogênio, os caracteres de raiz não são os principais determinantes de alterações em EUN em milho e, ainda, para as condições em que esse trabalho foi desenvolvido existem outros caracteres, como EAbN e EUtN, que provavelmente poderão proporcionar maiores impactos em termos de ganhos genéticos. Além disso, para o conjunto de genótipos, apenas a seleção de sistema radicular mais pesado proporcionará maiores ganhos em eficiência no uso de nitrogênio.

As seis gerações da população de milho (P₁, P₂, F₁, RC₁, RC₂ e F₃) apresentaram médias de PPAS para quase todos os caracteres de raiz maiores em alto nitrogênio, com exceção de do P₁ com média de PRS, RAXi e VAXi maior em baixo nitrogênio e o híbrido F₁ com média de PRS maior em baixo nitrogênio (Tabela 4). No baixo nitrogênio, as seis gerações de milho tiveram médias dos índices de eficiências de nitrogênio maiores que no alto nitrogênio. Resultados de linhagens de milho com maiores médias de caracteres de raiz em baixo nitrogênio são relatados na literatura (Chun *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009). Para os índices de eficiência do nitrogênio, as gerações apresentaram médias superiores no baixo nitrogênio em comparação ao alto nitrogênio. Isso pode ser devido ao fato de a baixa concentração de nitrogênio no substrato ter levado à indução de transportadores de alta afinidade de nitrogênio nas plantas (Bredemier e Mundstock, 2000). Assim, elas absorveram mais nitrogênio e, ainda, produziram maior quantidade de biomassa com menor quantidade de nitrogênio, conseqüentemente, apresentaram maior EUN em baixo nitrogênio (Liu *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2008; Ervilha *et al.*, 2009).

Para essa população de milho estudada, as médias dos genitores (P₁ e P₂) foram semelhantes para a maioria dos caracteres, com exceção de PAS e RAXi, nas duas doses de nitrogênio e EUN em alto nitrogênio (tabela 4). A média do F₁ foi superior a pelo menos um dos genitores para todos os caracteres e não apresentou heterobeltiose apenas para

RAXi e EUtN nas duas doses de nitrogênio e Vaxi no baixo nitrogênio. Os retrocruzamentos tiveram médias da maioria caracteres maiores que as dos genitores e semelhantes à média do F₁ e, ainda, suas médias tenderam para aquelas de seus respectivos genitores recorrentes. A F₃ teve média semelhante à dos genitores.

Os resultados das médias de gerações mostram que a escolha dos genitores para o presente estudo não foi contrastante, o que é um pré-requisito em análises de gerações com base componente de variâncias, como proposto por Mather e Jinks (1982). Apesar disso, há trabalhos de mapeamento de QTLs em milho conduzidos em populações F_{2:3} obtidas de genitores tidos como contrastantes, mas que não se mostram contrastantes para todos os caracteres, principalmente quando se consideram duas doses de nitrogênio (Tuberosa *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2009). Portanto, a falta diferença significativa entre os dois genitores não é um problema grave que impossibilite a estimação dos parâmetros genéticos com base nos componentes de variância.

A utilização da variância em estudos de populações segregantes permite a obtenção de estimativas dos componentes de variância, da herdabilidade e, ainda, do grau médio de dominância com menos erros associados, uma vez que os efeitos individuais de cada loco são elevados ao quadrado, assim não há possibilidades de eles se cancelarem. Além disso, permite a obtenção de estimativas da herdabilidade (Ramalho *et al.*, 1994). As estimativas do *gmd*, obtidas pelas variâncias de desvios de dominância e aditivos, revelam a existência de sobredominância no controle de RLat, RAXi e EUN em alto nitrogênio, Vaxi, EAbN e EUtN, nas duas doses de nitrogênio e PRS em baixo nitrogênio (Tabela 6). Para os demais caracteres, há existência de dominância parcial no controle de suas expressões. Assim, a maioria dos caracteres são controlados por genes cuja predominância é de efeitos gênicos não-aditivos, embora os efeitos gênicos aditivos também sejam importantes. Souza *et al.* (2008) estudaram o controle genético da EUN em milho em duas doses de nitrogênio. Em alto nitrogênio, tanto os efeitos aditivos como não-aditivos foram os responsáveis pelo controle da expressão da EUN, o mesmo não ocorreu em baixo nitrogênio. Nesse ambiente, não foi detectada significância para tipo de efeito genético no controle de EUN. Para caracteres de raiz, Paschold *et al.* (2009) observaram alto grau de heterose para comprimento e densidade de raiz lateral em plântulas de milho três dias após germinação.

