

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**MILHO ALTO ÓLEO – PARÂMETROS GENÉTICOS,  
CORRELAÇÕES ENTRE MODELOS FIXO E MISTO  
E SELEÇÃO.**

**Otávio Briganti Solferini  
Engenheiro Agrônomo**

**JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL  
Junho de 2010**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**MILHO ALTO ÓLEO – PARÂMETROS GENÉTICOS,  
CORRELAÇÕES ENTRE MODELOS FIXO E MISTO  
E SELEÇÃO.**

**Otávio Briganti Solferini**

**Orientador: Prof. Dr. José Roberto Moro  
Co-orientador: Dr. Heyder Diniz Silva**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).**

**JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL**

**Junho 2010**

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**OTÁVIO BRIGANTI SOLFERINI** – Nascido em São Paulo, SP em vinte e sete de Agosto de um mil novecentos e cinquenta e cinco. Engenheiro Agrônomo formado pela Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz” – ESALQ/USP em 1977. Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas em 1980, pela ESALQ/USP. Em 1979 ingressou na Dekalb Agrícola do Brasil, Ltda., como melhorista de milho para a região central do Brasil. Em 1982 passou a gerente geral de pesquisa da mesma empresa com atribuições em vários países da América do Sul. Em 1999 ingressou na Monsanto do Brasil Ltda. como gerente do programa de milho alto óleo do projeto Renessen para o Brasil. Em 2007 assumiu o programa de desenvolvimento de linhagens e híbridos de milho para a região com altitudes abaixo de 700 m no cerrado e para a safrinha.

*Para a realização de um sonho*

*o tempo é uma mera formalidade !*

**Aos meus pais, Ida e Romeu**

**...pelo amor, carinho, amor e apoio incondicional...**

**DEDICO**

**A minha esposa Nilza e a meus filhos Bruno e André...**

**.... pela compreensão, carinho e apoio...**

**OFEREÇO**

## **AGRADECIMENTOS**

*À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP- Campus de Jaboticabal, que me concedeu estrutura para a realização do curso.*

*À Monsanto pelo apoio e fomento.*

*Aos meus orientadores Prof. Dr José Roberto Moro e Dr. Heyder Diniz Silva pela paciência, apoio e ensinamentos recebidos.*

*Ao José Reinaldo de Moraes pelo apoio na coleta dos dados dos ensaios*

*À Carolina Messias Silva pelo apoio na coleta dos dados no grão e embrião.*

*A todos aqueles que de forma direta ou indireta me ajudaram realizar este trabalho.*

<b>SUMÁRIO</b>	<b>Página</b>
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>1</b>
<b>1 - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 - REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1- Milho alto óleo.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 - Utilização do milho alto óleo.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2.1– Utilização na ração animal .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2.2 - Utilização industrial.....</b>	<b>6</b>
<b>2.3 - Síntese de ácidos graxos em vegetais.....</b>	<b>7</b>
<b>2.4 - Base genética do caráter alto óleo.....</b>	<b>9</b>
<b>2.5 - Cultivares de milho alto óleo.....</b>	<b>12</b>
<b>2.6 - Técnicas de detecção da composição Nutricional do grão de milho .....</b>	<b>14</b>
<b>2.6.1- Método do infravermelho próximo por refletância – NIR.....</b>	<b>14</b>
<b>2.6.2- Ressonância nuclear magnetica – NMR.....</b>	<b>16</b>
<b>2.6.3- Ressonância nuclear de imagem – MRI .....</b>	<b>16</b>
<b>2.7 - Método dos duplo haplóides para obtenção de linhagens         homozigóticas .....</b>	<b>17</b>
<b>2.8 - Seleção de caracteres quantitativos e correlações.....</b>	<b>19</b>
<b>2.9. Estimativa de parâmetros genéticos.....</b>	<b>21</b>
<b>2.9.1. Herdabilidade.....</b>	<b>22</b>
<b>2.10. Correlações entre caracteres.....</b>	<b>23</b>
<b>2.11. – Seleção indireta.....</b>	<b>26</b>
<b>2.12. Estimadores REML/BLUP de componentes de variância.....</b>	<b>28</b>
<b>3 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>33</b>

<b>CAPÍTULO 2 - SELEÇÃO PARA ALTO ÓLEO EM MILHO VIA DIMENSÕES DO EMBRIÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>46</b>
<b>1- INTRODUÇÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>2- MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>48</b>
<b>3- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>4- CONCLUSÕES.....</b>	<b>61</b>
<b>5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>

<b>CAPÍTULO 3 - ORDENAÇÃO, SELEÇÃO E PARÂMETROS GENÉTICOS DO CARÁTER “ALTO ÓLEO” EM MILHO.....</b>	<b>67</b>
--	-----------

<b>3.1: ORDENAÇÃO, SELEÇÃO E PARÂMETROS GENÉTICOS DO CARÁTER “ALTO ÓLEO” EM MILHO AVALIADO POR METODOLOGIAS DE MODELO FIXO MISTO EM CONJUNTOS DE ENSAIOS BALANCEADOS.....</b>	<b>67</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>67</b>
<b>1 - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>68</b>
<b>2 - MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>69</b>
<b>2.1- Metodologia Tradicional.....</b>	<b>73</b>
<b>2.2- Metodologia de modelos mistos com estrutura residual homogênea.....</b>	<b>74</b>
<b>2.3- Metodologia de modelos mistos com estrutura residual heterogênea.....</b>	<b>75</b>
<b>2.4-Parâmetros de comparação entre modelos.....</b>	<b>76</b>
<b>3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>77</b>
<b>4 - CONCLUSÃO.....</b>	<b>91</b>
<b>5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>91</b>

<b>3.2 - ORDENAÇÃO, SELEÇÃO E PARÂMETROS GENÉTICOS DO CARÁTER “ALTO ÓLEO” EM MILHO AVALIADO POR METODOLOGIAS DE MODELO FIXO E MISTO EM ENSAIOS SEMI BALANCEADOS.....</b>	<b>95</b>
--	-----------



<b>RESUMO.....</b>	<b>95</b>
<b>1-INTRODUÇÃO.....</b>	<b>95</b>
<b>2-MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>97</b>
<b>2.1- Metodologia tradicional.....</b>	<b>101</b>
<b>2.2- Metodologia de modelos mistos com estrutura residual homogênea.....</b>	<b>102</b>
<b>2.3- Metodologia de modelos mistos com estrutura residual heterogênea.....</b>	<b>103</b>
<b>2.4-Parâmetros de comparação entre modelos.....</b>	<b>104</b>
<b>3-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>105</b>
<b>4-CONCLUSÕES.....</b>	<b>120</b>
<b>5-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>120</b>
<b>3.3. ORDENAÇÃO, SELEÇÃO E PARÂMETROS GENÉTICOS DO CARÁTER “ALTO ÓLEO” EM MILHO AVALIADO POR METODOLOGIAS DE MODELO MISTO E O ÍNDICE “OILCK” EM ENSAIOS NÃO BALANCEADOS.....</b>	<b>124</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>124</b>
<b>1-INTRODUÇÃO.....</b>	<b>124</b>
<b>2-MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>126</b>
<b>2.1- Metodologia de modelos mistos com estrutura residual homogênea.....</b>	<b>130</b>
<b>2.2- Metodologia de modelos mistos com estrutura residual heterogênea.....</b>	<b>132</b>
<b>2.3-Parâmetros de comparação entre modelos.....</b>	<b>132</b>
<b>2.4- Índice OILCK.....</b>	<b>133</b>
<b>3-RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>133</b>
<b>4-CONCLUSÃO.....</b>	<b>141</b>
<b>5-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>142</b>

## **MILHO ALTO ÓLEO – PARÂMETROS GENÉTICOS, CORRELAÇÕES ENTRE MODELOS FIXO E MISTO E SELEÇÃO .**

**RESUMO** - As correlações entre os componentes das dimensões do grão e do embrião, com o caráter alto óleo, no grão de milho, foram obtidas a partir de 250 linhagens de milho com diferentes teores de óleo, tendo como objetivo encontrar a melhor variável para seleção indireta e com a maior resposta correlacionada para o caráter porcentagem de óleo no grão de milho. As correlações genóticas entre os caracteres foram desdobrados em efeitos diretos e indiretos, via análise de trilha. Os caracteres com as maiores correlações foram os componentes da dimensão do embrião e, dentre estes, o comprimento do embrião foi o que obteve a maior correlação direta e indireta e forneceu a resposta correlacionada mais próxima da seleção direta no caráter porcentagem de óleo no grão. As 315 linhagens irmãs de milho com diferentes teores de óleo no grão, produzidas pela técnica de duplo haplóides, foram testadas em sete ensaios avaliados dentro de seis ambientes no Brasil Central de forma balanceada e não balanceada. Foram avaliadas três metodologias para a estimativa dos parâmetros genéticos, a metodologia tradicional, a metodologia REML/BLUP com variância homogênea (BLUP Homo), a metodologia RML/BLUP com variância heterogênea (BLUP Hetero). A metodologia BLUP Homo estimou os mesmos valores das variâncias genética, da interação genótipo por ambiente, do erro e da herdabilidade que a metodologia tradicional quando os dados foram balanceados. BLUP Hetero apresentou menor estimativa da variância da interação genótipo por ambiente, maior estimativa da variância genética e maior estimativa da herdabilidade. As metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero mostraram maior poder de discriminação das estimativas da porcentagem de óleo nos grãos. A metodologia BLUP Hetero apresentou as menores estimativas do desvio padrão da média, mostrando maior poder de separação das estimativas do que as outras metodologias testadas. A substituição dos genótipos selecionados pela metodologia tradicional pelos selecionados pela metodologia BLUP Homo e BLUP Hetero deveu-se à menor variância das estimativas dentro e entre locais.

**Palavras Chave:** Milho Alto Óleo; Modelos Mistos; REML/BLUP, correlação, seleção indireta.

## **HIGH OIL CORN – GENETIC PARAMETERS, CORRELATION OF FIXED AND MIXED MODELS AND SELECTION.**

**SUMMARY** - The feed and oil industries have a very high expectation towards High Oil Corn. Corn breeding programs focused in developing high oil varieties have improved primarily in temperate regions. There is a lack of information about high oil corn in tropical areas and with tropical germplasm. Three hundred and fifteen inbred lines developed from a cross between two contrasting inbred lines for percentage of oil in the grain were tested as top-crosses in seven trials evaluated inside six environments in Central Brazil in a balanced and non balanced situation as the trials were planted in four locations. Three methodologies were evaluated to estimate the genetic parameters, the traditional methodology, the REML/BLUP methodology with homogeneous variance, and the REML/BLUP with heterogeneous variance. The REML/BLUP with homogeneous variance had estimated the same values for genetic variance, genotype by environments interaction variance, error variance and the heritability estimate when compared with traditional methodology with balanced data. The REML/BLUP with heterogeneous variance have shown small estimate of the genotype x environment variance, higher estimative of the genetic variance and a higher estimate of heritability. The REML/BLUP with homogeneous variance and REML/BLUP with heterogeneous variance have shown higher power in discriminating the estimate. The REML/BLUP with heterogeneous variance has shown the lowest standard deviation indicating a higher power in separating the estimate when compared with the others methods tested. The replacement of the selected genotypes by the traditional methodology of genotypes selected by the methodologies REML/BLUP with homogeneous and heterogeneous variance have been due to the lower estimative of the error variance inside and in between environments. The correlations between grain dimensions, embryo dimensions and oil contents were studied, having as a primary objective identifying the best variable for an indirect selection and a correlated response to high oil percentage in the corn grain. The two hundred and fifty inbred lines that come from the high oil breeding program were tested and the following variables were analyzed: grain length, grain width, embryo length, embryo width, grain area and embryo area index, embryo percentage, grain apparent volume, grain weight and grain density. The genotypic correlation between the traits was broken down into direct and indirect effects, via path analysis. The traits with the biggest correlations were the components of the embryo dimension, and amongst these, the length of the embryo was the one which supplied the closest correlated answer to the direct selection for the Oil percentage in the grain trait.

**Key words:** High Oil Corn, Mixed Model, REML/BLUP, Genetic Correlation, Indirect selection.

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **1 - INTRODUÇÃO**

A alta concentração de nutrientes nos grãos tem sido a meta de vários programas de melhoramento de muitos cereais, inclusive o milho (*Zea mays*, L), com foco na alimentação humana e animal. O milho tem sido submetido ao mais alto grau de melhoramento genético dentre as espécies cultivadas devido à sua variação herdável ser substancialmente grande, não somente para produtividade e outros atributos agrônômicos, mas também para propriedades nutricionais e industriais, proporcionando a este cereal uma ampla gama de utilização em indústrias de alimentos para humanos e animais (PATERNIANI, 1995).

A seleção para o caráter alto óleo em milho teve seu início em 1896 (WOODWORTH et al.,1952) e o progresso genético deste melhoramento e a contínua liberação da variabilidade para este caráter tem sido reportada periodicamente, (DUDLEY et al.,1974; DUDLEY & LAMBERT, 1992; CLARK et al.,2006). A resposta contínua à seleção por várias gerações, bem como a resposta à seleção reversa em gerações avançadas, sugerem que um grande número de locos segregantes estão envolvidos na herança do teor de óleo no grão de milho (SPRAGUE et al. 1952; ALEXANDER, 1963; DUDLEY et al., 1977). Verificou-se que efeitos genéticos de dominância ou heterose não têm sido detectados em cruzamentos de linhagens para a característica alto óleo, e também não foi detectada depressão por endogamia, portanto foi presumido que o caráter alto óleo em milho está sob controle genético aditivo (DUDLEY et al.,1977; SILVELA et al.,1989). O teor de óleo no milho é regido por poligenes e, portanto quantitativo (DUDLEY et al, 1977; MADE & LAMBERT, 2007) e apresenta uma alta herdabilidade para este caráter, da ordem de 70% (HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988).

A análise quantitativa do conteúdo de óleo em uma semente de milho é a base da seleção dos indivíduos, ou famílias de um programa de melhoramento tradicional ou de engenharia genética, focados no aumento do teor de óleo no grão de milho. Existem vários métodos de análise para o teor de óleo, desde os químicos, que são demorados

e destrutivos, até os que se utilizam de técnicas de infravermelho (NIRt), ressonância nuclear magnética (NMR), e ressonância nuclear magnética de imagem (NRI), métodos estes não-destrutivos aumentando o ganho genético e passíveis de fornecer a quantidade de óleo em até um grão de milho, porém com um alto custo de utilização (DYER & FENG, 1996; DYER & FENG, 1997; KING et al., 1997; KOTYK et al., 2005 NEUBERGER et al., 2008).

O melhoramento para milho alto óleo tem sido realizado e reportado nas regiões temperadas, principalmente nos Estados Unidos e China, poucos trabalhos têm sido realizados nas regiões tropicais, portanto não se conhece a interação genótipo por ambiente, herdabilidade, variância genética e outros parâmetros genéticos importantes para um programa de seleção para o caráter alto óleo em milho com germoplasma tropical.

No melhoramento de plantas, a maioria das análises têm sido realizadas baseadas em modelo fixo para a estimação de médias de tratamentos, através da metodologia tradicional de análise de variância, que implica em um modelo balanceado. Porém, em alguns casos onde as progênies foram testadas em diferentes ambientes, a comparação entre elas se torna não possível estatisticamente com a metodologia tradicional de modelos fixos, neste caso, o modelo misto pode ser uma ferramenta para auxiliar o melhorista na seleção dos genótipos superiores. Porém, a utilização de análises de modelo misto tem sido mais empregada em análises de experimentos com plantas perenes. O uso desta metodologia é muito pouco utilizado na análise de experimentos em plantas anuais (CÂNDIDO, 2009).

Na modelagem mista, a predição dos valores genéticos visando a seleção dos genótipos é realizada através de componentes de variância conhecidos ou estimados com precisão. De acordo com RESENDE (2000), o procedimento ótimo de predição de valores genéticos é o BLUP (melhor preditor linear não - viesado) e o procedimento ótimo de estimação de componentes e variância é o REML (máxima verossimilhança restrita).

O objetivo deste trabalho foi o de se conhecer a magnitude dos parâmetros genéticos e a ordenação dos genótipos visando à seleção para o caráter “teor de óleo no grão”, em uma população de linhagens homozigóticas oriundas do cruzamento de

uma linhagem endogâmica com alto teor de óleo com outra de baixo teor de óleo, obtidas pelo método dos di-haplóides com germoplasma tropical e testadas em seis localidades no Brasil Central, em conjuntos não-balanceados para ambiente. Também teve como objetivo avaliar as correlações fenotípicas, genotípicas e seus desdobramentos em efeitos diretos e indiretos, dos componentes que conferem a dimensão do grão e embrião de milho e a possibilidade de se realizar seleção indireta, via uma das variáveis estudadas, no caráter “teor de óleo no grão”.

## **2 - REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 - Milho alto óleo**

O milho (*Zea mays*,L) é um dos cereais mais utilizados na alimentação animal e humana e, portanto ele tem passado por seleções adaptativas desde os tempos pré-colombianos, onde os antigos habitantes centro americanos domesticaram este cereal em seu centro de origem, provavelmente pela fácil capacidade de estocagem (WATSON, 1988) e iniciaram uma seleção fenotípica dando origem a mais de 300 raças identificadas e milhares de variedades que são hoje a base do milho híbrido moderno (PATERNIANI, 1995; PATERNIANI & CAMPOS, 1999). Esta espécie além de ocupar o mais importante lugar entre os principais alimentos no mundo, destaca-se pelo acúmulo de conhecimentos e informações científicas obtidas nas mais diversas áreas de pesquisas desenvolvidas e, o conhecimento resultante destas pesquisas, além de ter sido utilizado para melhorar a própria capacidade de produção comercial de grãos foi também extrapolado para o melhoramento de outras espécies cultivadas (PATERNIANI & CAMPOS, 1999) .

O milho foi submetido ao mais alto grau de domesticação dentre as espécies cultivadas, devido à grande plasticidade de seu genoma, sendo desta forma cultivado em praticamente todas regiões do mundo desde temperadas às tropicais. É utilizado comercialmente para vários fins industriais, principalmente para a indústria de rações, desatacando-se a direcionada às aves e suínos, alimentação humana em diversas

formas, desde *in natura* até como alimento processado, além de representar importante papel na indústria em geral, provendo produtos para os mais diversos fins (PATERNIANI, 1995).