As magnitudes das estimativas de herdabilidade no sentido amplo (h^2_a), à exceção de RLat e VLat em alto nitrogênio e EAbN em nitrogênio com valores inferiores a 50%, para

os demais caracteres mais da metade da variabilidade manifestada na população é de natureza genética. Assim, há confiabilidade do valor fenotípico em predizer o valor genotípico para quase todos os caracteres. As estimativas de herdabilidade no sentido restrito (h^2_r) foram superiores a 23%, à exceção de RLat em alto nitrogênio e EAbN nas duas doses de nitrogênio. As estimativas de herdabilidade para esses dois caracteres indicam que a maior parte da variabilidade manifestada na população segregante F_3 foi devida ao ambiente. Chun *et al.* (2005) avaliaram linhagens e híbridos de milho para caracteres de raiz em alto e baixo N e concluíram que o estresse de nitrogênio influenciou a expressão dos efeitos gênicos não-aditivos, quando comparado com os efeitos não aditivos em alto nitrogênio.

A diferença de disponibilidade de nitrogênio pouco influenciou as estimativas de *gmd*, apenas PRS, RLat, RAXi e EUN apresentaram diferença no efeito gênico entre as doses de nitrogênio. O RAXi e o VLat em baixo nitrogênio tiveram *gmd* muito baixo, o que indica importância dos efeitos aditivos, apesar da existência de sobredominância. O estresse de nitrogênio reduziu as magnitudes das estimativas de h^2_a do PRS e dos índices de eficiências do nitrogênio, enquanto para os outros caracteres observou-se aumento nessas estimativas em baixo nitrogênio. Destaca-se Vaxi com h^2_A quatro vezes maior em baixo nitrogênio que a apresentada em alto nitrogênio. É relatada pouca alteração em estimativas de herdabilidade ou no coeficiente de determinação, que também é uma medida de acurácia, para caracteres de raiz em milho quando são consideradas doses contrastantes de fósforo (Vaz de Melo, 2008; Brito, 2009), alumínio (Boni *et al.*, 2009) e nitrogênio (Lima *et al.*, 2010). Assim, a aplicação de métodos de melhoramento para caracteres de raiz de milho em baixo nitrogênio permite a obtenção de ganhos genéticos com a seleção iguais ou superiores àqueles obtidos em condições normais de cultivo. Nas duas doses de nitrogênio, os efeitos genéticos não-aditivos foram mais importantes no controle dos caracteres, os quais apresentaram significativa heterose. Deste modo, a seleção para esses caracteres deve ser feita com base nas combinações híbridas.

A falta de interação genótipos x doses de nitrogênio mostra que o melhoramento para caracteres de raiz em milho pode ser realizado apenas em alto nitrogênio. Contudo, para EUN em ambientes com baixo nitrogênio, eles devem ser considerados. Os caracteres de raiz mostraram não ter importância para eficiência no uso de nitrogênio e seus componentes, ou seja, é provável que caracteres fisiológicos estejam mais relacionados à

eficiência no uso do nitrogênio em ambientes com baixo nitrogênio do que caracteres de raiz (Paponov *et al.*, 2005; Lima *et al.*, 2010) ou, ainda, a maior EUN está relacionada à maior expressão de genes de transportadores de nitrogênio, presentes nas raízes (Shrawat *et al.*, 2008; Tian *et al.*, 2006). Quanto ao controle dos caracteres de raiz e índices de eficiências de nitrogênio, os efeitos não-aditivos são predominantes no seu controle, entretanto, a importância dos efeitos aditivos não deve ser desconsiderada.

4. CONCLUSÕES

Há alteração no desempenho relativo dos genótipos de milho em virtude da diferença das doses de nitrogênio apenas para eficiência de uso do nitrogênio.

Os caracteres de raiz não explicam a diferença entre genótipos para eficiência do uso do nitrogênio, nas duas doses de nitrogênio.

O controle genético dos caracteres de raiz e índices de eficiência de nitrogênio são predominantemente de efeitos não-aditivos.

A disponibilidade de nitrogênio não influencia nas estimativas de correlação, nos efeitos diretos e indiretos de caracteres de raiz sobre eficiência de uso do nitrogênio e no controle genético dos caracteres de raiz e índices de nitrogênio.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALGREN, S. *et al.* Ammonium nitrate fertilizer production based on biomass – environmental effects from a life cycle perspective. *Bioresource Technology*, n. 99, p.8034-8041, 2006.
- ATLIN, G. N.; FREY, K. J. Breeding crop varieties for low-input agriculture. *American Journal of Alternative Agriculture*, v.2, p.53-66, 2000.
- BERTIN, P.; GALLAIS, A. Genetic variation for nitrogen use efficiency in a set of recombinant inbred lines: I. Agrophysiological results. *Maydica*, v.45, p.53–66, 2000.
- BONI, T. A. *et al.* Inheritance of aluminum tolerance in maize. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.9, p.150-156, 2009.
- BONIFAS, K. D.; LINDQUIST, J. L. Effects of Nitrogen Supply on the Root Morphology of Corn and Velvetleaf. *Journal of Plant Nutrition*, v.32, p.1371–1382, 2009.
- BONIFAS, K. D. *et al.* Nitrogen supply affects root:shoot ratio in corn and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Weed Science*, v.53, p.670–675, 2005.
- BOUMA, T. J. *et al.* Sample preparation and scanning protocol for computerized analysis of root length and diameter. *Plant and Soil*, n.218, p.185-196, 2000.
- BREDEMIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação de nitrogênio nas plantas. *Ciência Rural*, v.30, p.365-372, 2000.
- BRITO, C. M. **Variabilidade genética e caracterização do sistema radical de plantas de milho na eficiência de absorção e utilização de fósforo.** 2009. 28p. (Tese de Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BURNS, I. G. Influence of the spatial distribution of nitrate and the uptake of N by plants: a review and a model for rooting depth. *Journal of Soil Science*, v.31, p.155–173, 1980.
- CAVALAR, M. A drastic reduction in DOF1 transcript levels does not affect C4-specific gene expression in maize. *Journal of Plant Physiology*, v.164, p.1665-1674, 2010.
- CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Manejo da fertilidade do solo para cultura do milho. In: *Tecnologias de Produção de Milho*. Eds: Galvão, J. C. C.; Miranda, G. V. Viçosa, UFV, 2004.