O advento do milho híbrido no início do Século XX e da produção de sementes para maior nível tecnológico desenvolvidas por empresas públicas e privadas focadas no setor sementeiro, fez com que a produtividade do milho venha aumentando significativamente. O melhoramento acentuado para a produtividade e características agronômicas desejáveis, fez com que o milho perdesse, relativamente, nutrientes, principalmente proteína e óleo (ALEXANDER, 1963).

Um híbrido de milho com teores altos de óleo e com menor proporção de carboidrato possuirá mais energia, devido ao óleo possuir 2,5 vezes mais energia do que o carboidrato. Portanto, um híbrido com alto teor de óleo é muito vantajoso, sob o ponto de vista nutricional principalmente pela alta densidade de lipídeos e do balanço dos aminoácidos, para ser utilizado como componente nas rações de monogástricos, principalmente de aves e suínos (ALEXANDER et al., 1977; ALEXANDER, 1988).

Dados dos ensaios de produtividade, de híbridos nos Estados Unidos da América mostram que em 80 anos de melhoramento, a produção de grãos aumentou em 74 kg/ha/ano e a porcentagem de proteína diminuiu em 30g/kg/ano (DUVICK & CASSMAN, 1999).

A variação herdável em milho é substancialmente grande, não somente para produtividade e outros atributos agronômicos, mas também para propriedades nutricionais e industriais o que proporciona a este cereal uma ampla gama de utilização em indústrias de alimentos tanto para humanos, quanto para animais além da utilização na moagem úmida, onde os componentes do grão de milho são separados quimicamente em várias frações para uso industrial (PATERNIANI, 1995).

## **2.2- Utilização do milho alto óleo**

### **2.2.1 – Utilização na ração animal**

Nos últimos 30 anos, no Brasil, houve um aumento significativo do consumo de carnes em geral e, principalmente, da carne de frango, bovina e suína, onde a de

frango chegou a ter um aumento de consumo ao redor de 14 vezes, dentro do período de 1970 à 2005 as demais carnes tiveram aumento de consumo na ordem de 57% para carne bovina e 14% para carne suína, no mesmo período (SOLFERINI, 2009). Este aumento de consumo leva à uma maior pressão nos componentes de melhoramento genético animal e um aumento do nível tecnológico utilizado na produção destes animais, e, dentre este último item, a nutrição tem exercido um papel de suma importância no aumento e eficiência da produção.

Observando-se o crescimento e tecnologia do frango de corte no Mundo e principalmente no Brasil, onde este seguimento está entre os mais desenvolvidos, pode-se afirmar que ainda existe eficiência a ser ganha em termos de nutrição e no custo da ração. Uma das maneiras de se conseguir este ganho é o de se aumentar o teor de nutrientes essenciais nos componentes básicos da ração, que são principalmente o milho e a farelo de soja. O milho, tido como fonte de energia, é o componente que entra com a maior participação percentual na composição da ração de frangos e suínos, podendo chegar a 70-80%, dependendo do momento no ciclo de engorda e pode-se alterá-lo geneticamente para o aumento de determinados nutrientes como aumento dos níveis de óleo (energia), de proteína e aminoácidos essenciais como Lisina e Triptofano, fazendo com que o custo e a conversão alimentar sejam mais eficientes (REGINA & SOLFERINI, 2004). Na alimentação animal, onde o milho entra com a maior fração, um cultivar com maior percentual de óleo se torna muito vantajoso, devido a seu maior teor energético (ALEXANDER, 1988).

Híbridos de milho com 4,8 a 14,4% de óleo foram avaliados na alimentação de galinhas adultas e foi verificado que a energia verdadeira metabolizável (TME) do milho com 6,7% de óleo foi 4,5% maior do que a do milho convencional com 4,8% de óleo. Em testes com frangos de 8 até 22 dias, foi concluído que os animais apresentaram ganho de peso e melhora da pigmentação da pele e do plasma, quando comparados com animais alimentados com milho convencional. A maior pigmentação da pele e do plasma aparentemente surgiu como uma consequência dos maiores níveis de carotenóides nos milhos alto óleo (HAN et al., 1987). A razão caloria/lisina deve ser considerada na formulação de dietas para suínos, dietas com milho com 7% de óleo e



maior teor de Lisina, resultaram em ganho de peso diário 11% mais rápido do que rações balanceadas que continham 3,5% de óleo, (ADAMS & JENSEN, 1987).

Foi observado, ainda, que, quando aves são alimentadas com grãos de milho com alto teor de óleo (6 – 13%) comparadas com as alimentadas com grãos normais de milho (4,5%), houve um aumento da produção de ovos e do peso corporal e também melhor pigmentação da pele, atributos que melhoram a qualidade da carcaça (HAN et al., 1987). O ganho de peso e aumento da qualidade de carcaça também foram verificados em suínos, quando alimentados com milho alto óleo (ADAMS & JENSEN, 1987). Foi observado que em bovinos, alimentados com milho alto óleo, o aumento de calorias na ração utilizada possui o efeito de acelerar o crescimento dos animais (ALEXANDER, 1988).

### **2.2.2 - Utilização industrial**

O processamento industrial do milho pode ser realizado por vias de moagem úmida ou seca. A moagem seca consiste na separação física dos componentes do grão de milho, onde o endosperma é moído em “*grits*”, que são tamanhos diversos da fração do endosperma. O embrião é separado e utilizado para extração de óleo e como componente da ração animal (PATERNIANI, 1995). O processo de moagem úmida, que teve seu início por volta de 1840, desenvolveu-se e hoje é um processo altamente sofisticado de separação dos componentes do grão de milho por processos químicos e físicos em vários produtos utilizados na indústria alimentícia, inclusive o óleo, e também em outros tipos de uso não alimentícios (WATSON, 1988).

O óleo de milho, que está predominantemente no embrião, contém 1,5% de fosfolípidios, 1% de esteróis e pequenas quantidades de ceras, tocoferol e carotenóides nos milhos amarelos e portanto tem uma grande aceitação na alimentação humana, devido a sua grande estabilidade durante a estocagem e cozimento, evitando a necessidade de se adicionar antioxidantes sintéticos. Esta estabilidade é proporcionada pelos tocoferóis, que são antioxidantes naturais, que protegem as duplas ligações de ácidos graxos insaturados de sofrerem oxidação (ALEXANDER, 1988). O óleo de milho

possui baixo teor do ácido tri-insaturado linolênico (18:3), diminuindo a rancificação, e alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente o Linolêico, (ácido cis, cis-9, 12-octadecadieonic) que chega a 60% do total. A vantagem do óleo de milho sobre o de soja é que o de milho contém um menor percentual do ácido oléico, o qual é altamente sujeito à oxidação.

O óleo de milho tem uma grande importância para a nutrição humana, fazendo parte na produção de margarinas, óleo para saladas e também para o cozimento e em outros produtos alimentícios. O melhoramento genético para o caráter alto óleo em milho é muito importante por proporcionar um ganho num teor de óleo de alto valor para a indústria alimentícia humana e para a ração animal, é, devido a isto, que vários programas de milho alto óleo têm sido iniciados na iniciativa privada, pois existe uma demanda por este tipo de produto.

### **2.3- Síntese de ácidos graxos em vegetais**

O conhecimento prévio do comportamento e funcionalidade das vias envolvidas na produção de óleo, nos vegetais, pode ser de grande ajuda no melhoramento para milho alto óleo, principalmente no sequenciamento destes genes e na comparação com o transcrito presumido.

A biossíntese dos ácidos graxos ocorre principalmente nos plastídeos (OHLROGGE & BROUWSE, 1995). Estes ácidos graxos são utilizados como precursores na construção e organização de membranas celulares e também para a síntese de lipídeos de reserva. O lipídio é a principal forma de reserva de carbono nas sementes de muitas espécies de plantas, constituindo aproximadamente 60% do peso seco delas. A via de biossíntese de ácidos graxos é considerada uma via metabólica primária, pois é realizada por todas as células da planta, sendo essencial para o seu crescimento.

Os principais ácidos graxos sintetizados pelas plantas apresentam uma cadeia de 16 a 18 carbonos, contendo de uma a três duplas ligações *cis*. No plastídeo, uma série de enzimas estão envolvidas no processo de biossíntese destes ácidos graxos.

Quando os três carbonos do glicerol são esterificados com as cadeias de ácido graxos, ocorre a formação de triacilgliceróis, sendo este o principal lipídeo de estocagem nas sementes (OHLROGGE & BROUWSE, 1995).

Na semente madura, o triacilglicerol (TAG) é estocado em corpos lipídicos esféricos densamente empacotados (HUANG,1992; MURPHY,1993; HERMAN,1994). Estes corpos são rodeados por uma monocamada de fosfolipídeo na qual se encontram embebidas proteínas denominadas oleosinas. No milho existem as seguintes oleosinas: OLE18, OLE17 e OLE16. As sequências genômicas destes três genes já foram obtidas, bem como a comparação das sequências deduzidas de aminoácidos produzidas por estas regiões (LEE & HUANG, 1994). Estes genes são expressos no embrião e na camada de aleurona (QU & HUANG, 1990), sendo que o valor máximo do transcrito foi entre 20 e 25 dias, após a polinização, e o valor máximo da proteína foi observado em 25 a 30 dias após a polinização. Estes genes já foram mapeados, o gene *ole16*, de cópia única, está localizado próximo ao gene *bl* no cromossomo 2; o *ole18*, também de cópia única está localizado no braço curto do cromossomo 5, próximo ao gene *phya2*; já a localização do gene *ole17* foi predita para o cromossomo 1, próximo ao gene *phya1* (LEE & HUANG, 1994).

O embrião é o sítio primário da estocagem de óleo (INGLETT, 1970; DOEHLERT, 1990) e este fato é verificado pela morfologia do embrião do milho alto óleo, que é maior do que o existente no milho normal (CURTIS et al 1968; DUDLEY et al., 1977). Estudos comparando propriedades metabólicas de semente de milho, com genótipos amplamente divergentes para proteína, amido e óleo, mostraram que diferentes atividades de enzimas estão associadas com acúmulo dos diferentes produtos de estocagem. A atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) em embriões isolados, foi correlacionada com a concentração de óleo, talvez devido a maior atividade respiratória requerida para a síntese de óleo. As enzimas sacarose sintetase (SS), uridina difosfato-glicose pirofosforilase (UDPG), fosfoglicoisomerase (PGI), fosfofrutoquinase (PFK) e aldolase (ALDO) também foram correlacionadas com o conteúdo de óleo. A medida da atividade enzimática indicou que não há uniformidade na distribuição destas dentro da semente, mas que pode haver uma associação da

atividade de enzimas específicas com produtos de estocagem (DOEHLERT et al. 1988).

Quinze enzimas que fazem parte do metabolismo de açúcar e aminoácidos foram avaliadas e os resultados sugerem que a atividade das enzimas glicoquinase, frutoquinase e fosfofrutoquinase foi primariamente associada com o conteúdo de óleo e que a biossíntese de óleo utiliza a degradação de sacarose medida pela invertase, em uma via que não requer fosfato (DOEHLERT, 1990).

Apesar do progresso nos estudos dos genes que atuam nas vias metabólicas de biossíntese de lipídeos e compostos relacionados em vegetais, ainda são necessários grandes investimentos para seu completo conhecimento, pois esta é uma via muito complexa.

#### **2.4 – Base genética do caráter alto óleo em milho**

O trabalho mais longo e clássico do melhoramento de milho vem sendo realizado pela Universidade de Illinois. Iniciado em 1896 por C.G. HOPKINS e tendo como objetivo a seleção na variedade de polinização aberta Burr's White para alto e baixo teor de óleo e de proteína nas sementes. Após 90 ciclos de seleção, o teor de óleo nas sementes aumentou de 4,7% para 19,3% na variedade chamada de Illinois High Oil (IHO). A seleção para baixo óleo foi realizada somente até a 87<sup>a</sup> geração, pois não houve progresso nos últimos 20 ciclos anteriores, possivelmente devido às limitações fisiológicas advindas do baixo teor de óleo e conseqüente baixa energia utilizável nas sementes, afetando o vigor e a germinação. Após 87 ciclos de seleção para baixo óleo, na população Burr's White, houve uma redução de óleo de 4,7% para menos de 1,0%. Esta população foi denominada de Illinois Low Oil (ILO) (DUDLEY et al., 1977).

A estimativa do número de locos controlando o caráter alto óleo foi realizada após 28 gerações de seleção. Foram estimados 33 locus atuando neste caráter (DUDLEY et al., 1977; DUDLEY & LAMBERT, 1992; MORENO-GONZALEZ et al., 1975), e, após 76 gerações de seleção o número estimado foi de 54 lócus

(DUDLEY et al.,1977), após 90 gerações de seleção, estimou-se em 69 o número de locus que controlam o caráter alto óleo no milho (DUDLEY & LAMBERT, 1992).

O número de locus que controla o teor de óleo aumentou devido ao aumento do progresso de seleção e da variância genética aditiva, que é a principal responsável pela resposta de seleção. A taxa de resposta à seleção deveria diminuir gradualmente à medida que a variância aditiva diminui, mas, após alguns ciclos, nova variância proveniente de genes que sofreram mutação começam a contribuir para a resposta. Com novos ciclos de seleção, estes genes segregantes se rearranjarão, possibilitando o aumento da resposta de seleção e o teor de óleo no grão. Não se espera um limite para seleção, quando a mutação afeta o caráter selecionado, mas não a aptidão, como é o caso de seleção para alto óleo (LAMBERT, 1994; FALCONER & MACKAY, 1996). A resposta contínua à seleção por várias gerações, bem como a resposta à seleção reversa em gerações avançadas, sugerem que um grande número de locos segregantes estão envolvidos na herança do teor de óleo no grão de milho (SPRAGUE et al.,1952; ALEXANDER, 1963; DUDLEY et al.,1977).Verificou-se que efeitos genéticos de dominância ou heterose não têm sido detectados em cruzamentos de linhagens para a característica alto óleo, e também não foi detectada depressão por endogamia, portanto foi presumido que o caráter alto óleo em milho está sob controle genético aditivo (DUDLEY et al.,1977; SILVELA et al.,1989). O teor de óleo no milho, é regido por poligenes e, portanto quantitativo (DUDLEY et al., 1974) e apresenta uma alta herdabilidade para este caráter, ao redor de 70% ( HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988).

Fatores ambientais podem afetar os teores de óleo no milho, mas o efeito do genótipo no valor do conteúdo de óleo é muito maior. JELLUM & MARION (1966), em avaliações para o teor de óleo durante dois anos em diferentes localidades e diferentes períodos nestes anos, mostraram que o genótipo tem maior influência nos valores de óleo do que as condições ambientais, justificando a alta herdabilidade estimada para este caráter.

A detecção de QTL's para o caráter alto óleo em milho tem sido realizadas por diversos autores. Foram mapeados vários QTL's para óleo nos cromossomos 1, 2, 3, 4,

5, 6, 7, 8 e 9, inclusive em gemoplama tropical (MANGOLIN, 2002; ZANG et al., 2008; WASSON et al., 2008a; WASSON et al., 2008b). Atributos que sugerem uma possibilidade de Melhoramento Assistido por Marcadores Moleculares - MAS (HOSPITAL et al., 1977).

O caráter alto óleo possui efeito de xênia (BAUMAN et al., 1963; CURTIS et al., 1956; ALEXANDER & LAMBERT, 1968; ALEXANDER et al., 1977; MILLER & BRIMHALL, 1981; LAMBERT, 1994). O efeito de xênia é definido como o efeito imediato dos genes alocados no grão de pólen, no desenvolvimento de tecidos não maternos como o embrião e endosperma. Trabalhos realizados tendo como plantas polinizadoras as provenientes da população IHO mostraram que quando cruzadas com uma outra planta de milho qualquer proporcionavam maior quantidade de óleo do que quando se utilizava como polinizador uma planta da população ILO. Também foi observado um grande efeito do genótipo da planta mãe sobre o teor de óleo, mas o efeito do grão de pólen foi significativamente maior (LETCHWORTH & LAMBERT, 1988). Desta maneira, para uma estimativa mais precisa do teor de óleo na semente, deve-se somente utilizar plantas que tenham sido submetidas à cruzamento controlado. Em polinização aberta, o teor de óleo de híbridos que apresentam baixo conteúdo desse componente aumentará quando polinizadas por plantas de um híbrido que tenha um conteúdo maior de óleo, e, inversamente, híbridos, que possuam alto teor de óleo poderão ter seu teor diminuído devido ao fato de cruzarem com plantas de outro híbrido com baixo teor de óleo (LAMBERT, 1994).

Os híbridos com alto teor de óleo (>6,5%ms) também mostraram possuir maior conteúdo de aminoácidos principalmente lisina, metionina, glicina e arginina, quando comparados à suas versões normais para o teor de óleo. Isto pode ocorrer com grande rapidez devido à possibilidade da produção de grãos alto óleo utilizar o processo 'Top Cross', que explora o efeito de xênia (THOMISON et al., 2003).

A qualidade do óleo, ou seja, a composição dos ácidos graxos no óleo de milho, importante característica a ser considerada, também é passível de ser alterada geneticamente. Foi verificada a existência de uma correlação negativa entre o percentual de óleo total e o percentual de ácido linoleico ( $r = -0,48$ ) e uma correlação

positiva de ácido oléico com o percentual de óleo ( $r = 0,51$ ) (PONELEIT & BAUMAN, 1970; PAMIN et al. 1986). Foi verificado que devido a correlação negativa entre percentagem de óleo e ácido linoléico, quando se aumenta o teor de óleo também aumenta-se a percentagem dos ácidos graxos oléico e palmítico (PAMIN et al., 1986).

## 2.5 – Cultivares de milho alto óleo

Cultivares de milho alto óleo, quando comparados com os normais, produziram menos quilogramas de grãos por hectare, em ensaios realizados nas mesmas condições edafoclimáticas. A correlação negativa entre produtividade de grãos e porcentagem de óleo é decorrente do maior gasto energético para a produção de óleo quando comparado à síntese de amido. Para que o milho produza um grama de óleo são necessárias ao redor de duas vezes e meia mais energia do que para a síntese de amido, fazendo com que o custo energético para a produção de mais óleo seja muito grande (ALEXANDER, 1988). O principal objetivo de um programa de híbridos alto óleo será o decréscimo desta correlação. Atualmente já existem híbridos de milho alto óleo produzindo até 98% dos concorrentes normais e possuindo ao redor de 7% óleo, um aumento de 50% da quantidade de óleo (SOLFERINI, 2009). Portanto o melhoramento genético para cultivares com alto teor de óleo é uma possibilidade a ser executada, podendo oferecer atrativos para a indústria, desde que a comercialização seja ajustada (PATERNIANI, 1995).