- CECARELLI, S. Adaptation to low/high input cultivation. *Euphytica*, v.92, p.203-214, 1996.
- COQUE, M.; GALLAIS, A. Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, v.112, p.1205-1220, 2006.
- COQUE, M. *et al.* Genetic variation for N-remobilization and postsilking N-uptake in a set of maize recombination inbred lines. 3.QTL detection and coincidences. *Theoretical and Applied Genetics*, v.118, p.729-747, 2008.
- CHEN, J. *et al.* Identification of QTLs for phosphorus utilization efficiency in maize (*Zea mays* L.) across P levels. *Euphytica*, v.2, p.245-252, 2009.
- CHEVALIER, P.; SCHRADER, L. E. Genotypic differences in nitrate absorption and partitioning of N among plant parts in maize. *Crop Science*, v.17, p.897-901, 1977.
- CHUN, L. *et al.* Genetic analysis of maize root characteristics in response to low nitrogen stress. *Plant and Soil*, n.276, p.369-382, 2005.
- CRAINE, J. M. *et al.* Relationship between the structure of root systems and resource use for 11 North American grassland plants. *Plant Ecology*, n.165, p.85-100, 2003.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. *Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético*, vol. 2, 2ª edição: Editora UFV, 2006.
- CRUZ, C. D. *et al.* *Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético*, vol. 1, 3. ed.: Editora UFV, 2004.
- DAWSON, J.C. *et al.* Characterizing nitrogen use efficiency in natural and agricultural ecosystems to improve the performance of cereal crops in low-input and organic agricultural systems. *Field Crops Research*, v.107, p.89–101, 2008.
- DEUNER, S. *et al.* Adubação foliar e via solo de nitrogênio em plantas de milho em fase inicial de desenvolvimento. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, v.5, p.1359-1365, 2008.
- ERVILHA, J. D. C. *et al.* Atividades enzimáticas e eficiência de uso do nitrogênio em linhagens de milho. In: V CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2009. Guarapari. **Anais...** Guarapari: SBMP, 2009.
- FAO. Current World Fertilizer Trends and Outlook to 2011/12. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 2008.

- FIDELIS, R. R. *et al.* Fontes de germoplasma de milho para estresse de baixo nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.3, p.147-153, 2007.
- GALLAIS, A.; COQUE, M. Genetic variation and selection for nitrogen use efficiency in maize: a synthesis. *Maydica*, v.50, p.531-547, 2005.
- FRITSCHÉ-NETO, R. *et al.* Herança de caracteres associados à eficiência de utilização do fósforo em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.45, p.465-471, 2010.
- GALLAIS, A.; HIREL, B. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Experimental Botany*, v.396, p.295-306, 2004.
- GARNETT, T. *et al.* Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants. *Plant, Cell and Environment*, v.32, p.1272-1283, 2009.
- GLASS, A. D. M. Nitrogen use efficiency of crop plants: physiological constraints upon nitrogen absorption. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v.22, p.453-470, 2003.
- HIREL, B. *et al.* The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany*, v.58, p.2369-2387, 2007.
- HUND, A. *et al.* Rooting depth and water use efficiency of tropical maize inbred lines, differing in drought tolerance. *Plant Soil*, v.318, p.311-325, 2009.
- KAMARA, A. Y. *et al.* The relationship between vertical root-pulling resistance and nitrogen uptake and utilization in maize breeding lines. *Maydica*, v.47, p.135-140, 2002.
- KEARSEY, M. J.; POONI, H. S. The genetical analysis of quantitative traits. Chapman and Hall, London, 381p. 1996.
- JUNGK, A. Root hairs and the acquisition of plant nutrients from soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, v.164, p.121-129, 2001.
- LIMA, R. O. *et al.* Variabilidade genética em plântulas de milho quanto à eficiência do uso do nitrogênio em duas doses de nitrogênio. In: V CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2009. Guarapari. **Anais...** Guarapari: SBMP, 2009.
- LIMA, R.O. *et al.* Absorção e Utilização de Nitrogênio e Atividade da Glutamina Sintetase e Nitrato Redutase em Milho. In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 2010. Guarapari. **Anais...** Goiânia: ABMS, 2010.

- LIU, J. *et al.* Mapping QTLs for root traits under different nitrate levels at the seedling stage in maize (*Zea mays* L.). *Plant Soil*, v.305, p.253-265, 2008.
- LIU, J. *et al.* Root size and nitrogen-uptake activity in two maize (*Zea mays*) inbred lines differing in nitrogen-use efficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v.172, p.230-236, 2009.
- LIU, Z. H. *et al.* QTL mapping of nutrient components in maize kernels under low nitrogen conditions. *Plant Breeding*, v.127, p.279-285, 2008.
- MAJEROWICZ, N. *et al.* Estudo da eficiência de uso do N em variedades locais e melhoradas de milho. *Revista Brasileira Botânica*, v.25, p.129-136, 2002.
- MARANVILLE, J.W.M. *et al.* Nitrogen efficiency in grain sorghum. *Journal Plant Nutrition*, v.2, p.577-589, 1980.
- MARSCHNER, H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd edition, Academic Press, London, UK, 1995.
- MATHER, K.; JINKS, J. L. *Biometrical and analysis*. 3rd edition. Chapman and Hali, London, 396p. 1982.
- MOLL, R. H. *et al.* Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. *Agronomy Journal*, Madison, v.74, p.562-564, 1982.
- MONNEVEUX, P. *et al.* Population Density and Low Nitrogen affects yield – Associated traits in tropical Maize. *Crop Science*, v.45, p.535-545, 2005.
- NYE, P. H.; TINKER, P. B. *Solute Movement in the Soil–Root System*. University of California Press, Berkeley, CA, USA. 1977.
- MONTGOMERY, D. C.; PECK, E. A. *Introduction to linear regression analysis*. New York: J. Willey, 1981. 504p.
- PAPONOV, I. A. *et al.* Grain yield and kernel weight of two maize genotypes differing in nitrogen use efficiency at various levels of nitrogen and carbohydrate availability during flowering and grain filling. *Plant and Soil*, v.272, p.111-123, 2005.
- PASCHOLD, A. *et al.* Molecular dissection of heterosis manifestation during early maize root development. *Theoretical and Applied Genetics*, v.2, p.383-388, 2010.
- PASSOS, L. P. *Métodos analíticos e laboratórios em fisiologia vegetal*. EMBRAPA. Coronel Pacheco – MG. 1996.

- PIMENTEL-GOMES, F. Curso de estatística experimental, 14^a Edição. Piracicaba – SP, 2000. 477p.
- RAHMAN, H. *et al.* Diallel analysis for seedling root characteristics in maize. *South Dakota Academy of Science*, v.67, p.19-27, 1998.
- RAHMAN, H. *et al.* Generation mean analysis of seedling root characteristics in maize (*Zea mays* L.). *Maydica*, v.39, p.177-181, 1994.
- RAMALHO, M. A. P. *et al.* *Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro*. Goiânia: UFG, 1993. 271p.
- RIBAUT, J. M. *et al.* Quantitative trait loci for yield and correlated traits under high and low soil nitrogen conditions in tropical maize. *Molecular Breeding*, v.20, p.15–29, 2007.
- SAS INSTITUTE, SAS/STAT software versão 9.1, Cary, 2003.
- SHRAWAT, A. K. *et al.* Genetic engineering of improved nitrogen use efficiency in rice by the tissue-specific expression of alanine aminotransferase. *Plant Biotechnology Journal*, v.6, p.722-732, 2008.
- SILVA, S. A. *et al.* Análise de trilha para os componentes de rendimento de grãos em trigo. *Bragantia*, v.64, p.191-196, 2005.
- SOARES, M. O. *et al.* Discriminação de linhagens de milho quanto à utilização de nitrogênio, por meio da avaliação de características do sistema radicular. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.1, 93-103, 2009.
- SOUZA, L. V. *et al.* Genetic control of grain yield and nitrogen use efficiency in tropical maize. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.43, p.1517-1523, 2008.
- SOUZA, L. V. *et al.* Combining ability of maize grain yield under different levels of environmental stress. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.44, p.1297-1303, 2009.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant Physiology*, 4th edition, Sinauer Associates, Sunderland, 2006. 764p.
- TIAN, Q.Y. *et al.* 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, 2006.
- TRACHSEL, S. *et al.* Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. *Theoretical and Applied Genetics*, v.119, p.1413–1424, 2009.