Podem ser desenvolvidas diversas metodologias para o desenvolvimento de cultivares de milho que expressam maior quantidade de óleo nos grãos. Cultivares “*per se*” de Milho Alto Óleo que podem ser variedades, linhagens ou híbridos melhorados geneticamente, aumentando-se a quantidade de óleo nos grãos. O exemplo para este tipo de melhoramento é o clássico experimento realizado na Universidade de Illinois que se iniciou em 1896 por C.G. HOPKINS. Após 90 ciclos de seleção, o teor de óleo nas sementes aumentou de 4,7% para 19,3% na variedade chamada de Illinois High Oil (DUDLEY et al, 1977; DUDLEY & LAMBERT, 1992) e estende-se até os dias de hoje. ALEXANDER (1988) trabalhando com uma variedade sintética, com alto teor de óleo,

constatou que nos ciclos de 9 a 22 da 'Alexho Synthetic', houve um incremento de 6,2% até 12,9% de óleo nas famílias selecionadas.

Híbridos de Alto Óleo podem ser sintetizados através do desenvolvimento de linhagens de alto óleo. Estas linhagens podem conter de 6 a 21% de óleo nos grãos, fornecendo a possibilidade da síntese de híbridos com uma gama variada de teor de óleo nos grãos, desde 6 a 14%, que podem ser viabilizados comercialmente de acordo com a necessidade do seguimento de mercado que se deseja atingir.

Cultivares de milho alto óleo obtidos através da xênia são variedades ou híbridos obtidos pelo processo de "Top-Cross", que consiste na mistura de dois cultivares ou híbridos, o primeiro com macho esterilidade, que entra na mistura de genótipos com a proporção de 90% dos grãos, possuindo teor normal de óleo, o segundo, híbrido ou variedade sintética, entram com uma proporção de 10% na mistura e com um alto teor de óleo, ao redor de duas vezes a quantidade final de óleo que se pretende ter na mistura final.

Esta metodologia que já foi até patenteada por grandes empresas, tem a vantagem de diminuir o efeito supressor da produtividade por área conferida pelo alto teor de óleo nos grãos. A desvantagem é que são dois genótipos que podem responder diferentemente ao ambiente onde plantados, afetando a sincronia perfeita no florescimento. Atraso ou não sincronia entre e o híbrido polinizador e o híbrido macho estéril acarretará em um grande prejuízo na polinização e conseqüente perda de produtividade.

Cultivares de milho alto óleo via transgenia, transgenes que poderão aumentar o teor de óleo nos grãos de milho tem sido estudado, mas os resultados teóricos tem mostrado um aumento máximo de 1 a 3%, o que pode ser suficiente na produção de híbridos para a ração animal, porém baixo quando se deseja obter híbridos par indústria de óleos, onde o ideal seriam híbridos que possuíssem um teor de óleo acima de 12%. (SOLFERINI, 2009).



## **2.6 - Técnicas de detecção da composição nutricional do grão de milho**

As técnicas analíticas convencionais para extração e detecção das frações nutricionais em sementes vegetais mais utilizadas são: extração de solventes (AOCS, 1998); extração acelerada de solventes (ASE) (HAUFFE et al., 1995; SCHROETER et al., 1999), extração com fluido supercrítico (TAYLOR et al., 1993; KING et al., 1997; AOCS, 1998), extração assistida por microondas (GARCIA-AYUSO et al., 2000) e a extração Soxthorn (MATTAEUS, 1998), que fornecem alta acurácia e alta precisão na determinação do teor de óleo em grãos de milho. Entretanto, além de exatos e precisos, estes métodos são trabalhosos demorados e lidam com solventes altamente perigosos para a saúde humana (KOTYC et al., 2005), além de destruir as sementes analisadas, diminuindo o ganho genético da seleção.

### **2.6.1- Método do infravermelho próximo por refletância – NIR**

Uma das técnicas não destrutivas, com boa precisão, extremamente segura para a saúde humana e largamente utilizada para a mensuração dos componentes do grão é o espectrofotômetro - NIR (Infravermelho Próximo por Refletância)(DYER, 2004). As publicações descrevendo as aplicações do NIR nas análises do grão do milho, começaram a aparecer na metade da década de 1970. Os primeiros trabalhos reportaram resultados promissores para a análise de proteína e óleo em amostras de milho moído utilizando um espectrofotômetro Dikey John com um coeficiente de múltipla determinação de 0.99 para a calibração e 0,91 para validação de cada análise (HYMOWITZ et al., 1974; DYER & FENG, 1997).

A espectroscopia NIR é a técnica que mede a detecção da absorvância do infravermelho próximo por uma amostra. O infravermelho próximo está na faixa de 800 nm a 2500 nm e possui energia suficiente para excitar sobretons (ligações orgânicas), combinações de vibrações moleculares a altos níveis de energia. O espectrofotômetro NIR é tipicamente utilizado para medições quantitativas de grupos funcionais orgânicos, especialmente O-H (ácidos graxos), N-H (proteínas), e C=O (ésteres). Os limites de detecção são da ordem de 0,1% e as aplicações incluem análises em produtos farmacêuticos, agrícolas, polímeros, e análises clínicas (ALEXANDER et al., 1967).

As análises realizadas pelo espectrofotômetro NIR é feita estimando-se o espectro infravermelho que foi absorvido quando incidido na amostra. O exame da luz transmitida, ou seja, que atravessou a amostra revela o quanto a amostra absorveu a energia em cada comprimento de onda. Isto pode ser realizado utilizando-se um monocromador ou um instrumento de transformação Fourier, que geram todos os comprimentos de onda simultaneamente. A partir daí, o espectro da transmitância ou absorvância pode ser conhecido, mostrando qual comprimento de onda infravermelho a amostra absorveu, e a análise da característica de absorção revela detalhes da estrutura molecular da amostra (BURN & CIURCKZAC, 2001). Algoritmos desenvolvidos a partir de grande número de espectros e suas análises convencionais correlatas para várias amostras, podem quantificar com grande precisão a quantidade de um determinado composto orgânico existente na amostra analisada via o espectrofotômetro NIR.

Numa investigação da absorção NIR por uma grande diversidade de ácidos graxos e componentes relacionados, foram identificados comprimentos de ondas características para o mensuramento quantitativo de óleo e ácidos graxos específicos, possibilitando a utilização desta técnica para a detecção do percentual de óleo em amostras de grãos (HOLMAN & EDMONDSON., 1956) .

No início do desenvolvimento da tecnologia, foram relatados calibrações na região de espectro do infravermelho (5500 – 16500 nm) para óleo, proteína e carboidrato em amostras de soja moída nos quais a composição dos componentes foi alterada adicionando-se ou retirando-se óleo. Apesar da calibração ainda incipiente tecnologicamente, encontraram-se coeficientes de correlação de 0,93 para proteína e 0,96 para óleo (DYER & FENG, 1996).

A melhor metodologia para o melhoramento de milho com alto teor de óleo, seria a determinação do percentual de óleo nos grãos sem a destruição dos mesmos, quando se utiliza uma seleção de famílias ou melhor ainda seria a seleção baseada nos indivíduos, ou seja, conseguir determinar o conteúdo de óleo em um grão de milho. Vários trabalhos foram realizados com este intuito (ORMAN & SCHUMANN Jr, 1992; ORR, 1998), onde verificou-se que a melhor tecnologia para se analisar o teor de óleo

de um grão ou bulk de grãos, ou seja uma família, sem destruí-los seria a tecnologia NIR transmitância ao invés da NIR reflectancia (DYER, 2004).

### **2.6.2- Ressonância nuclear magnetica – NMR**

Ressonância Nuclear Magnética – NMR, é um fenômeno que ocorre quando o núcleo de certos átomos são imersos em um campo magnético e expostos a um segundo campo magnético oscilatório. Alguns núcleos expressam este fenômeno outros não, depende se eles possuem ou não uma propriedade chamada *spin* que emite uma radiação eletromagnética. Somente aqueles átomos que possuem número ímpar de prótons e/ou nêutrons serão capazes de produzir um sinal em NMR. Embora uma variedade de mais de 300 diferentes tipos de núcleos possuam momento angular, apenas um seleto grupo tem utilidade na biologia dentre esses: Hidrogênio, Carbono, Sódio, Fósforo e Flúor.

De todos os átomos, o Hidrogênio é o mais simples, pois ele possui apenas um próton. Além de sua abundância nos sistemas biológicos, o hidrogênio é altamente magnético, o que o torna extremamente sensível a NMR. Outros núcleos também podem gerar imagens em NMR, porém possuem imagens mais pobres comparadas às do Hidrogênio.

A ressonância nuclear magnética teve seu uso na detecção do teor de óleo em milho através de trabalhos inicialmente desenvolvidos por ALEXANDER et al., (1967). A técnica tornou-se largamente utilizada no melhoramento do milho alto óleo e tem sido utilizada em vários trabalhos como instrumento para a determinação do percentual de óleo, preservando a integridade da amostra ou grão analisados, revelando-se mais exata e precisa que a técnica NIR principalmente na análise de um grão de milho (DYER, 2004; SONG et al.,2004).

### **2.6.3- Ressonância nuclear de imagem – MRI**

O método analítico da Ressonancia Nuclear Magnética de Imagem, foi desenvolvido para ser efetivo e viabilizar a avaliação do teor de óleo em amostras de

uma única semente de milho, e é capaz de analisar 15500 sementes em 4 horas (NEUBERGER et al., 2008). Utilizando um protocolo padrão, o mesmo utilizado em clínicas de Imagem, que fazem o escaneamento de partes do corpo humano e que possuem um equipamento de MRI de 1,5 Tesla. A identidade de cada semente individual é obtida através da captação dos dados do coletor de 3-D MRI, que espacialmente localiza o sinal de NMR de cada semente que está localizada em uma célula identificada dentro do corpo do escaneador. O procedimento MRI é baseado nos mesmos princípios físicos do NMR com o benefício da adição do eficiente método de coleta de dados. Os resultados obtidos com o MRI foram comparados com os métodos NIRt, NMR e ASE, para validar a acurácia e precisão do método. As seguintes correlações foram obtidas: MRI e MMR  $R^2= 0,974$ , MRI e NIRt  $R^2= 0,923$  e MRI e ASE  $R^2= 0,9118$  (KOTIK et al.,2005). Estas correlações confirmam a eficácia do método em avaliar o teor de óleo em uma única semente, característica esta que atesta ser o método MRI altamente eficiente para a utilização em programas de melhoramento genético na seleção de genótipos de milho que possuam alto teor de óleo.

## **2.7 – Método dos duplo haplóides para obtenção de linhagens homozigóticas**

O método de obtenção de linhagens homozigóticas através da duplicação de plantas haplóides tem sido utilizado como uma alternativa para a obtenção de linhagens de aveia, trigo, sorgo e milho. A haploidia ocorre naturalmente em um grande número de espécies vegetais (LASHERMES & BECKERT, 1988). Porém a permanência desta planta na natureza é rara, devido à taxa natural de duplicação espontânea ser muito baixa.

Os programas de melhoramento de milho híbrido tem tentado utilizar desta técnica há algum tempo, devido à possibilidade da produção de linhagens homozigóticas de milho em um período mais curto do que o método tradicional (BORDES et al., 2006). Além da produção de linhagens, a planta haplóide tem o número de cromossomos gametófitos, sendo importantes para a realização de análises genéticas e indução de mutação (PRE'TÓVÁ, 2006).

Os haplóides de origem maternal são obtidos através de uma falha na fecundação, causada por uma condição anormal, induzida ou herdada, no gameta

masculino ou feminino e subsequente desenvolvimento do óvulo em embrião (SARKAR & COE, 1966). Vários tratamentos físicos, químicos e fisiológicos podem ser utilizados para induzir a produção de haplóides maternos em milho (LASHERMES & BECKERT, 1988). Porém somente com o desenvolvimento da variedade de milho indutora de haploidia “stock 6” (COE, 1994) que induz a haploidia em uma taxa de 3,2% (SARKAR et al., 1972; AMAN & SARKAR, 1978) é que esta metodologia mostrou-se viável na produção de linhagens endogâmicas em larga escala.

O desenvolvimento de variedades indutoras com genes para identificação das plantas haplóides fizeram com que as taxas observadas de plantas haplóides aumentassem a um nível muito maior que o anterior (CHASE, 1952; LASHERMES & BECKERT, 1988; BORDES et al., 2006) aumentando a utilização desta metodologia à uma escala industrial.

Foi observado em milho, que a frequência de haplóides é inversamente proporcional à frequência de genes letais e subletais ao longo da formação dos gametas femininos (CHASE, 1969) sugerindo que existe uma seleção natural na ocorrência de uma planta haplóide e de que nesta a frequência de genes deletérios pode ser nula. Outra técnica de produção de duplo haplóides em milho é o da indução de gimnogenese *in situ*, que consiste no cultivo de anteras de milho *in vitro*, com posterior cultura de tecido produzindo plantas haplóides, que, duplicadas, produzirão linhagens homozigóticas (MURIGNEUX et al., 1993).

BARBOSA (2009), comparando linhagens obtidas pela técnica de duplo haplóides e a tradicional, concluiu que Linhagens duplo-haplóides apresentam blocos de ligação maiores, quando comparadas às linhagens convencionais e que também a origem genética das populações influencia na taxa de indução de haplóides, sobrevivência em casa de vegetação e plantas macho-férteis.

A metodologia de produção de linhagens de milho via indução e duplicação de plantas haplóides tem aumentado sua utilização significativamente nos programas privados de melhoramento de milho visando híbridos, podendo tornar-se o principal método de obtenção de linhagens homozigóticas de milho, principalmente devido à rapidez da obtenção de uma linhagem.

## **2.8 - Seleção de caracteres quantitativos e correlações**

A seleção para caracteres quantitativos, isto é, caracteres regidos por um grande número de genes, envolve uma metodologia própria, diferente da que se utiliza os métodos de seleção para caracteres monogênicos ou oligogênicos, caracteres regidos por um pequeno número de genes (HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988). Nela o melhorista trabalha com um grande número de genes e, conseqüentemente, um grande número de genótipos que podem ser individualmente classificados e afetados pelo ambiente (FALCONER, 1989), fornecendo respostas diferentes aos fenótipos analisados. Caracteres quantitativos envolvem métricas e não o conhecimento direto de um gene ou sua frequência ou o exato genótipo do indivíduo. Portanto, as ferramentas para se estudar e medir os resultados de seleção devem incluir parâmetros estatísticos como médias, variâncias, covariâncias e interações ambientais. O resultado básico da seleção é a mudança da frequência gênica e genotípica e as alterações da média e variância são os resultados finais do programa (HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988; BERNARDO, 2002).

A maioria dos caracteres de interesse econômico apresenta herança quantitativa e devem ser utilizados procedimentos de genética quantitativa para analisá-los e estudá-los. Os caracteres quantitativos podem ser subdivididos em caracteres que apresentam distribuição contínua (peso de grãos, altura de plantas, altura de espiga, massa foliar, etc..) e distribuição descontínua ( número de sementes por espiga, número de perfilhos por planta, etc..) de fenótipos, caracterizando-se como variáveis aleatórias contínuas e discretas, respectivamente (RESENDE, 2002). Sendo os caracteres quantitativos regidos por um número elevado de genes, conseqüentemente haverá um grande número de genótipos com elevado grau de influência ambiental. Estes fatores conduzem a um grande número de fenótipos de maneira que não é possível associar genótipos aos diferentes fenótipos. Na genética quantitativa, genótipos iguais podem apresentar fenótipos diferentes bem como genótipos diferentes podem apresentar fenótipos iguais, tudo isto devido a influência ambiental (RESENDE, 2002).

O conhecimento dos componentes da variabilidade fenotípica, que é o resultado da ação conjunta dos efeitos genéticos e ambientais, é de primordial importância na escolha dos métodos de melhoramento, dos locais para a condução dos experimentos, da tomada de decisão do número de repetições a ser utilizado e para a predição dos ganhos de seleção. Os efeitos ambientais mascaram o mérito genético dos indivíduos, desta maneira quanto maior for a proporção da variabilidade decorrente dos efeitos ambientais em relação a variabilidade total, menor poderá ser o ganho genético de seleção, deixando-se de selecionar indivíduos geneticamente superiores devido à uma alta variação ambiental (BOREM & MIRANDA, 2005).

A variabilidade fenotípica pode ser conhecida por meio das estimativas de herdabilidade, dos coeficientes de correlação fenotípica, genotípica e ambiental, das variâncias genotípicas e fenotípicas, dentre outros parâmetros, que refletem a natureza do material genético e a ação do ambiente, permitindo a predição dos ganhos de seleção e as estratégias de melhoramento a serem adotadas. A detecção e estimativa da interação genótipo por ambiente, e o conhecimento da existência desta interação é de primordial importância no processo seletivo, pois esta interação pode mascarar a performance média de um indivíduo ou linhagem na análise conjunta em vários ambientes. Portanto, o conhecimento da magnitude das estimativas de herbabilidade, dos coeficientes de correlação genética e fenotípica, e das estimativas de ganho esperado com seleção, e as implicações dos efeitos ambientais sobre estas estimativas, refletidas na interação genótipo x ambiente, são de fundamental importância para um programa de melhoramento genético.

A seleção artificial, praticada pelo homem, diferentemente da seleção natural, que se realiza por meio de diferenças em fertilidade e sobrevivência das progênes dos diferentes indivíduos tendo como consequência a evolução orgânica, atua promovendo a alteração das frequências alélicas nos locos que controlam o caráter sob seleção, conduzindo a alterações na média genotípica da população, da maneira desejada e planejada. As etapas normalmente utilizadas para a seleção são inicialmente a predição do valor genético dos indivíduos e em seguida a decisão sobre

a melhor forma de utilização dos indivíduos com os maiores valores genéticos preditos (RESENDE, 2002).

Os valores genotípicos não podem ser diretamente mensurados, mas caracteres quantitativos previamente conhecidos, podem ser estimados a partir dos valores fenotípicos, os quais podem ser observados. As magnitudes dos efeitos aditivos, de dominância e epistáticos podem ser estimados a partir do fenótipo, (BERNARDO, 2002).

## 2.9. Estimativa de parâmetros genéticos

A estimação dos parâmetros genéticos é a ferramenta da genética quantitativa que utiliza o valor fenotípico ( $y$ ) conhecido, para a predição, tanto dos valores genéticos ( $VG$ ), como dos valores genotípicos ( $VGp$ ), que são variáveis aleatórias desconhecidas, de acordo com as indicações clássicas e de relevante utilização em estudos tanto no melhoramento vegetal como animal (RESENDE, 2002; CRUZ, 2005).