- TSAI, C.L. *et al.* Effects of source supply and sink demand on the carbon and nitrogen ratios in maize kernels. *Maydica*, v.35, p.391-397, 1980.
- TUBEROSA, R. *et al.* Identification of QTLs for root characteristics in maize grown in hydroponics and analysis of their overlap with QTLs for grain yield in the field at two water regimes. *Plant Molecular Biology*, v.48, p.697-712, 2002.
- VAZ DE MELO, A. *Seleção precoce e fenotipagem do sistema radicular de linhagens de milho em função de nitrogênio e fósforo*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG, 2008, 67p.
- WISSUWA, M. *et al.* Novel approaches in plant breeding for rhizosphere-related traits. *Plant and Soil*, v.2, p.409-430, 2009.
- WORKU, M. *et al.* Nitrogen Uptake and Utilization in Contrasting Nitrogen Efficient Tropical Maize Hybrids. *Crop Science*, v.47, p.519-528, 2007.
- WRIGHT, S. Correlation and causation. *Journal of Agricultural Research*, v.20, p.557-585, 1921.

Tabela 1. Resumo da análise da variância para os seguintes caracteres: peso de parte aérea seca (PAS, gramas), peso de raiz seca (PRS, gramas), comprimento de raiz lateral (RLat, m) e axial (RAxi, m), volume de raiz lateral (VLat, cm³) e axial (Vaxi, cm³), eficiência de absorção de nitrogênio (EAbN), utilização de nitrogênio (EUt) e de uso de nitrogênio (EUN) dos 188 genótipos de milho avaliados em duas doses de nitrogênio

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio								
		PAS	PRS	RLat	RAxi	VLat	VAXi	EAbN	EUtN	EUsN
Blocos	1	0,147*	8,74**	40870,40**	36273,63**	197,85**	43744,12**	0,04**	2735,71*	394,174**
Nitrogênio	1	17,46**	0,33**	8462,55**	244,95*	35,14**	173,32 ^{ns}	7,84**	41739,77**	13785,20**
Genótipos	187	0,08**	0,03**	273,53**	72,79*	1,99**	76,78 ^{ns}	0,02**	102,02 ^{ns}	12,99**
Progênes	182	0,050**	0,021**	202,689**	70,678 ^{ns}	1,721*	72,377 ^{ns}	0,012*	102,968 ^{ns}	9,225**
Pais	1	0,092 ^{ns}	0,002 ^{ns}	17,633 ^{ns}	227,448 ^{ns}	0,010 ^{ns}	96,550 ^{ns}	0,001 ^{ns}	10,985 ^{ns}	9,020 ^{ns}
(Retroc. + F ₁)	2	0,006 ^{ns}	0,008 ^{ns}	411,744 ^{ns}	23,403 ^{ns}	2,347 ^{ns}	87,410 ^{ns}	0,018 ^{ns}	156,587 ^{ns}	4,448 ^{ns}
Pais vs F ₁	1	0,032 ^{ns}	0,010 ^{ns}	92,155**	55,502 ^{ns}	9,103**	19,433 ^{ns}	0,020 ^{ns}	62,181 ^{ns}	8,696 ^{ns}
G x N	187	0,023 ^{ns}	0,007 ^{ns}	138,498 ^{ns}	44,010 ^{ns}	1,118 ^{ns}	52,790 ^{ns}	0,011 ^{ns}	108,325 ^{ns}	8,517**
Resíduo		0,025	0,014	155,518	57,389	1,350	68,258	0,037	0,010	5,987
CV (%)		30,46	28,87	41,74	41,84	57,04	46,29	51,65	32,58	38,45
Média		0,52	0,41	29,87	18,10	2,04	17,85	0,19	31,81	6,36

^{ns} não significativo pelo teste F, * significativo a 5% e ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 2. Estimativas de correlações simples entre caracteres peso de raiz seca (PRS, gramas), comprimento de raiz lateral (RLat, m) e axial (RAXi, m), volume de raiz lateral (VLat, cm³), e axial (Vaxi, cm³), eficiência de absorção do nitrogênio (EAbN), utilização do nitrogênio (EUt) e de uso do nitrogênio (EUN) dos 188 genótipos de milho avaliados em duas doses de nitrogênio