Portanto, o valor fenotípico pode ser expresso como:

$$y = \mu + a + d + e \quad \text{onde,}$$

$y$  : valor fenotípico temporário;

$\mu$  : média genotípica ou média geral;

$a$  : efeito aditivo;

$d$  : efeito de dominância;

$e$  : efeito de ambiente ;

$\mu + a$  : valor genético aditivo (é um parâmetro similar à capacidade geral de combinação, equivalendo a essa capacidade multiplicada por um regressor, que é função da herdabilidade, e somada à média geral);

$\mu + a + d = \mu + g$  : valor genotípico;

$\mu + a + d + e$  : valor fenotípico .



Considerando covariância zero entre os efeitos em  $y$  (a covariância entre efeitos genéticos e ambientais pode ser assumida como nula desde que haja casualização na distribuição dos genótipos nos ambientes, ou seja, desde que não seja dado tratamento preferencial aos melhores genótipos) tem-se:

$$\sigma_y^2 = \text{Var}(\mu + a + d + e) = \sigma_a^2 + \sigma_d^2 + \sigma_e^2, \text{ em que:}$$

$\sigma_y^2$ : variância fenotípica;

$\sigma_a^2$ : variância genética aditiva;

$\sigma_d^2$ : variância genética de dominância;

$\sigma_e^2$ : variância ambiental

### 2.9.1. Herdabilidade

Um dos parâmetros essenciais para a aplicação da genética quantitativa no melhoramento, seja ele animal ou vegetal é a herdabilidade  $h_g^2$  (RESENDE, 2002), que se refere a quantidade de variância genética expressa na variância fenotípica total (BERNARDO, 2002), ou seja:

$$\frac{\sigma_a^2 + \sigma_d^2}{\sigma_y^2} = h_g^2 \quad \text{Onde:}$$

$h^2$  = Herdabilidade no sentido amplo

$\sigma_a^2$  = Variância genética aditiva

$\sigma_d^2$  = Variância genética dominante

$\sigma_y^2$  = Variância fenotípica.

Onde  $h^2$  representa a herdabilidade no sentido amplo, ou seja toda a variância genética, seja ela de natureza aditiva ou dominante. Porém são os alelos que passam de uma geração à outra e não os genótipos e, portanto, a variância genética aditiva  $\sigma_a^2$ , que é a porção da variância genética devida aos efeitos médios dos alelos, que pode determinar o progresso a ser obtido na seleção e recombinação dos melhores indivíduos da população (BERNARDO, 2002), a razão entre a variância genética aditiva

e a variância fenotípica total chamada de herdabilidade no sentido restrito, que pode ser expressa da seguinte forma:

$$\frac{\sigma_a^2}{\sigma_y^2} = h_a^2$$

Uma função importante da herdabilidade no sentido restrito é seu papel na predição de ganho devido à seleção, expressando a confiança do valor fenotípico como estimador do valor genético. Porém, maiores respostas à seleção, não estão, necessariamente, associadas à caracteres de maior herdabilidade, uma vez que altos valores de herdabilidade podem ocorrer em caracteres que tenham pequena variância genética aditiva e que sejam pouco afetados pelo ambiente. O importante na avaliação da herdabilidade, como indicativo de predição, é a estimativa de quanto do diferencial de seleção se espera ganhar, em virtude da seleção, na geração seguinte. Portanto, o maior ganho de seleção ocorrerá quando o caráter em questão apresentar alto coeficiente de herdabilidade associado a um diferencial de seleção elevado (FALCONER & MAKAY, 1996).

#### **2.10. Correlações entre caracteres:**

O conhecimento da correlação entre dois caracteres é de grande importância no melhoramento, principalmente quando se trabalha com caracteres de baixa herdabilidade ou de difícil mensuração. Normalmente a correlação mensurada é a fenotípica entre duas características, medida em um determinado número de indivíduos dentro da população. Esta correlação tem causas genéticas e ambientais, porém somente as genéticas promovem associações de natureza herdável, sendo esta a porção utilizável em programas de melhoramento. Portanto, a distinção e quantificação do grau de associação entre os caracteres estudados são muito importantes no programa a ser executado (CRUZ & REGAZZI, 1997).

A correlação genética, ou mais precisamente, a correlação genética aditiva, refere-se a associação linear entre os valores genéticos do indivíduo para os dois caracteres. As causas da correlação genética podem ocorrer devido a (BERNARDO, 2002):

**Ligação Gênica:** Causa correlação genética se os locus dos caracteres estudados estiverem próximos uns dos outros, no mesmo cromossomo, o qual controla vários genes. Se alelos dominantes causam altos valores para cada caráter, então as ligações em associação causarão correlações genéticas positivas enquanto as ligações em repulsão causarão correlações genéticas negativas. A resistência da correlação genética depende da força de ligação entre os locus. Portanto, as correlações genéticas devidas a ligação gênica, podem ser quebradas por ciclos repetidos de meioses, através de recombinação ou autofecundação e dependem da taxa de recombinação entre os dois genes (HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988).

**Pleiotropia:** A correlação genética causada por pleiotropia ocorre quando o mesmo locus controla os dois genes. A correlação existente entre características pleiotrópicas possui uma base fisiológica. Como exemplo, energia é estocada na forma de óleo ou amido e a concentração de óleo e amido no grão de milho são negativamente correlacionadas (DUDLEY & LAMBERT, 1992). As correlações devidas à pleiotropia, que não podem ser quebradas via ciclos de meioses, são mais permanentes que as correlações decorrentes de ligações gênicas (BERNARDO, 2002).

A causa da correlação genética é, principalmente, a pleiotropia, ligações gênicas são causas transitórias (FALCONER, 1989).

O ambiente torna-se causa de correlações quando dois caracteres são influenciados pelas mesmas diferenças de condições ambientais. Valores negativos desta correlação, indicam que o ambiente favorece um caráter em detrimento do outro e valores positivos indicam que os dois caracteres são beneficiados ou prejudicados pelos mesmos efeitos de variação ambiental. De maneira geral, as correlações genéticas e ambientais apresentam o mesmo sinal, entretanto, nos casos em que isto não ocorre, há o indicativo de que as causas da variação genética e ambiental influenciem os caracteres por meio de diferentes mecanismos fisiológicos (FALCONER, 1989).

A correlação linear  $r$  entre os caracteres  $X$  e  $Y$ , é calculada por: (HALAUER & MIRANDA, 198; CRUZ & REGAZZI, 1997)

$$r = \frac{C\hat{v}(x,y)}{\sqrt{\hat{V}(x)\hat{V}(y)}} = \frac{\sum x_i y_i}{\sqrt{\sum x_i^2 \sum y_i^2}}$$

$$x = X_i - \bar{X}$$

$$y = Y_i - \bar{Y}$$

Onde:

$C\hat{v}(xy)$  = Estimativa da Covariancia entre os caracteres  $x$  e  $y = \frac{\sum x_i y_i}{n-1}$

$\hat{V}(x)$  = Estimativa da Variância de  $x = \frac{\sum x_i^2}{n-1}$

$\hat{V}(y)$  = Estimativa da Variância de  $y = \frac{\sum y_i^2}{n-1}$

Considerações sobre o coeficiente de correlação (CRUZ & REGAZZI, 1997):

- 1 - O coeficiente de correlação é adimensional, e seu valor é:  $-1 \geq r \geq 1$ .
- 2 - Um coeficiente de correlação igual a zero não implica na falta de associação entre duas variáveis, apenas reflete a ausência de relação linear entre essas variáveis.
- 3 - Se  $X$  e  $Y$  são duas variáveis aleatórias independentes, então a covariância e a correlação entre elas são nulas. Porém, quando a covariância e consequentemente a correlação são nulas, não é possível concluir, em geral, que as variáveis são independentes; tal associação pode ser feita quando as variáveis apresentam distribuição normal bidimensional.
- 4 - No contexto de análise de regressão simples, o coeficiente de correlação corresponde à raiz quadrada do coeficiente de determinação simples, ou ainda à média geométrica dos coeficientes angulares das regressões de  $Y$  em função de  $X$ , e vice versa, ou seja:

$$r = \sqrt{\hat{b}_{xy} \cdot \hat{b}_{yx}}$$

Se o coeficiente de regressão é negativo, certamente a correlação é negativa. Uma das grandes ferramentas que auxiliam o melhoramento de plantas é o conhecimento do interrelacionamento entre caracteres, ou melhor, do caráter a ser selecionado e dos seus componentes primários. Estas correlações podem auxiliar no entendimento e seleção de um caráter complexo, como no caso de produção de grãos, ou no caso de determinados caracteres que possuam difícil ou onerosa mensuração, como é o caso de frações nutricionais tais como porcentagem de óleo, proteína e amido no grão de cereais.

A análise de trilha - path analysis (Wright,1921; Wrigth, 1923, citados por CARVALHO, 1999) permite desdobrar os coeficientes de correlação nos efeitos diretos e indiretos sobre uma variável básica, cujas estimativas são obtidas por meio de equações de regressão, em que as variáveis são previamente padronizadas (FURTADO et al., 2002).

A estimação destes coeficientes, contudo, pode ser adversamente afetada pelos efeitos de multicolinearidade entre os caracteres envolvidos. A multicolinearidade ocorre quando as observações amostrais das variáveis explicativas, ou suas combinações lineares, são correlacionadas. Segundo CARVALHO (1995), em presença de multicolinearidade, as variâncias associadas aos estimadores dos coeficientes de trilha podem atingir valores demasiadamente elevados, tornando-os pouco confiáveis. Além disso, as estimativas dos parâmetros podem assumir valores absurdos ou sem coerência com o fenômeno biológico estudado (CARVALHO, 1999).

A correlação é uma característica intrínseca entre dois caracteres em uma dada condição ambiental, sua decomposição é dependente do conjunto dos caracteres estudados, os quais são avaliados pelo conhecimento prévio do pesquisador de suas importâncias e de possíveis inter relações expressas em diagrama de trilha, (CRUZ & REGAZI,1997).

### **2.11. Seleção indireta**

Se dois caracteres apresentam correlação genética positiva, é possível obter-se ganhos para um deles por meio da seleção indireta, resposta correlacionada, do outro caráter associado. O mérito da seleção indireta relativa à seleção direta na segunda

característica é medida pela razão da resposta correlacionada esperada sobre a resposta direta. A seleção indireta tem vantagem sobre a seleção direta quando o segundo caráter possui maior herdabilidade que o caráter principal ( a ser selecionado) e a correlação genética aditiva entre eles é grande ou se o caráter a ser selecionado possui alto custo ou dificuldade de mensuração (HALLAUER & MIRANDA, 1988).

A resposta esperada em um caráter Y, quando a seleção é aplicada sobre um caráter X, é definida pelo produto entre a resposta direta em X e o coeficiente de regressão dos valores genéticos de Y em função dos valores genéticos de X. (CRUZ & REGAZZI, 1997):

$$RY(x) = \hat{\beta}RX \quad \text{onde,}$$

RY(x) = resposta indireta em Y resultante da seleção em X.

RX = resposta direta em X

$$RX = k_x p h_x \hat{V}_{gx}$$

$k_x$  = diferencial de seleção em unidade de desvio padrão

$p$  = controle parental

$\hat{V}_{gx}$  = variância genotípica de X

$h_x$  = Raiz quadrada da herdabilidade de X

$\hat{\beta}$  = estimador do coeficiente de regressão que mede a variação nos valores genéticos de Y, com a mudança de uma unidade nos valores genéticos de X:

$$\hat{\beta} = \frac{r_g \hat{V}_{gy}}{\hat{V}_{gx}}$$

$r_g$  = Coeficiente de correlação genotípica entre X e Y

$\hat{V}_{gy}$  = variância genotípica de Y

$\hat{V}_{gx}$  = variância genotípica de X

RY = resposta direta em Y

$$Ry = k_y p h_y \hat{V}_{gy}$$

Portanto a relação  $\frac{RY(x)}{RY}$  será:  $\frac{RY(x)}{RY} = \frac{k_x h_x r_g}{k_y h_y}$

se considerarmos que  $k_x = k_y$ , ou seja a mesma intensidade de seleção foi praticada:

$$\frac{RY(x)}{RY} = \frac{h_x r_g}{h_y}$$

Portanto  $RY(x) > RY$  se  $r_g h_x > h_y$

Existe vantagem em se utilizar a seleção indireta quando:

- O caráter a ser selecionado (Y) apresentar baixa herdabilidade
- O caráter auxiliar (X) apresentar alta herdabilidade
- Existência de correlação genotípica entre X e Y.

O ganho da seleção indireta pode ser determinado pela expressão (MARTINS et al., 2003):

$$\Delta GSX(Y)\% = 100 * [DSX(Y) \times h^2_{(x)}] / \bar{x} \quad \text{onde:}$$

**$\Delta GSX(Y)$**  = é o ganho na característica X, com seleção na característica Y.

**$DSX(Y)$**  = é o diferencial de seleção indireto na característica X, com seleção em Y.

**$h^2_{(x)}$**  = Herdabilidade da característica X.

$\bar{x}$  = Média original

## 2.12. Estimadores REML/BLUP de componentes de variância

O sucesso do melhoramento genético, depende-se da adoção de procedimentos de seleção baseados em dados que reflitam, com a maior exatidão possível, os valores genéticos dos indivíduos testados (RESENDE, 2002). Em um programa “padrão” de melhoramento utilizam-se, nos estágios iniciais, dados de ensaios de performance balanceados, ou seja as famílias, linhagens ou híbridos são avaliados no mesmo conjunto de locais e anos. A existência de dados balanceados simplifica a seleção dos melhores genótipos provenientes de uma população. Porém, quando o melhorista deseja comparar dados de progênies de uma mesma população que foram plantadas

em locais e/ou anos diferentes, ou seja os dados não são balanceados uma comparação direta entre eles, não pode ser realizada (BERNARDO, 2002).

As ferramentas estatísticas para estimação dos componentes da variância e predição de valores genéticos mais utilizadas são os delineamentos estatísticos Blocos ao Acaso, Látice, Parcelas Sub Divididas ou Fatoriais, quando os dados são balanceados. Para um conjunto de dados não balanceados (e que pode ser também utilizado em dados balanceados) muito comum no melhoramento animal e de plantas perenes, HENDERSON (1963) desenvolveu a metodologia de modelos mistos, inicialmente proposta para o melhoramento de gado de leite. A partir da década de oitenta, devido aos avanços da tecnologia computacional, esta metodologia começou a ser mais utilizada, e este procedimento de predição ficou conhecido por BLUP (best linear unbiased prediction - melhor predição linear não viesada.). O procedimento BLUP ajusta os dados para os efeitos ambientais identificáveis, como efeitos de bloco, do ano da predição, do local de plantio, etc e, simultaneamente, prediz os valores genéticos dos indivíduos (RESENDE, 2002).

O procedimento BLUP permite a análise de dados desbalanceados acumulados de vários anos e locais de ensaios de produtividade, fazendo com que mais dados de performance sejam avaliados, aumentando significativamente a precisão da seleção dos melhores genótipos. Este procedimento, também explora a informação parental, maximizando a utilização de dados com maior acurácia para a seleção de genótipos superiores (BERNARDO, 2002).

Para a predição de variáveis aleatórias, cujos vetores destas variáveis são  $a$  e  $y$ , conjuntamente distribuídas, em que  $y$  é observável (dados) e  $a$  não observável (valores genéticos), existem três procedimentos de predição disponíveis: melhor predição (BP); melhor predição linear (BLP/ BLUE) e melhor predição linear não viesada (BLUP). As situações em que estes procedimentos devem ser utilizados são as seguintes (RESENDE 2002):

BP : Utilizado quando existem iguais quantidades e precisões das informações de todos os indivíduos/genótipos testados, médias e variâncias são conhecidas.

BLP : Quantidades e precisões diferentes dos dados dos genótipos envolvidos, médias e variâncias são conhecidas.



BLUP: Diferentes quantidades e precisões das informações dos genótipos envolvidos, varância conhecida e médias não conhecidas.

Atualmente o termo utilizado genericamente como BLUP refere-se à associação dos procedimentos BLUP (melhor preditor linear não viciado) e BLUE (estimador não viciado). Estes dois procedimentos diferem em que os efeitos fixos são considerados em BLUE e os aleatórios em BLUP.

Os efeitos fixos, que são constantes e não variáveis aleatórias, são estimados em BLUE. Exemplos de efeitos fixos são a média geral, efeito de diferentes tipos de solo, efeitos de um transgene, dentre outros. Os efeitos aleatórios são preditos em BLUP. Efeitos aleatórios possuem uma estrutura de covariância, enquanto efeitos fixos não.

A presença de ambos efeitos, fixos e aleatórios, sugerem um modelo misto, em que a maioria dos autores enquadram estes dois procedimentos (BERNARDO, 2002). Rotineiramente, em programas de melhoramento, os melhoristas recorrem a delineamentos estatísticos para a estimação da variância genotípica, que requerem experimentos específicos, como o BLUP, que se utiliza dos dados disponíveis nos programas para gerar a estimativa da variância genotípica, não necessitando de delineamentos específicos.

RESENDE et al.,(1996), trabalhando com Pinus, compararam a estimação/predição dos valores genéticos estimados por cinco métodos diferentes, revelaram que, em situações de dados balanceados e homogeneidade de variância genética e ambiental, os métodos de quadrados mínimos ordinários (OLS), quadrados mínimos generalizados (GLS), melhor predição (BP), melhor predição linear, (BLP/BLUE) e melhor predição linear não viesada (BLUP), se equivalem para efeitos de ordenamento de materiais genéticos mas não para a estimação de componentes de variância genética e predição de valores genéticos. Em todas as situações o método BLUP foi igual ou superior aos demais.

BUENO FILHO (1997) confrontou resultados obtidos em um experimento em látice para vários caracteres em progênies de eucalipto, aplicou os seguintes procedimentos para comparação das progênies: ordenamento com base em médias gerais de progênie (BV), seleção pelo melhor preditor linear (BLP) e melhor preditor

linear não viesado (BLUP). Concluiu-se que a metodologia BLUP foi superior às demais, apresentando propriedades estatísticas-genéticas superiores, como maior dispersão das predições, maior confiabilidade e maiores predições de progressos genéticos.

A predição dos valores genéticos e os métodos de seleção dependem de estimativas com alta acurácia dos componentes da variância e que se pressupõem conhecidos nos procedimentos BP, BLP e BLUP, mas na prática eles tem que ser estimados com a maior precisão e acurácia possíveis (RESENDE, 2002). Os principais métodos de estimação dos componentes da variância são: método dos quadrados mínimos (LS), máxima verossimilhança (ML), máxima verossimilhança restrita (REML) e método *R*, baseado no coeficiente de regressão linear.

O método de máxima verossimilhança restrita, proposto por PATTERSON & THOMPSON (1971), é o procedimanto ideal para a estimação de componentes de variância com dados desbalanceados, pois elimina o vício existente no método de máxima verossimilhança (ML), pois somente a porção da verossimilhança que é invariante aos efeitos fixos é maximizada. Na maioria das vezes, a estimação dos componentes da variância e a predição de valores genéticos são realizados simultaneamente, pelo procedimento REML/BLUP (RESENDE, 2002). O método REML permite produzir estimativas ou predições mais exatas de efeitos de tratamentos quando existem dados não balanceados no experimento. As predições dos efeitos aleatórios são forçadas em direção de uma média geral (“shrinkage”) e permitem o ajuste de diferentes variâncias de cada grupo de tratamento, ou seja, permite considerar variâncias heterogêneas, a modelagem da estrutura de correlação em experimentos com dependência espacial, medidas repetidas e em múltiplos experimentos (RESENDE, 2004).

A metodologia REML estima, nos modelos mistos, os parâmetros genéticos de um maneira não tendenciosa. Outra grande vantagem desses modelos é a de que eles consideram a covariância genética entre as observações e poderam os genótipos com desigual número de informações, na mesma ou em diferentes gerações. Isso faz com que a avaliação genética pelos modelos mistos, seja um instrumento mais eficaz que o da avaliação partindo de estimativas pelo método dos mínimos quadrados, para a

seleção de genitores, famílias e clones, com uso de informação do indivíduo e sua genealogia, avaliados no mesmo ou em diferentes locais, épocas ou gerações, (RESENDE et ali., 1996; BUENO FILHO, 1997; RESENDE,1999).

A metodologia de modelos mistos pode ser utilizada com o uso de programas estatístico-camputacionais como o SAS<sup>®</sup>- Statistical Analysis System, o ASREML e o Selegen-REML/BLUP – Sistema Estatístico e Seleção Genética Computadorizada via Modelos lineares Mistos. Estes programas permitem o ajuste de um número infinito de modelos (OLIVEIRA, 2007).

Considerando os modelos lineares para predição de valores genéticos RESENDE (2002) informa que o vetor de dados fenotípicos pode ser expresso pelo seguinte modelo:

$$y = X\beta + Za + e, \text{ em que:}$$

$y$  : vetor de médias associadas aos efeitos aleatórios;

$\beta$  : vetor de efeitos fixos;

$a$  : vetor aleatório de valores genéticos;

$e$  : vetor aleatório de erros (resíduos);

$X$  : matriz de incidência para  $\beta$ ;

$Z$  : matriz de incidência para  $a$ .

Ao vetor  $\beta$  estão associados os efeitos ambientais identificáveis, como por exemplo, efeito de local, de ano de avaliação e, também o efeito da média geral da população. Estes efeitos são quantificáveis e utilizados para o ajuste dos dados por meio de  $(y - X\beta)$ . O vetor  $\varepsilon$  contém efeitos ambientais não identificáveis, embora quantificáveis, pois ocorrem aleatoriamente. Assim, na predição de  $a$  deve-se adotar um procedimento que permita isolar  $\varepsilon$  da fração  $(y - X\beta) = (Za + e)$ .

### 3 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, K.L. E.; JENSEN, A. H. High-fat maize in diets for pigs and sows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 17, n. 3, p. 201-212, 1987.

ALEXANDER, D. E. Corn as an oil crop. In: ANNUAL HYBRID CORN INDUSTRY RESEARCH CONFERENCE, 17., 1963, Washington. **Proceedings...** Washington: American Seed Trade Association, 1963.

ALEXANDER, D. E. **Breeding special nutritional and industrial types**. Urbana: University of Illinois, 1988.

ALEXANDER, D. E.; CREECH, R. G. Breeding special industrial and nutritional types. In: SPRAGUE, G. E.; DUDLE, J. W. (Ed.). **Corn and corn improvement**. 2<sup>nd</sup>. ed. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1977. p. 363-391. (Agronomy Monography, 18).

ALEXANDER, D. E.; LAMBERT, R. J. Relationship of kernel oil content to yield in maize. **Crop Science**, Madison, v. 8, p. 272-274, 1968.

ALEXANDER, D. E.; SILVELA, S. L.; COLLINS, F. I.; RODRIGUES, R. C. Analysis of oil content of maize by Wide-line NMR. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 44, n. 10, p. 555-558, 1967.

AMAN, M. A.; SARKAR, K. R. Selection for haploid inducing potential in maize. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, Kolkata, v. 38, p. 452-457, 1978.

AOCS. American Oil Chemists Society. Determination of oil content in oilseeds. In: FIRESTONE D. (Ed.). **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society**. 5th. ed. Champaign: AOCS Press, 1998.

BARBOSA, M. P. M. **Avaliação do desequilíbrio de ligação e da origem genética em duplo-haplóides de milho**. 2009. 55 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

BAUMAN, L. F.; CONWAY, T. F.; WATSON, S. A. Heritability of variations in oil content of individual corn kernels. **Science**, Washington, v. 139, n. 3554, p. 498-499, 1963.

BERNARDO, R. **Quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma Press, 2002. p. 291.

BORDES, J.; CHARMET, G.; DUMAS DE VAULX, R.; POLLACSEK, M.; BECKERT, M.; GALLAIS, A. Doubled haploid versus family recurrent selection for testcross performance in a maize population, **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 112, p. 1063-1072, 2006.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2005. v. 1.

BUENO FILHO, J. S. S. **Uso de moderlos mistos na predição de valores genéticos aditivos em testes de progênie florestais**. 1997. 118 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

BURNS, D. A.; CIURCKZAC, W. E. (Ed.). **Hand book of near infrared analysis**. 2. ed. S. I: CRC Press, 2001. 681 p.

CÂNDIDO, L. S. **Uso de modelos mistos na avaliação e ordenação de genótipos de cana-de-açúcar, com e sem efeitos de competição com parcelas vizinhas.** 2009. 58 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

CARVALHO, C. G. P.; OLIVEIRA;V. R.; CRUZ; C. D.; CASALI, V. W. Análise de trilha sob multicolinearidade em Pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 603-613, 1999.

CARVALHO, S. P. de. **Métodos alternativos de estimação de coeficientes de trilha e índices de seleção, sob multicolinearidade.** Viçosa: UFV, 1995. 163 p.

CHASE, S. S. Production of homozygous diploids of maize from monoploids. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, p. 263-267, 1952.

CHASE, S. S. Monoploids and monoploid-derivatives of maize, **Botanical Review**, Bronx, v. 35, p. 117-167, 1969.

CLARK, D.; DUDLEY, J. W.; ROCHEFORD; T. R.; LeDEAUX, J. R. Genetic analysis of corn kernel chemical composition in the random mated 10 generation of the cross of generation 70 of IHO x ILO. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 2, p. 807-819, 2006.

COE, E. H. Anthocyanin genetics. In: FREELING, M.; WALBOT, V. (Ed.). **The maize handbook.** New York: Springer-Verlag, 1994. p. 279-281.

CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa.** Viçosa: Editora UFV, 394p. 2005.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa: UFV, 1997. 390 p.

CURTIS, J. J.; BRUNSON, A. M.; HUBBARD, J. E.; EARLE, F. R. Effect of the pollen on oil content of the corn kernel. **Agronomy Journal**, Madison, v. 48, p. 551-555, 1956.

CURTIS, P. E.; LENG, E. R.; HAGEMAN, R. H. Developmental changes in oil and fatty acid content of maize strains varying in oil content. **Crop Science**, Madison, v. 8, p. 689-693, 1968.

DOEHLERT, D. C. Distribution on enzyme activities within the developing maize (*Zea mays*, L.) kernel in relation to starch, oil, and protein accumulation. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 78, p. 560-567, 1990.

DOEHLERT, D. C.; KUO, T. M.; FELKER, F. C. Enzymes of sucrose and hexose metabolism in developing kernels of two inbreds of maize. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 86, p. 1013-1019, 1988.

DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J. Ninety cycles of selection for oil and protein in maize. **Maydica**, Bergamo, v. 37, n. 1, p. 1-7, 1992.

DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J.; ALEXANDER, D. E. Seventy generations of selection for oil and protein concentration in the maize kernel. In: DUDLEY, J. W. (Ed.). **Seventy generations of selection for oil and protein in maize**. Madison: CSSA, 1974. p. 181-212.

DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J.; DE LA ROCHE, I. A. Genetic analysis of crosses among corn strains divergently selected for percent oil and protein. **Crop Science**, Madison, v. 17, p. 111-117, 1977.

DUVICK, D. N.; CASSMAN, K. G. Post-green revolution trends in yield potential of temperate maize in the North-Central United States. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1622-1630, 1999.

DYER, D. J. Analysis of oilseeds and coarse grains. In: ROBERTS, C. A.; WORKMAN, J.; REEVES III, J. B. **Near-Infrared spectroscopy in agriculture**. Madison: IM Publishing, 2004. (Agronomy Monograph, 44).

DYER, D. J.; FENG, P. Near infrared applications in development of genetically altered grains. In: DAVIS, A. M. C.; WILLIAMS, P. (Ed.). **Near infrared spectroscopy: the future waves**. Chichester: NIR Publications, 1996. p. 490-493.

DYER, D. J.; FENG, P. NIR destined to be major analytical influence. **Feedstuffs**, Minneapolis, v. 69, n. 46, p. 18-19, 24-25, 1997.

FALCONER, D. S. **Introduction to quantitative genetics**. London: Longman, 1989. 483 p.

FALCONER, D. S.; MACKEY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Essex: Longman Green, 1996. 464 p.

FURTADO, M. R.; COSME, D. C.; CRUZ, C. D.; CARDOSO, A. C.; COELHO, A. D. F.; PETERNELLI, L. A. Análise de trilha do rendimento do feijoeiro e seus componentes primários em monocultivo e em consórcio com a cultura do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 217-220, 2002.

GARCIA-AYUSO, L. E.; VELASCO, J.; M. C. DOBARGANES, M. C.; DE CASTRO, M. D.; LUQUE, M. D. Determination of the oil content of seeds by focused microwave-assisted soxhlet extraction. **Chromatographia**, Wiesbaden, v. 52, p. 103–108, 2000.



HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HANSON, W. D. Heritability. In: HANSON, W. D.; ROBINSON, H. F. (Ed.). **Statistical genetics and plant breeding**. Washington: National Research Council, 1963.p. 125-140.

HAN, Y.; PARSONS, C. M.; ALEXANDER, D. E. The nutritive value of high oil corn for poultry. **Poultry Science**, Savoy, v. 66, n. 1, p. 103-111, 1987.

HAUFFE, D., F. HOFER, D.E. KNOWLES, J. CLARK, J.L. EZZELL, AND B.E. RICHTER,. The application of accelerated solvent extraction (ASE) to food samples, in current status and future trends in analytical food chemistry. In: THE EUROPEAN CONFERENCE ON FOOD CHEMISTRY, 1995, Vienna. **Proceedings...** p. 766-767.

HENDERSON, C. R. Selection index and expected genetic advance. In: NRC. National Research Council. **Statistical genetics and plant breeding**. Washington: National Academy Science, 1963. p. 141-163. (Publications, 982).

HERMAN, E. M. Cell and molecular biology of seeds oil bodies. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1994. p. 195-214.

HOLMAN, R. T.; EDMONDSON, P. R. Near infrared spectra of fatty acids and some related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 10, 1533-1538, 1956.

HOSPITAL, F.; MOREAUL, M.; CHARCOSSET, A.; GALLAIS, A. More the efficiency of marker assisted selection. **Theoretical Applied Genetics**, Heidelberg, v. 95, n. 8,

p. 1181-1189, 1997. Disponível em: <<http://dx.doi.org>>. DOI: 10.1007/s001220050679.

HUANG, A. H. C. Oil bodies and oleosins in seeds. **Annual Review Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 43, p. 102-118, 1992. Disponível em: <<http://dx.doi.org>>. DOI: 10.1146/annurev.pp.43.060192.001141.

HYMOWITZ, T.; DUDLEY, J. W.; COLLINS, F. I.; BROWN, C. M. Estimations of protein and oil concentration in corn, soybean, and oat seed by near-infrared light reflectance. **Crop Science**. Madison, v. 14, p. 167–170, 1974.

INGLETT, G. E. Kernel structure composition and quality. In: INGLETT, G. E. (Ed.). **Corn: culture, processing products**. West Port: The Avi Publishing Company, 1970. p. 123-137. (Major Feed and Food Crop in Agriculture and Food Series)

JELLUM, M. D.; MARION, J. E. Factors affecting oil content and oil composition of corn (*Zea mays*, L) grain. **Crop Science**, Madison, v. 6, p. 41, 1966.

KING, J. W. V.; O'FARREL, S. F. E. New method to measure oil content. **Inform**, Silver Spring, v. 8, p. 1047–1051, 1997.

KOTYC, J. J.; PAGEL, M. D.; DEPPERMAN; K. L.; COLLETTI; R. F.; HOFFMAN; N. G.; ANNAKAKIS; E. J.; DAS, P. K.; ACKERMAN, J. H. High-throughput determination of oil content in: corn kernels using nuclear magnetic resonance imaging. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Heidelberg, v. 82, n. 12, p. 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org>>. DOI: 10.1007/s11746-005-1155-5.

LAMBERT, R. J. High-oil corn hybrids. In: HALLAUER, A. R. (Ed.). **Specialty corn**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 123-145.

LASHERMES, P.; BECKERT, M. A genetic control of maternal haploid in maize (*Zea mays* L.) and selection of haploid inducing lines. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 76, p. 405–410, 1988.

LEE, K.; HUANG, A. H. C. Genes encoding oleosins in maize kernel of inbreds Mo17 and B73. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 26, p. 1981-1987, 1994.

LETCHWORTH, M. B. M.; LAMBERT, R. J. Pollen parent effects on oil, protein, and starch concentration in maize kernels. **Crop Science**, Madison, v. 38, p. 363-363, 1998.

MADE, J. M.; LAMBERT, R. J. Selection response for increase grain yield in two high oil maize's synthetics. **Indonesian Journal Science**, Bogor, v. 8, n. 1, p.1-9, 2007

MANGOLIN, C. A. **Mapeamento de QTL's associados com o teor de óleo em linhagens tropicais de milho**. 2002. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

MARTINS, I. S.; CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; PIRES, I. E. Eficiência da seleção univariada direta e indireta e de índices de seleção em *Eucalyptus grands*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 327-333, 2003.

MATTAEUS, B. Rapid Determination of the oil content in oilseeds. **Labor Praxis**, v. 22, p. 52–55, 1998.

MILLER, R. L.; BRIMHALL, B. Factors influencing the oil and protein content of corn grain. **Agronomy Journal**, Madison, v. 43, p. 305-311, 1981.

MISEVIC, D.; ALEXANDER, D. E. Twenty-four cycles of phenotypic recurrent selection for percent oil in maize. I. per se and test cross performance. **Crop Science**, Madison, v. 29, p. 320-324, 1989.

MORENO-GONZALEZ, J.; DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J. A design III study of linkage disequilibrium for percent oil in maize. **Crop Science**, Madison, v. 15, p. 840-843, 1975.

MURIGNEUX, A.; BAUD, S.; BECKERT, M. Molecular and morphological evaluation of doubled-haploid lines in maize. 2. Comparison with single-seed-descent lines. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 87, p. 278-287, 1993.

MURPHY, D. J. Structure, function, and biogenesis of storage lipid bodies and oleosins in plants. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 32, n. 3, p. 247-280, 1993.

NEUBERGER, T.; SREENIVASULU, N.; ROKITTA, M.; ROLLETSCHEK, H.; GOBEL, C.; RUTTENT, T.; RADCHUK.V.; FEUSSNER, I.; WOBUS, U.; JAKOB, P.; WEBB, A.; BORISJUK, L., Quantitative imaging of oil storage in developing crop seeds. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 6, n. 1, p. 31-45, 2008.

OHLROGGE, J.; BROWSE, J. Lipid biosynthesis. **The Plant Cell**, Rockville, v. 7, p. 957-970, 1995.

OLIVEIRA, R. A. **Seleção de famílias de maturação precoce em cana-de-açúcar via REML/ BLUP**. 2007. 127 f. Tese (Doutorado em Agronomia) -Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

ORMAN, B. A.; SCHUMANN JR., R. A. Nondestructive single kernel oil determination of maize by near-infrared transmission spectroscopy. **Journal American Oil Chemical Society**, Heidelberg, v. 69, p. 1035-1038, 1992.

ORR, D. **Corn protein, oil and starch testing services**. Washington: USDA, 1998. (GIPSA-FGIS-PN-98-16).

PATERNIANI, E. Importância do milho na agroindústria. In: OSUNA, J. A.; MORO, J. R. (Ed.). **Produção e melhoramento do milho**. Jaboticabal: FUNEP, 1990. p. 125-154.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M. S. Melhoramento do milho: In BOREN, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 1999. p. 429-485.

PATTERSON, H. D.; THOMPSON, R. Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. **Biometrika**, London, v. 58, p. 545-554, 1971.

PONELEIT, G. C., BALMAN, L. F. Diallel analyses of fatty acids in corn (*Zea mays*, L.). **Crop Science**, Madison, v. 10, p. 338-341, 1970.

PRETOVÁ, A.; OBERT, B.; BARTOSOVÁ, Z. Haploid formation in maize, barley, flax, and potato, **Protoplasma**, Vienna, v. 228, p. 107-114, 2006.

QU, R.; HUANG, A. H. C. Oleosins KD18 on the surface of oil bodies in maize. genomic and cDna sequences and deduced protein structure. **Journal Biological Chemistry**, Bethesda, v. 265, p. 2238-2243, 1990.

REGINA, R.; SOLFERINI, O. B. Produção de cultivares de ingredientes de alto valor nutricional: características e benefícios. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2004, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: CNBA, 2004. p. 105-122.

RESENDE, M. D. V. **Predições de valores genéticos, componentes de variância, delineamento de cruzamento e estrutura de populações no melhoramento florestal**. 1999. 434 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 1999.

RESENDE, M. D. V. de. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

RESENDE, M. D. V. de. **Métodos estatísticos ótimos na análise de experimentos de campo**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 65 p. (Documentos, 100).