Caracteres	EAbN ¹	EAbN ²	EUtN ¹	EUtN ²	EUsN ¹	EUsN ²
PRS	0,55**	0,38**	-0,01 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,66**	0,60**
RLAt	0,36**	0,10 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,47**	0,32**	0,27**
RAXi	0,27**	-0,04 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,49**	0,29**	0,16*
VLAT	0,40**	0,15*	-0,12 ^{ns}	0,45**	0,34**	0,33**
VAXI	0,36**	-0,04 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,42**	0,41**	0,14 ^{ns}

** , * , ^{ns} significativo a 1%, significativo a 5% e não significativo a 5% de probabilidade pelo teste t, respectivamente.

^{1/} Estimativas de correlações obtidas em alto nitrogênio; ^{2/} Estimativas de correlações obtidas em baixo nitrogênio.

Tabela 3. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos que envolvem a variável principal dependente eficiência de uso do nitrogênio (EUN) e as variáveis independentes explicativas: peso de raiz seca (PRS, gramas), comprimento de raiz lateral (RLat, m) e axial (RAxi, m), volume de raiz lateral (VLat, cm³) e axial (Vaxi, cm³), eficiência de absorção do nitrogênio (EAbN), utilização do nitrogênio (EUt) e de uso do nitrogênio (EUN) dos 188 genótipos de milho avaliados em duas doses de nitrogênio

Caráter	Efeitos de Associação	Estimativas	
		Alto N	Baixo N
PRS	Direto sobre EUsN	0,563	0,533
	Indireto via RLat	0,060	0,028
	Indireto via RAxi	-0,135	-0,058
	Indireto via VLat	-0,003	0,098
	Indireto via Vaxi	0,172	-0,081
	Total	0,657	0,597
RLat	Direto sobre EUsN	0,161	0,075
	Indireto via PRS	0,210	0,201
	Indireto via RAxi	-0,262	-0,137
	Indireto via VLat	-0,006	0,250
	Indireto via Vaxi	0,218	-0,128
	Total	0,321	0,272
Raxi	Direto sobre EUsN	-0,362	-0,152
	Indireto via PRS	0,210	0,205
	Indireto via RLat	0,116	0,067
	Indireto via VLat	-0,004	0,217
	Indireto via Vaxi	0,330	-0,156
	Total	0,290	0,159
VLat	Direto sobre EUsN	-0,006	0,255
	Indireto via PRS	0,232	0,204
	Indireto via RLat	0,153	0,073
	Indireto via RAxi	-0,256	-0,129
	Indireto via Vaxi	0,216	-0,114

	Total	0,340	0,326
Vaxi	Direto sobre EUsN	0,376	-0,174
	Indireto via PRS	0,257	0,250
	Indireto via RLat	0,094	0,055
	Indireto via RAXi	-0,318	-0,136
	Indireto via VLat	-0,004	0,168
	Total	0,405	0,137
	Coeficiente de determinação	0,467	0,374
	Efeito da variável residual	0,730	0,791

Tabela 4. Médias dos dois genitores, do F₁, das progênes F_{2:3} e dos retrocruzamentos para os nove caracteres avaliados nos 188 genótipos em duas doses de nitrogênio