RESENDE, M. D. V. de; DIAS, L. A. S. Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos em espécies frutíferas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 44-52, 2000.

RESENDE, M. D. V. de.; PRATES, D. F.; YAMADA, C. K.; JESUS, A. de. Estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e melhor predição não viciada (BLUP) em *Pinus*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 32/33, p. 23-42, 1996.

SARKAR, K. R.; COE, E. H. A genetic analysis of the origin of maternal haploids in maize, **Genetics**, Berlin, v. 54, p. 453-464, 1966.

SARKAR, K. R.; SUDHA PANKE, SACHAN J. K. S. Development of maternal-haploid inducer lines in maize. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 42, p. 781-186, 1972.

SCHROETER, F., ANASTASSIADES, M.; SCHERBAUM, E. Comparison of ASE (accelerated solvent extraction) with traditional extraction methods. **Chemie Labor und Biotechnic**, v. 50, n. 1, p. 4–6, 1999.

SILVELA, L.; RODGERS, R.; BARRERA, A.; ALEXANDER, D. E. Effect of selection intensity and population size on percent oil in maize, *Zea mays*, L. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 78 p. 298-304, 1989.

SOLFERINI, O. B. Produção de cultivares de milho com alta concentração de nutrientes no grão para a utilização em rações animais. In: CONGRESSO SOBRE MANEJA E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 1.. 2009, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: CBNA, 2009. p. 53-60.

SONG, X. F., SONG, T. M., DAI, J. R.; ROCHEFORD, T., LI, J. S. QTL mapping of kernel oil concentration with high-oil maize by SSR markers. **Maydica**, Rome, v. 49, p. 41-48, 2004.

SPRAGUE, G. F.; MILLER, P. A.; BRIMHALL, B. Additional studies of relative effectiveness of two systems of selection for oil content of the corn kernel. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, p. 329-331, 1952.

TAYLOR, L. S.; KING, J. W.; LIST, G. R. Determination of oil content in oilseeds by analytical supercritical fluid extraction. **Journal American Oil Chemistry Society**, Heidelberg, v. 70, p. 437–439, 1993.

THOMISON, P. R.; BARKER, D. J.; GEYER, A. B.; LOTZ, L. D.; SIEGRIST, H. J.; DOBBELS, T. L. Amino acid composition of top cross high oil maize grain. **Plant Genetics Resources**, Cambridge, v. 1, n. 2-3, p. 89-95, 2003.

WASSOM, J. J.; VENUGOPAL, M.; BOHN, M. O.; ROCHEFORD, T. R. QTL for fatty acid composition of maize kernel oil in illinois high oil × b73 backcross-derived lines. **Crop Science**, Madison, v. 48, p.69-78, 2008a.

WASSOM, J. J.; WONG, J. C.; MARTINEZ, E.; KING, J. J.; DEBAENE, J.; HOTCHKISS, J. R.; VENUGOPAL, M.; MARTIN, O.; BOHN, M. O.; ROCHEFORD, T. R. QTL Associated with maize kernel oil, protein, and starch concentrations; kernel mass; and grain yield in illinois high oil × b73 backcross-derived lines. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 243–252, 2008b.

WATSON, S. A. Corn marketing, processing, and utilization. In: SPRAGUE, G. F.; DUDLEY, J. W. (Ed.). **Corn and orn improvement**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1988. p. 881-940.

WOODWORTH, C.; LENG, E. R.; JUGENHEIMER, R. W. Fifty generations of selection for protein and oil content in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, p. 60-65, 1952.

WRIGHT, S. Correlation and causation. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 20, n. 7, p. 557-585, 1921.

WRIGHT, S. Theory of path coefficients. **Genetics**, New York, v. 8, p. 239-285, 1923.

ZANG, I.; LU, X. F.; SONG, X. F.; YAN, J. B.; SONG, T. M.; DAI, J. R.; ROCHEFORD, T. Mapping quantitative trait loci for oil, starch, and protein concentrations in grain with high-oil maize by SSR markers. **Euphytica**, Wageningen, 162:335–344, 2008.



## **CAPÍTULO 2: SELEÇÃO PARA ALTO ÓLEO EM MILHO VIA DIMENSÕES DO EMBRIÃO.**

**RESUMO:** As correlações entre os componentes das dimensões do grão e do embrião, com o caráter alto óleo, foram estudadas, tendo como objetivo encontrar a melhor variável para uma seleção indireta e com a maior resposta correlacionada para o caráter porcentagem de óleo no grão de milho. As 250 linhagens oriundas do programa de melhoramento de milho alto óleo da Monsanto do Brasil Ltda., foram testadas e as seguintes variáveis foram analisadas: comprimento do grão, largura do grão, comprimento do embrião, largura do embrião, índice de área do grão e índice de área do embrião, índice porcentagem de embrião, volume aparente do grão, peso de grãos e densidade dos grãos. As correlações genótípicas entre os caracteres foram desdobrados em efeitos diretos e indiretos, via análise de trilha. Os caracteres com as maiores correlações foram os componentes da dimensão do embrião e, dentre estes, o comprimento do embrião foi o que obteve a maior correlação direta e indireta e forneceu a resposta correlacionada mais próxima da seleção direta no caráter porcentagem de óleo no grão.

**PALAVRAS CHAVE:** Correlação; Milho Alto Óleo; Seleção Indireta.

### **1 – INTRODUÇÃO**

O milho (*Zea mays*, L) foi submetido ao mais alto grau de domesticação dentre as espécies cultivadas. A variação herdável em milho é substancialmente grande, não somente para produtividade e outros atributos agronômicos, mas também para propriedades nutricionais e industriais, proporcionando a este cereal uma ampla gama de utilização em indústrias de alimentos para humanos e animais (PATERNIANI, 1995). A importância do milho alto óleo está diretamente ligada a indústria de rações, onde o aumento de energia ingerido correlaciona-se com a maior eficiência alimentar (REGINA & SOLFERINI, 2004).

A seleção para o caráter alto óleo em milho teve seu início em 1896 (WOODWORTH et al.,1952) e o progresso genético e a contínua liberação da variabilidade para este caráter tem sido reportada periodicamente, por vários autores (DUDLEY et al.,1974; DUDLEY & LAMBERT, 1992; CLARK et al.,2006). A substituição do óleo no grão, que possui duas vezes e meia mais energia, pelo amido, resulta em uma correlação negativa entre teor de óleo e produtividade (ALEXANDER,1963;

MILLER et al.,1981; ALEXANDER, 1988; MISEVIC & ALEXANDER, 1989; MADE & LAMBERT, 2007). A porcentagem de óleo no grão é uma função do tamanho do embrião e do percentual de óleo no embrião, devido ao teor de óleo ser muito pequeno no endosperma (CURTIS et al.,1968). Na seleção direta para alto óleo, o teor de óleo aumenta, paralelamente, junto com o tamanho do embrião (DUDLEY et al. 1974).

A correlação, mensurada pelo coeficiente de correlação fenotípica, é uma ferramenta importante no melhoramento de plantas. Ela mede o grau de associação, genética ou não, entre dois ou mais caracteres (FALCONER & MACKAY,1996; BERNARDO, 2002). Existindo associação genética aditiva, a seleção em uma característica irá induzir mudanças em outra. Esta resposta correlacionada pode ser positiva ou negativa para o caráter principal, sendo a componente base para a seleção indireta (HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988; MARTINS et al., 2003).

A análise quantitativa do conteúdo de óleo em uma semente de milho, é um método analítico poderoso para auxiliar na seleção dos indivíduos ou famílias, de um programa de melhoramento seletivo ou de engenharia genética, focados no aumento do teor de óleo no milho. Existem vários métodos de análise para o teor de óleo, desde os químicos, que são demorados e destrutivos, até os que se utilizam de técnicas de infravermelho (NIRt), ressonância nuclear magnética (NMR), e ressonância nuclear magnética de imagem (NRI), métodos estes não destrutivos, passíveis de fornecer a quantidade de óleo em um grão de milho, porém com um alto custo de utilização. (DYER & FENG, 1996; KING et al.1997; DYER & FENG, 1997; KOTYK et al., 2005 NEUBERGER et al., 2008).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as correlações fenotípicas, genotípicas e seus desdobramentos em efeitos diretos e indiretos, dos componentes que conferem à dimensão do grão e embrião de milho e a possibilidade de se realizar seleção indireta, via uma das variáveis estudadas, para o caráter teor de óleo no grão, com o intuito de minimizar o custo e dificuldades técnicas inerentes ao uso das metodologias de análise de óleo no grão. A possibilidade da utilização de uma metodologia com visualização direta, rápida em com baixo custo e alta eficiência na seleção de genótipos com alto teor de óleo nos grãos.

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

Os dados, analisados e discutidos no presente trabalho, foram obtidos de um ensaio com 250 híbridos de linhagens de milho com alto teor de óleo, produzidas pelo método dos Duplo-Haplóides, oriundas do cruzamento entre duas linhagens de milho endogâmicas, contrastantes para o teor de óleo no grão: MON-UB88 (teor de óleo normal - 4,5%) e MON-UB62HO (alto teor de óleo - 9,0%). As linhagens homozigóticas obtidas, foram cruzadas com a linhagem MON-UB01, (4,9% de Óleo), formando os híbridos experimentais alto óleo (Híbridos AO). Três híbridos comerciais, AG8060, DKB393 e DKB7008 – Híbridos Simples de grãos semi dentados amarelos, adaptado às condições do Brasil Central, com teor de óleo nos grãos de 4,9%, 5,2% e 7,5% respectivamente, foram utilizados como testemunhas. O ensaio foi plantado no campo na Estação Experimental da Monsanto do Brasil Ltda em Santa Helena de Goiás, no Estado de Goiás, latitude S:17.51.039 e longitude Wo:51.06.470 em 25 de Outubro de 2006.

O delineamento utilizado foi o de Famílias com Testemunhas Intercalares, com quatro repetições das testemunhas, espaçadas equidistantes entre os Híbridos AO. O experimento foi constituído de parcelas experimentais de 3,5 m<sup>2</sup>, com uma linha de 5 m de comprimento por 0,70 m entre linhas e 25 plantas por parcela. A adubação de plantio utilizada foi de 32 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio, 112 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 72 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e com uma primeira adubação de cobertura aos 25 dias após plantio de 40 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio e 40 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e mais uma adubação em cobertura aos 45 dias após plantio de 40 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio. Os tratos culturais para controle de ervas daninhas, insetos nocivos e as irrigações foram realizados, quando necessário, de modo a manter as plantas em condições ótimas de crescimento e desenvolvimento. Todas as plantas da parcela foram manualmente autofecundadas, de modo a se obter um controle total dos genitores. Na ocasião da colheita, somente as espigas que foram totalmente polinizadas foram consideradas e, somente o terço central da espiga foi utilizado para fazer parte do bulk de grãos da parcela.

Os caracteres avaliados foram:

**%Óleo** - Teor de óleo expresso em percentagem da matéria seca dos grãos, avaliado pelo método NIRt, transmitância do infra vermelho próximo, através do estroboscópio

INFRATEC 1221, com a curva de calibração CN082702, desenvolvida pela Monsanto AgResearch Inc.

**CG** - Comprimento do grão, medida em milímetros (mm), através de paquímetro digital Mitutoyo 150, totalizando da base do grão até o topo.

**LG** - Largura do Grão, medida em milímetros, transversalmente ao comprimento do grão, considerando-se a parte mais larga do grão.

**CE** - Comprimento do Embrião, em milímetros, medido da base do embrião até o topo.

**LE** - Largura do Embrião, em milímetros, transversalmente ao comprimento do embrião, considerando-se a parte mais larga do embrião.

Para a obtenção dos valores de Comprimento do Grão e Embrião, Largura do Grão e do Embrião foi considerada a média de 8 repetições.

**PG** - Peso de 100 grãos, em gramas, utilizando-se uma balança eletrônica marca FILIZOLA, modelo BP6, com quatro repetições.

**VG** - Volume dos 100 grãos, medido em uma proveta PIREX de 100 ml.

Para o peso e volume dos grãos e embrião, utilizaram-se quatro repetições.

**ArG** – Índice Área do Grão ( $\text{mm}^2$ ) = (CG x LG)

**ArE** – Índice Área do Embrião ( $\text{mm}^2$ ) = (CE x LE)

**%E** – Índice Porcentagem do Embrião = (ArE/ArG) x 100

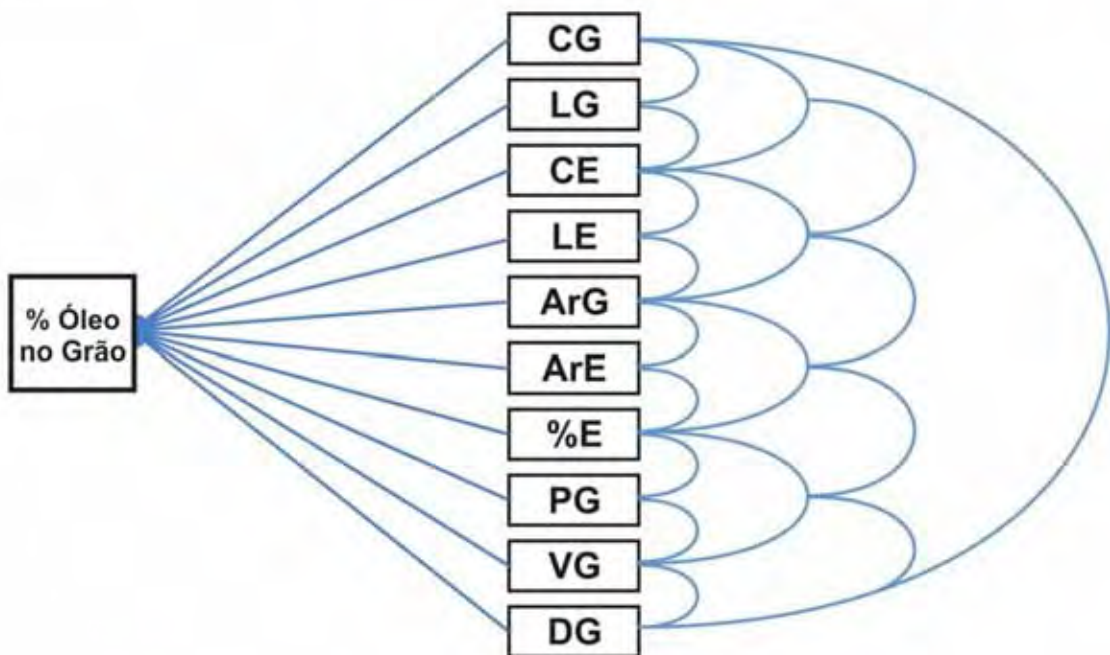
**DS** - Densidade Aparente dos Grãos (g/ml) = (PG / VG)

O grão e embrião de milho possuem formas não definidas geometricamente, cuja área exata seria obtida somente através de escaneamento de imagem, porém para facilidade de obtenção das áreas e sua relatividade, foram criados os índices acima.

As estimativas de correlação genotípica foram obtidas através das metodologias preconizadas por MODE & ROBSON (1959) e VENCOVSKY & BARRIGA (1992). Para

um melhor entendimento das associações entre as diferentes variáveis analisadas, foram realizados estudos sobre os desdobramentos dos coeficientes de correlação pela análise de trilha, que utiliza a matriz de correlações genotípicas (WRIGHT, 1923; DEWEY & LU, 1959; CARVALHO et al., 1999).

O diagrama causal, mostrando o inter-relacionamento das variáveis analisadas, é apresentado na Figura 1. Nela são mostradas as relações causa efeito entre a variável básica Teor de Óleo no Grão (%Óleo) e as variáveis: Comprimento do Embrião (CE) e Largura do Embrião (LE), o Comprimento do Grão (CG), Largura do Grão (LG), Índice Área do Grão (ArG), Índice Área do Embrião (ArE), Índice Porcentagem do Embrião (%E), Volume de Grão (VG), Peso de Grão (PG) e Densidade do Grão (DG). Como a relação entre a variável básica e as variáveis explicativas é multiplicativa, os dados foram transformados para a escala logarítmica para a análise de trilha.

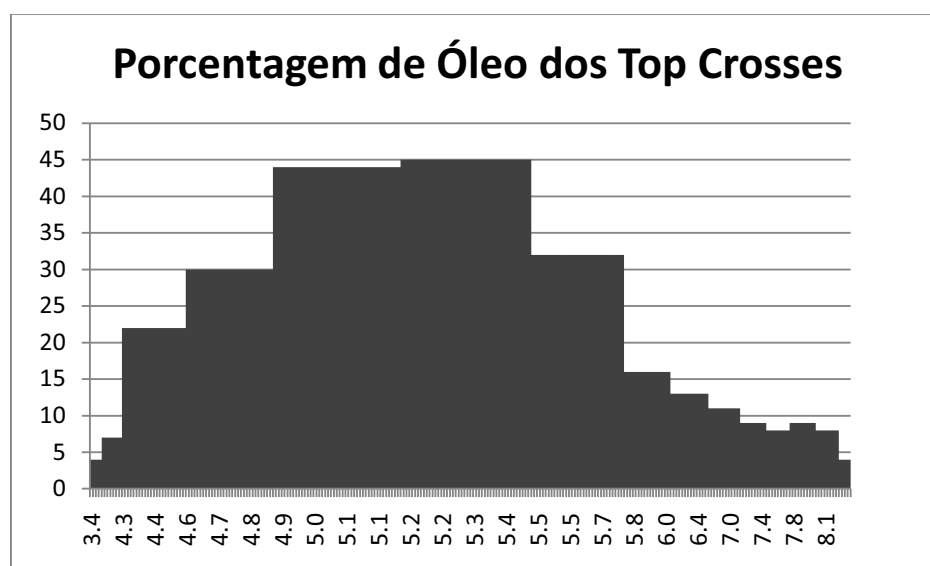


**Figura 1** - Diagrama causal, mostrando o inter-relacionamento das variáveis Porcentagem de Óleo nos Grãos (variável principal), Comprimento do Grão-CG, Largura do Grão-LG, Comprimento do Embrião-CE, Largura do Embrião-LE, Índice Área do Grão-ArG, Índice Área do Embrião-ArE, Índice Porcentagem do Embrião-%E, Peso do Grão-PG, Volume do Grão-VG e Densidade do Grão-DG.