Gen.	PAS	PRS	RLat	RAxi	VLat	Vaxi	EAbN	EUtN	EUN
Alto Nitrogênio									
P1	0,53±0,02	0,35±0,02	26,97±1,53	17,16±0,91	1,91±0,10	14,78±0,64	0,07 ±0,00	23,47±1,70	1,58±0,05
P2	0,67±0,04	0,36±0,02	29,08±3,07	14,18±1,51	1,97±0,23	13,72±1,45	0,08±0,01	22,89±2,14	1,86±0,13
F1	0,97±0,06	0,56±0,02	46,57 ± 6,33	19,55±2,41	3,24±0,57	18,86 ±2,87	0,12±0,01	26,13±2,79	2,92±0,19
RC ₁	1,10±0,10	0,58±0,03	47,99±2,70	22,18±2,10	3,18±0,25	24,33±2,19	0,14±0,01	23,64±1,29	3,26±0,31
RC ₂	1,08±0,05	0,62±0,02	56,43±5,32	21,99±1,63	3,73±0,40	21,38±1,15	0,14±0,00	23,23±0,97	3,04±0,12
F3	0,63±0,01	0,42±0,01	31,62±0,77	18,06±0,41	2,14±0,05	17,57±0,41	0,08±0,00	23,94±0,44	1,86±0,03
Baixo Nitrogênio									
P1	0,35±0,03	0,38±0,03	22,84±2,87	18,28±3,09	1,72±0,21	15,63±2,87	0,29±0,03	39,22±3,35	10,52±0,81
P2	0,41±0,03	0,33±0,03	23,38±0,75	11,72±1,13	1,59±0,07	10,48±1,21	0,30±0,03	41,89±1,27	12,13±0,83
F1	0,60±0,03	0,61±0,05	44,02±1,13	18,73±0,78	3,12±0,09	16,02±1,36	0,51±0,05	36,27±3,39	17,29±0,81
RC ₁	0,54±0,01	0,56±0,03	30,04±1,58	16,14±0,86	1,93±0,06	18,79±1,71	0,37±0,03	47,20±2,87	16,40±0,47
RC ₂	0,68±0,04	0,48±0,06	30,98±6,94	12,45±3,92	2,02±0,41	10,15±5,42	0,67±0,06	31,63±1,83	20,09±1,26
F3	0,33±0,01	0,37±0,01	24,72±0,63	16,81±0,39	1,64±0,07	16,87±0,41	0,26±0,01	38,36±0,62	9,99±0,21

Tabela 5. Estimativas das variâncias aditivas ($\hat{\sigma}^2_A$), devidas à dominância ($\hat{\sigma}^2_D$), ambiental ($\hat{\sigma}^2_E$), das herdabilidades no sentido amplo (h^2_a) e restrito (h^2_r) e ao grau médio de dominância (*gmd*)

Caráter	Parâmetros					
	$\hat{\sigma}^2_A$	$\hat{\sigma}^2_D$	$\hat{\sigma}^2_E$	h^2_a	h^2_r	<i>gmd</i>
PRS ¹	0,0059	0,0008	0,0018	784,804	690,240	0,524
PRS ²	0,0114	0,0064	0,0067	725,553	465,378	10,574
RLat ¹	127,925	70,093	960,487	170,926	110,422	10,468
RLat ²	136,531	53,781	185,947	505,800	362,865	0,8876
RAxi ¹	137,481	75,675	165,038	563,615	363,520	10,492
RAxi ²	838,759	62,068	212,068	809,444	753,672	0,3847
VLat ¹	0,1853	0,0250	0,7131	227,769	200,663	0,5198
VLat ²	0,7802	0,0225	0,1071	882,308	857,560	0,2402
Vaxi ¹	115,655	176,392	199,349	594,321	235,359	17,465
Vaxi ²	116,411	126,386	214,229	531,255	254,715	14,736
EAbN ¹	4,30E-05	2,68E-04	2,67E-04	538,062	74,394	35,306
EAbN ²	2,85E-04	1,91E-03	8,19E-03	211,611	27,438	36,640
EUtN ¹	555,798	487,640	282,102	787,180	419,300	13,247
EUtN ²	508,761	257,239	447,664	631,147	419,194	10,056
EUN ¹	0,1765	0,1071	0,1025	734,567	457,153	11,017
EUN ²	40,914	14,639	37,157	599,213	441,310	0,846

¹Estimativas de parâmetros obtidas no alto nitrogênio; ² Estimativas de parâmetros obtidas no baixo nitrogênio.