O grau de colinearidade da matriz  $X'X$  foi estabelecido de acordo com os critérios indicados por MONTGOMERY & PECK (1981), que se baseiam nos valores do determinante e do Número de Condição que é a razão entre o maior e o menor autovalor destas matrizes. Para detectar os caracteres que contribuíram para o aparecimento da multicolinearidade, foi realizada a análise dos elementos dos autovetores associados aos autovalores (CARVALHO,1995; CARVALHO et al.,1999). A diagnose da multicolinearidade e todas as outras análises deste ensaio foram efetuadas pelo programa computacional GENES (CRUZ, 2006).

### 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média para o caráter percentual de óleo no grão, entre os 250 Híbridos AO analisados, foi de 5,57%, com uma amplitude de 5,55% , com os Híbridos AO exibindo valores de 3,37% a 8,92 pontos percentuais para este caráter. A dispersão destes valores pode ser observada na Figura 2.



**Figura 2** – Histograma dos valores da 'Porcentagem de Óleo' no grão de milho dos Híbridos AO avaliados, (Sta Helena de Goiás, GO, 2006).

Na Tabela 1 estão expressos os sumários das análises de variância, com as devidas significâncias das variâncias genotípicas dos Híbridos AO e das testemunhas e do erro, para a hipótese de nulidade. Pode-se verificar que, à exceção dos caracteres percentagem de embrião (%E,  $p = 0,1334$ ) e densidade do grão (DS,  $p=0,4664$ ), foram

observadas diferenças significativas entre as linhagens analisadas, aos níveis de 1, 5 ou 9% de significância.

Nota-se que o delineamento utilizado foi eficiente em detectar diferenças significativas ao nível de 1 e 5% de probabilidade nas variáveis relativas às dimensões do embrião das testemunhas, porém pouco robusto em detectar diferença nesse nível nas linhagens, cujas significâncias ficaram entre 6 a 9% (CE = 0,089; LE= 0,061; ArE = 0,064). A existência de variabilidade entre as linhagens e a conseqüentemente viabilidade de seleção, dentro de cada caráter e a respectiva resposta correlacionada com o teor de óleo foram modeladas com os dados existentes.

**Tabela 1-** Sumário da Análise de Variância das variáveis %Óleo, Comprimento do Grão(CG), Largura do Grão (LG); Comprimento do Embrião (AE), largura do Embrião(LE), Índice Área do Grão (ArG), Índice Área do Embrião (ArE), Índice Percentagem do Embrião (%E), Volume do Grão (VG), Peso do Grão (PG) e a Densidade dos Grãos (DS) em g/ml.

Quadrados Médios												
	GL	%Óleo	CG	LG	CE	LE	ArG	ArE	%E	VG	PG	DS
Linhagens	249	0,0359**	0,0062*	0,0039+	0,0199 +	0,0293 +	0,0124**	0,0888+	0,0633+	0,0226*	0,0299**	0,0137ns
Híbridos AO	2	0,1626**	0,0109*	0,0025 ns	0,0854**	0,1914**	0,0039ns	0,4999**	0,5209**	0,0258+	0,2708*	0,0180ns
Resíduo	9	0,0063	0,0020	0,0016	0,0088	0,0114	0,0031	0,0352	0,0323	0,0078	0,0043	0,0123
Média		5,6	11,35	7,4	8,94	4,63	84,01	42,19	49,91	28,79	19,93	0,69
CV		4,65	1,83	2,01	2,94	2,7	0,71	2,26	1,89	1,16	2,25	3,53
CVg(Hib AO)		10,14	4,78	1,46	4,33	3,16	2,82	5,37	4,98	1,21	5,39	2,31
herdabilidade		0,83	0,69	0,59	0,56	0,61	0,75	0,6	0,49	0,65	0,05	0,11

\*\*significância ao nível de 1% probabilidade; \*significância ao nível de 5% de probabilidade e +significância ao nível de 9% probabilidade

Entre as testemunhas, as únicas variáveis que não apresentaram diferenças significativas, foram a largura do grão e a densidade dos grãos. A porcentagem do embrião foi um caráter que mostrou diferença significativa baixa, entre as linhagens, porém com uma alta significância entre as testemunhas devido à existência do híbrido AG7008, de alto óleo, entre elas.

As estimativas das correlações fenotípicas obtidas entre as variáveis encontram-se na Tabela 2. Verifica-se que de todos os caracteres analisados, a largura do grão ( $r = 0,03$ ), o volume dos grãos ( $r = 0,04$ ), o peso dos grãos ( $r = -0,04$ ) e a densidade dos

grãos ( $r = -0,11$ ) não se correlacionaram significativamente com a porcentagem de óleo no grão (%Óleo), todos os outros caracteres do grão correlacionaram-se positivamente, porém com diferentes magnitudes. A correlação negativa encontrada entre o peso de grãos, a densidade dos grãos e a porcentagem de óleo nos grãos, estão de acordo com os trabalhos já realizados que correlacionam negativamente a quantidade de amido nos grãos com a porcentagem de óleo, (DUDLEY et al.1974; PAMIN et al.,1986; ALEXANDER, 1988; MADE & LAMBERT, 2007).

**Tabela 2** - Coeficientes de Correlação Fenotípica entre os Caracteres Porcentagem de Óleo no Grão (%Óleo), Comprimento do Grão (CG), Largura do Grão (LG), Comprimento do Embrião (CE), Largura do Embrião (LE), Índice Área do Grão (ArG), Índice Área do Embrião (ArE), Índice Porcentagem do Embrião (%E), Volume do Grão (VG), Peso de Grãos (PG) e Densidade de Grãos (DS). (Sta Helena de Goiás, 2006).

	%Óleo	CG	LG	CE	LE	ArG	ArE	%E	VG	PG	DS
%Óleo		0.61**	0.03ns	0.85**	0.74**	0.45**	0.84**	0.79**	0.04ns	-0.04ns	-0.11ns
CG			0.14*	0.72**	0.47**	0.78**	0.61**	0.38**	0.35**	0.22**	-0.09ns
LG				0.18**	0.24**	0.71**	0.21**	-0.05ns	0.55**	0.49**	0.02ns
CE					0.82**	0.61**	0.96**	0.86**	0.14*	0.03ns	-0.11ns
LE						0.47**	0.93**	0.90**	0.11ns	-0.06ns	-0.25**
ArG							0.55**	0.22**	0.59**	0.45**	-0.05ns
ArE								0.93**	0.10ns	0.007ns	-0.11ns
%E									-0.11ns	-0.20**	-0.15**
VG										0.77**	-0.13*
PG											0.51**
DS											

\*\* , \* : Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t.

Os caracteres com os maiores coeficientes de correlação com o teor de óleo foram os caracteres que dimensionam o embrião, confirmando a pouca contribuição do teor de óleo conferida pelo endosperma (CURTIS et al., 1968). A maior magnitude de correlação fenotípica encontrada foi a do comprimento do embrião com o teor de óleo ( $r = 0,85^{**}$ ), seguida da correlação entre o índice área do embrião com o teor de óleo ( $r = 0,84^{**}$ ). A largura do embrião também mostrou correlação significativa e positiva com a porcentagem de óleo ( $r = 0,74^{**}$ ), indicando que a porção do grão de milho com maior concentração de óleo é o embrião, confirmando as informações obtidas nos trabalhos de DUDLEY et al.(1974); CURTIS et al.(1968); MADE & LAMBERT (2007). O comprimento do grão também mostrou ter correlação positiva com a porcentagem de



óleo ( $r = 0,61^{**}$ ), sugerindo que o tamanho do grão poderia estar correlacionado positivamente com o teor de óleo, contrariando o resultado obtido por PAMIN et al. (1985) que observaram que o tamanho do grão tendeu a diminuir quando a porcentagem de óleo ultrapassou o valor de  $63 \text{ g.kg}^{-1}$  num programa de seleção para alto óleo em famílias de irmãos germanos na variedade Sintético Nebraska B e Nebraska Krug.

Os caracteres analisados mostraram uma alta colinearidade (determinante da matriz  $X'X = -0.00001855$  e  $NC=1900$ ) O valor de  $K = 0.0520478$ , foi utilizado na estimação dos coeficientes de trilha, conforme a metodologia descrita por CARVALHO, (1995). O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi de 0.9663, evidenciando que as variações desta variável básica foi em grande parte explicada por este esquema causal.

As magnitudes e os sinais dos efeitos diretos e indiretos dos coeficientes de correlação genotípica dos caracteres estudados, de acordo com o diagrama causal da Figura 1, encontram-se na Tabela 3.

**Tabela 3** - Estimativas dos Efeitos diretos e indiretos dos caracteres da Dimensão do Grãos e Embrião e Peso, Volume e Densidade do Grão, sobre o Caráter Básico Porcentagem de Óleo no Grão (%Óleo), transformados para a escala logarítmica, Comprimento do Grão (CG), Largura do Grão (LG), Lagura do Embrião (LE), Comprimento do Embrião (CE), Índice Área do Grão (ArG), Índice Área do Embrião (ArE), Volume do Grão (VG), Peso do Grão (PG) e Densidade do Grão (DS). (Santa Helena de Goiás, 2006)

VARIÁVEL CG			Estimativa dos Efeitos	VARIÁVEL LG			Estimativa dos Efeitos
Efeito Direto				Efeito Direto			
sobre	%Óleo		0.54731	sobre	%Óleo		-0.08902
Ef Ind via	LG		-0.03741	Ef Ind via	CG		0.23004
Ef Ind via	CE		0.74747	Ef Ind via	CE		0.00646
Ef Ind via	LE		-0.4092	Ef Ind via	LE		-0.01674
Ef Ind via	ArG		0.24417	Ef Ind via	ArG		0.21411
Ef Ind via	ArE		0.07538	Ef Ind via	ArE		0.00203
Ef Ind via	%E		-0.03148	Ef Ind via	%E		0.01461
Ef Ind via	VG		-0.18975	Ef Ind via	VG		-0.29968
Ef Ind via	PG		-0.10248	Ef Ind via	PG		-0.16229
Ef Ind via	DS		-0.00086	Ef Ind via	DS		-0.00133
TOTAL	CG		0.8717	TOTAL	LG		-0.1065

VARIÁVEL LE			Estimativa dos Efeitos	VARIÁVEL CE			Estimativa dos Efeitos
Efeito Direto sobre	%Óleo		-0.44396	Efeito Direto sobre	%Óleo		0.69415
Ef Ind via	CG		0.50446	Ef Ind via	CG		0.58935
Ef Ind via	LG		-0.00336	Ef Ind via	LG		-0.00083
Ef Ind via	CE		0.60385	Ef Ind via	LE		-0.3862
Ef Ind via	ArG		0.17777	Ef Ind via	ArG		0.20437
Ef Ind via	ArE		0.07189	Ef Ind via	ArE		0.07062
Ef Ind via	%E		-0.03423	Ef Ind via	%E		-0.03143
Ef Ind via	VG		-0.14311	Ef Ind via	VG		-0.1973
Ef Ind via	PG		0.06871	Ef Ind via	PG		0.01898
Ef Ind via	DS		-0.00867	Ef Ind via	DS		-0.0078
TOTAL	LE		0.7702	TOTAL	CE		0.9901
VARIÁVEL ArG			Estimativa dos Efeitos	VARIÁVEL ArE			Estimativa dos Efeitos
Efeito Direto sobre	%Óleo		0.27282	Efeito Direto sobre	%Óleo		0.07372
Ef Ind via	CG		0.48985	Ef Ind via	CG		0.55963
Ef Ind via	LG		-0.06986	Ef Ind via	LG		-0.00246
Ef Ind via	CE		0.51999	Ef Ind via	CE		0.665
Ef Ind via	LE		-0.28928	Ef Ind via	LE		-0.43295
Ef Ind via	ArE		0.05277	Ef Ind via	ArG		0.19531
Ef Ind via	%E		-0.01446	Ef Ind via	%E		-0.03411
Ef Ind via	VG		-0.27841	Ef Ind via	VG		-0.17255
Ef Ind via	PG		-0.14975	Ef Ind via	PG		0.04838
Ef Ind via	DS		-0.0013	Ef Ind via	DS		-0.00856
TOTAL	ArG		0.5464	TOTAL	ArE		0.8962

VARIÁVEL %E			Estimativa dos Efeitos	VARIÁVEL VG			Estimativa dos Efeitos
Efeito Direto sobre	%Óleo	-0.03696		Efeito Direto sobre	%Óleo	-0.29496	
Ef Ind via	CG	0.46626		Ef Ind via	CG	0.35209	
Ef Ind via	LG	0.03519		Ef Ind via	LG	-0.09044	
Ef Ind via	CE	0.59045		Ef Ind via	CE	0.46432	
Ef Ind via	LE	-0.41124		Ef Ind via	LE	-0.21541	
Ef Ind via	ArG	0.10673		Ef Ind via	ArG	0.25751	
Ef Ind via	ArE	0.06804		Ef Ind via	ArE	0.04312	
Ef Ind via	VG	-0.07344		Ef Ind via	%E	-0.0092	
Ef Ind via	PG	0.14585		Ef Ind via	PG	-0.24137	
Ef Ind via	DS	-0.01052		Ef Ind via	DS	0.00316	
TOTAL	%E	0.8786		TOTAL	VG	0.252	

VARIÁVEL PG			Estimativa dos Efeitos	VARIÁVEL DS			Estimativa dos Efeitos
Efeito Direto sobre	%Óleo	-0.24176		Efeito Direto sobre	%Óleo	0.00322	
Ef Ind via	CG	0.23201		Ef Ind via	CG	-0.14553	
Ef Ind via	LG	-0.05976		Ef Ind via	LG	0.03676	
Ef Ind via	CE	-0.05449		Ef Ind via	CE	-1.68228	
Ef Ind via	LE	0.12617		Ef Ind via	LE	1.1954	
Ef Ind via	ArG	0.16898		Ef Ind via	ArG	-0.11024	
Ef Ind via	ArE	-0.01475		Ef Ind via	ArE	-0.19603	
Ef Ind via	%E	0.0223		Ef Ind via	%E	0.12076	
Ef Ind via	VG	-0.29448		Ef Ind via	VG	-0.28985	
Ef Ind via	DS	0.00319		Ef Ind via	PG	-0.23941	
TOTAL	PG	-0.1254		TOTAL	DS	-1.3057	

O comprimento do grão mostrou alta correlação genotípica com a porcentagem de óleo (0.8717) e apresentou um efeito direto secundário sobre este caráter (0,5473), com o maior efeito indireto via comprimento do embrião (0,7474). Os outros efeitos indiretos ocorreram com baixa magnitude. A variável largura do grão obteve uma baixa

correlação genotípica (-0,1065) com o caráter principal porcentagem de óleo em concordância com a correlação fenotípica não significativa (0,0397) e um efeito direto muito baixo e negativo no caráter porcentagem de óleo (-0,08901). O índice área do grão mostrou uma correlação genotípica de 0,5464 com a porcentagem de óleo, com um efeito direto secundário de 0,2728. O maior efeito indireto foi via comprimento do embrião (0,5199). Na decomposição da correlação genotípica total sobre os componentes primários, verificou-se que a maior proporção do efeito foi sobre a variável comprimento do embrião.

Os caracteres comprimento do embrião e índice área do embrião, apresentaram as maiores correlações genotípicas ( $r = 0,9901$  e  $r = 0,8962$ , respectivamente) com a porcentagem de óleo. O caráter comprimento do embrião apresentou um efeito direto alto sobre a porcentagem de óleo (0,6941) e com um efeito baixo indireto via índice área do embrião (0,07062). A largura do embrião mostrou uma correlação genotípica de 0,7702 com a porcentagem de óleo, porém, com efeito negativo direto para este caráter (-0,4439). O maior efeito indireto observado foi via comprimento do embrião (0,6038), mostrando a interdependência entre estas variáveis. O índice área do embrião apresentou um efeito direto relativamente baixo sobre a porcentagem de óleo (0,07371) e um efeito alto via comprimento do embrião (0,6650), indicando a interdependência das duas variáveis.

O caráter porcentagem do embrião mostrou uma alta correlação genotípica com a porcentagem de óleo (0,8786), com baixo efeito direto secundário sobre esta variável (-0,03695). O maior efeito indireto foi via comprimento do embrião (0,5964), seguido do efeito indireto via comprimento do grão (0,4662). A decomposição da correlação total sobre a cadeia primária mostrou que o maior efeito indireto observado foi via comprimento do embrião (0,5904).

O caráter volume do grão mostrou uma correlação genotípica baixa de 0,252 com o caráter principal porcentagem de óleo, sendo o efeito direto secundário sobre porcentagem de óleo de -0,2949. O maior efeito indireto foi via comprimento do embrião (0,4631).

O peso de grãos teve uma correlação genotípica de -0,1254 e com efeito direto negativo sobre a porcentagem de óleo de -0,2417. O maior efeito indireto observado

para este caráter foi via Comprimento do Grão (0,2320). O peso de grãos apresentou uma correlação fenotípica não significativa e negativa com a porcentagem de óleo de -0,0478. A correlação entre peso de grãos e teor de óleo foi reportada em diversos trabalhos publicados, como sendo negativa (DUDLEY ET al. 1977; WILLMAN et al. 1987; MISEVIC & ALEXANDER, 1989; MADE & LAMBERT, 2007).

A variável densidade do grão mostrou uma correlação fenotípica negativa, porém não significativa (-0,1191ns) com a porcentagem de óleo no grão. A correlação genotípica com a porcentagem de óleo foi de -1,3057. Este resultado pode ser consequência dos efeitos adversos da multicolinearidade (altas variâncias apresentadas pelos estimadores do coeficiente de trilha), concordando apenas no sinal negativo do efeito. Espera-se que grãos com maior densidade tenham mais amido e, portanto como o teor de amido correlaciona-se negativamente com o teor de óleo (DUDLEY et al., 1977; WILLMAN et al., 1987; MISEVIC & ALEXANDER, 1989), pode-se inferir que grãos mais densos tenham mais amido e menor teor de óleo.

Os caracteres volume de grãos, peso de grãos e densidade de grãos, observados para uso numa seleção indireta sobre a porcentagem de óleo, não seriam adequados pela razão de que além de possuírem menor correlação e efeitos negativos, são caracteres cuja obtenção de valores são mais trabalhosos, não recomendados para uma seleção indireta.

De posse dos resultados obtidos, foi modelada a seleção indireta para o caráter teor de óleo no grão de milho, empregando-se todas as variáveis utilizadas neste estudo. Os resultados podem ser verificados na Tabela 4.

**Tabela 4** - Comparação da seleção direta no Caráter %Óleo e as Seleções indiretas via Comprimento do Embrião (CE), Índice Área do Embrião (ArE), índice Porcentagem do Embrião (%E), Largura do Embrião (LE), Comprimento do Grão (CG), índice Área do Grão (ArG), Volume do Grão (VG), Largura do Grão (LG), Peso do Grão (PG) e Densidade do Grão (DS), quando utilizada uma intensidade de seleção de 15% dos genótipos com maior porcentagem de óleo nos grãos.

Resposta correlacionada dos caracteres secundários com a Porcentagem de Óleo nos Grãos											
	Sel Dir %óleo	CE	ArE	%E	LE	CG	ArG	VG	LG	DS	PG
<b>Média</b>	7.77	7.39	7.33	7.26	7.25	6.90	6.24	6.03	5.65	5.56	5.23
<b>Desvio</b>	0.47	1.08	1.13	1.18	1.17	1.19	1.14	0.91	0.91	1.89	1.05
<b>Herdabilidade</b>	0.83	0.56	0.60	0.49	0.61	0.69	0.75	0.65	0.59	0.11	0.05
<b>Corr Fenot</b>	1.00	0.85**	0.84**	0.79**	0.74**	0.61**	0.45**	0.04ns	0.03ns	-0.11ns	-0.07ns
<b>Ganho Sel%</b>	32.90	27.21	26.35	25.34	25.23	19.98	9.96	6.86	1.13	0.00	0.00
<b>%GS</b>	100.01	82.69	80.10	77.01	76.68	60.74	30.28	20.85	3.42	0.00	0.00
<b>#GENsel</b>	37.00	27.00	26.00	26.00	25.00	20.00	10.00	7.00	4.00	0.00	0.00
<b>%GENsel</b>	100.00	73.00	70.30	70.30	67.60	54.10	27.00	18.90	10.80	0.00	0.00

**Média** = Média aritmética da porcentagem de óleo dos genótipos selecionados.

**Desvio** = Desvio padrão da média.

**Herdabilidade** = Herdabilidade de cada caráter utilizado para a seleção.

**Corr Fenot** = Correlação fenotípica entre os caracteres e a porcentagem de óleo no grão.

**Ganho de Sel** = Ganho de seleção, na seleção indireta, quando utilizado cada caráter. (Martins et al.,2003)

**%GS** = Porcentagem do ganho de seleção realizado com cada caráter em relação à seleção direta realizada no caráter porcentagem de óleo.

**#GENsel** = Seleção de 15% dos Genótipos realizado na seleção direta com base na porcentagem de óleo e a comparação com a seleção indireta realizada com os outros caracteres em número de genótipos iguais selecionados.

**%GENsel** = Porcentagem dos genótipos selecionados pela seleção indireta, praticada em cada caráter em relação à seleção direta na porcentagem de óleo no grão

Verifica-se que a seleção para a porcentagem de óleo, via comprimento do embrião, foi a que mais se aproximou da seleção direta, com 82,7% do ganho de seleção em percentual do teor de óleo, considerando-se uma intensidade de seleção de 15%. Isto equivale a diferencial de seleção de 1,9 pontos percentuais a mais de óleo nos genótipos selecionados, enquanto que na seleção direta o ganho de óleo foi de 2.3 pontos percentuais. A média do teor de óleo dos genótipos selecionados via comprimento de embrião, foi de 7.39%, enquanto na seleção direta foi de 7.77%, a média da totalidade dos genótipos foi de 5.51%. A concordância dos genótipos selecionados foi de 73%, ou seja, dos 37 genótipos selecionados através da seleção direta, 27 foram os mesmos selecionados pela seleção indireta via comprimento do

embrião. Houve, portanto, uma perda de 10 genótipos, quando se praticou a seleção indireta.

A seleção indireta para teor de óleo utilizando-se o caráter área do embrião proporcionou um percentual de 80,1% do ganho de seleção via seleção direta no caráter teor de óleo. Quando comparados os genótipos selecionados, observou-se que 70% dos mesmos foram selecionados, ou seja, 26 dos 37 genótipos via seleção direta.

A porcentagem de embrião aproximou-se, quando utilizada para seleção indireta para a porcentagem de óleo, da mesma eficiência que a área do embrião, com um percentual do ganho de seleção de 77,0% e selecionando 26 genótipos dos 37 da seleção direta. A principal vantagem da utilização do percentual do embrião como caráter a ser selecionado, é a sua fácil determinação, pois a relatividade do embrião com o grão é uma característica de fácil determinação, quando se comparam sementes de milho.

A largura do embrião obteve 76,7% do ganho de seleção direta no caráter principal, porcentagem de óleo, ou seja, obteve 1,7 pontos percentuais na seleção indireta contra 2,3 na seleção direta para o caráter principal. Através da seleção via largura do embrião, 25 genótipos selecionados foram os mesmos quando se utilizou a seleção direta, que corresponde a 67,6% dos genótipos selecionados via o caráter porcentagem de óleo no grão.

Os resultados obtidos indicam que os caracteres do embrião são os que fornecem a maior resposta correlacionada numa seleção indireta para o caráter porcentagem de óleo no grão. O que ratifica o embrião como o principal local de armazenamento do óleo no grão do milho, tal como citado em diversos trabalhos já realizados (CURTIS et al., 1968; DUDLEY et al., 1974; MADE & LAMBERT, 2007).

A herdabilidade do caráter porcentagem de óleo no grão (0,83) é maior do que todas as herdabilidades dos caracteres secundários e, portanto, a utilização dos caracteres secundários numa seleção indireta pode, após vários ciclos, diminuir o ganho de seleção para o caráter principal, portanto é recomendada a alternância de ciclos de seleção indireta com um ciclo de seleção direta para o caráter porcentagem de óleo.

Na análise de regressão realizada com os dados obtidos verificou-se que a equação de regressão, utilizando-se como variável independente X o comprimento do embrião e a variável dependente Y a porcentagem de óleo, foi a seguinte:  $\%Oil = -1.695 + 0.815CE$ , permitindo estimar o percentual de óleo no grão através do comprimento do embrião neste conjunto de dados.

Para uma seleção efetiva de linhagens de milho alto óleo, recomenda-se a seleção visual do embrião, levando-se em conta principalmente o comprimento, entre grãos individuais nas gerações segregantes F2 e F3. Nas gerações mais avançadas recomenda-se recorrer à seleção direta via uma amostra da família (bulk), utilizando preferencialmente, um método não destrutível como o NIR, NMR ou NRI, para minimizar os efeitos das menores herdabilidades encontradas nos caracteres da dimensão do embrião quando comparadas com a do caráter principal.

#### **4 - CONCLUSÕES**

- 1- Os caracteres que evidenciaram as maiores correlações com o teor de óleo nos grãos foram aqueles relacionados com o tamanho do embrião: o comprimento, a área, o percentual e a largura do embrião.
- 2- Pela decomposição dos efeitos dos caracteres do grão e do embrião analisados, verificou-se que o comprimento do embrião apresentou o maior efeito direto sobre o teor de óleo e sendo também o caráter que proporcionou os maiores efeitos indiretos sobre a porcentagem de óleo em relação aos demais caracteres estudados.
- 3- A seleção indireta via comprimento do embrião, foi a que mais se aproximou do ganho de seleção, quando utilizada a seleção direta para a porcentagem de óleo no grão, mostrando ser a melhor característica a ser utilizada para uma seleção indireta para o caráter porcentagem de óleo.



## 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, D. E. Corn as an oil crop.1963, In: ANNUAL HYBRID CORN INDUSTRY RESEARCH CONFERENCE, 17., 1963, Washington, DC. **Proceedings...** p. 85-91.

ALEXANDER, D. E. Breeding special nutricional and industrial types. In: SPRAGUE, G. F.; FUCCILLO, D. A. **Corn and corn improvement**. Urbana: University of Illinois, 1988. p. 363-386. (Agronomy, 18).

ALEXANDER, D.; SILVELVA, S.; COLLINS, F. I.; RODGERS, R. C. Analysis of oil content of maize by wide line NMR. **Oil Chemistry Society**, v. 44, p. 555-558, 1967.

BERNARDO, R. **Quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma Press, 2002. p. 291.

CARVALHO, C. G. P.; OLIVEIRA, V. R.; CRUZ; C. D.; CASALI, V. W. Análise de trilha sob multicolinearidade em Pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v. 34, n. 4, p. 603-613, 1999.

CARVALHO, S. P. de. **Métodos alternativos de estimação de coeficientes de trilha e índices de seleção, sob multicolinearidade**. Viçosa. UFV, 1995. 163 p.

CLARK, D.; DUDLEY; J. W.; ROCHEFORD; T. R.; Le DEAUX, J. R. Genetic analysis of corn kernel chemical composition in the randon mated 10 generation of the cross of generation 70 of IHOxILO. **Crop Science**, Madison, v. 46, p. 807-819, 2006.

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

CURTIS, P. E.; LENG, E. R.; HAGEMAN, R. H. Developmental changes in oil and fatty acid content of maize strains varying in oil content. **Crop Science**, Madison, v. 8, p. 689-693, 1968.

DEWEY, D. R.; LU, K. H. A correlation and path coefficient analysis of components of crested wheatgrass seed production. **Agronomy Journal**, Madison, v. 51, p. 515-518, 1959.

DOEHLERT, D. C.; KUO, T. M.; FELKER, F. C. Enzymes of sucrose and hexose metabolism in developing kernels of two inbreds of maize. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 86, p. 1013-1019, 1988.

DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J. Ninety cycles of selection for oil and protein in maize. **Maydica**, Bergamo, v. 37, p. 1-7, 1992.

DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J.; ALEXANDER, D. E. Seventy generations of selection for oil and protein concentration in the maize kernel. In: DUDLEY, J. W. (Ed.). **Seventy generations of selection for oil and protein in maize**. Madison: CSSA, 1974. p. 181-212.

DUDLEY, J. W.; LAMBERT; R. J.; DE LA ROCHE, I. A. Genetic analysis of crosses among corn strains divergently selected for percent oil and protein. **Crop Science**, Madison, v. 17, p. 111-117, 1977.

DYER, D. J.; FENG, P. Near infrared applications in the development of genetically altered grains. In DAVIS, A. M. C.; WILLIAMS, P. (Ed.). **Near infrared spectroscopy: the future waves**. Chichester: NIR Publications, 1996. p. 490-493.

DYER, D. J.; FENG, P. NIR destined to be major analytical influence. **Feedstuffs**, Minneapolis, v. 69, p. 16-25, 1997.

FALCONER, D. S.; T. F. C. MACKEY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Addison: Wesley Longman, 1996. 464 p.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

INGLETT, G. E. Kernel structure composition and quality. In: INGLETT, G. E. (Ed.). **Corn: culture, processing, products**. Athens: Avi.CT, 1970. p. 123-137.

KING, J. W. V.; O'FARREL, S. F. E. New method to measure oil content. **Inform: the magazine of information and image management**, Silver Spring, v. 8, p. 1047–1051, 1997.

KOTYC, J. J.; PAGEL; M. D.; DEPPERMAN; K. L.; COLLETTI; R. F.; HOFFMAN; N. G.; YANNAKAKIS; E. J.; DAS; P. K.; ACKERMAN, J. J. H. High-throughput determination of oil content in corn kernels using nuclear magnetic resonance imaging. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Heidelberg, v. 82, dec. 01, 2005.

MADE, J. M.; LAMBERT, R. J. Selection response for increase grain yield in two high oil maize synthetics. **Indonesian Journal Science**, Bogor, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2007.

MARTINS, I. S.; CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; PIRES, I. E. Eficiência da seleção univariada direta e indireta e de índices de seleção em Eucalyptus grands. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 27, n. 3, p. 327-333, 2003.

MILLER, R. L.; DUDLEY; J. W.; ALEXANDER, D. E. High intensity selection for percent oil in corn. **Crop Science**, Madison, v.21, p.433-437, 1981.

MISEVIC, D.; ALEXANDER, D. E. Twenty-four cycles of phenotypic recurrent selection for percent oil in maize. I. per se and test cross performance. **Crop Science**, Madison, v. 29, p. 320-324, 1989.

MODE, J. C.; ROBSON, H. F. Pleiotropism and the genetic variance and covariance. **Biometrics**, Washington, v. 15, p. 518-537, 1959.

MONTGOMERY, D. C.; PECK, E. A. **Introduction to linear regression analysis**. New York: John Wiley & Sons, 1981. 504 p.

NEUBERGER, T.; SREENIVASULU, N.; ROKITTA, M.; ROLLETSCHEK, H.; GÖBEL, C.; RUTTEN, T.; RADCHUK, V.; FEUSSNER, I.; WOBUS, U.; JAKOB, P.; WEBB, A.; BORISJUK, L. Quantitative imaging of oil storage in developing crop seeds. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 6, p. 31-45, 2008.

PAMIN, K., COMPTON, W. A. T.; WALKER, C. E.; ALEXANDER, D. E. Genetic variation and selection response for oil composition in corn. **Crop Science**, Madison, v. 26, p. 279-282, 1986.

PATERNIANI, E. Importância do milho na agroindústria. In: OSUNA, J. A.; MORO, J. R. (Ed.). **Produção e melhoramento do milho**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p. 125-154.

REGINA, R.; SOLFERINI, O. B. Produção de cultivares de ingredientes de alto valor nutricional: características e benefícios. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2004, Uberlandia, MG. **Anais...** Uberlândia: CNBA, 2004. p. 105-122.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fito melhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

WILLMAN, M. R.; BELOW, F. E.; LAMBERT; R. J.; DOWEY; A. E.; MIES, D. W. Plants traits related to productivity of maize. 1. Genetic variability, environmental variations, and correlation with grain yield and stalk lodging. **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 1116-1121, 1987.

WOODWRTH, C. M.; LENGE. R.; JUGENHEIMER, R. W. Fifty generations of selection for protein and oil content in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, p. 60-65, 1952.

WRIGHT, S. Theory of path coefficients. **Genetics**, New York, v. 8, p. 239-285, 1923.

## **CAPÍTULO 3 - ORDENAÇÃO, SELEÇÃO E PARÂMETROS GENÉTICOS DO CARÁTER “ALTO ÓLEO” EM MILHO.**

### **3.1: ORDENAÇÃO, SELEÇÃO E PARÂMETROS GENÉTICOS DO CARÁTER “ALTO ÓLEO” EM MILHO AVALIADO POR METODOLOGIAS DE MODELO FIXO E MISTO EM CONJUNTOS DE ENSAIOS BALANCEADOS.**

**RESUMO:** O melhoramento para milho com alto teor de óleo no grão tem sido o objetivo principal de vários programas de melhoramento. Porém pouca informação existe sobre o caráter teor de óleo nos grãos nas áreas e genótipos tropicais. Trezentas e quinze linhagens de milho provenientes do cruzamento de duas linhagens contrastantes para o teor de óleo foram testadas em sete ensaios avaliados em quatro locais no Brasil Central. Foram avaliadas três metodologias para a estimativa dos parâmetros genéticos, a metodologia tradicional, a metodologia REML/BLUP com variância homogênea (BLUP Homo) para todos os locais e a metodologia REML/BLUP com variância heterogênea (BLUP Hetero) com variância, ponderadas por local, e avaliadas dentro de cada ensaio. Os resultados obtidos evidenciaram que a metodologia tradicional e o BLUP Homo promoveram as mesmas estimativas para os parâmetros genéticos, variância da interação genótipo por ambiente e variância do erro, devido a serem ensaios balanceados. A metodologia BLUP Hetero proporcionou as menores estimativas da variância da interação genótipo x ambiente, as maiores estimativas da variância genética e fenotípica e as maiores estimativas da herdabilidade, quando comparadas às metodologias Tradicional e BLUP Homo. As metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero tiveram maior poder de discriminação dos genótipos evidenciados pelos menores erro padrão dos ensaios. A ordenação dos genótipos foi igual para as metodologias Tradicional e a do BLUP Homo e diferente no BLUP Hetero. A substituição dos genótipos selecionados pelo método tradicional por outros selecionados pela metodologia BLUP Hetero foi devida a menor variância dos dados dentro e entre locais. A metodologia REML/BLUP com variâncias heterogêneas mostrou ser a metodologia mais precisa na seleção dos genótipos superiores para o caráter alto óleo em milho.

**PALAVRAS CHAVE:** Milho Alto Óleo, Metodologia REML/BLUP, Parâmetros Genéticos, Seleção.

## 1 - INTRODUÇÃO

A alta concentração de nutrientes nos grãos tem sido a meta de vários programas de melhoramento de muitos cereais, inclusive o milho, aumentando o teor ou qualidade de óleo, proteína ou amido com foco na alimentação humana e animal, (LAMBERT, 1994). O milho alto óleo, além de aumentar a densidade energética também melhora o balanço de aminoácidos, devido ser a densidade de lipídeos 2,25 vezes maior do que a do amido e de possuir um embrião maior, onde são encontrados as maiores quantidades dos aminoácidos essenciais (ALEXANDER, 1963; LAMBERT, 1994; WASSOM et al., 2008).

A correlação positiva existente entre o teor de amido e o peso do grão fez com que o melhoramento acentuado para o aumento de produtividade por área e características agronômicas desejáveis, resultassem em uma perda relativa de nutrientes no grão como, principalmente, proteína e óleo, (MADE & LAMBERT, 2007). A resposta contínua à seleção por várias gerações, bem como a resposta à seleção reversa em gerações avançadas, sugerem que um grande número de locos segregantes estão envolvido na herança do teor de óleo no grão de milho (SPRAGUE et al. 1952; ALEXANDER, 1963; DUDLEY, 1977). Verificou-se que efeitos genéticos de dominância ou heterose não tem sido detectados em cruzamentos de linhagens para a característica alto óleo, e também não foi detectada depressão por endogamia, portanto foi presumido que o caráter alto óleo em milho está sob controle genético aditivo (DUDLEY 1977; SILVELA et al., 1989). O teor de óleo no milho é regido por poligenes e, portanto quantitativo (DUDLEY, 1977; MADE & LAMBERT, 2007) e apresenta uma alta herdabilidade, da ordem de 70% (HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988).

O melhoramento para milho alto óleo tem sido realizado e reportado nas regiões temperadas, principalmente nos Estados Unidos e China. Poucos trabalhos têm sido realizados nas regiões tropicais, portanto, não se conhece a interação genótipo x ambiente, herbabilidade, variância genética e outros parâmetros genéticos importantes para um programa de seleção para o caráter alto óleo em milho tropical.

No melhoramento de plantas, a maioria das análises têm sido realizadas baseadas em modelo fixo para a estimação de médias de tratamentos, mesmo quando

estes forem obtidos por amostragem numa população. Isto é, em situações que o modelo é tipicamente misto, pois inclui, além de efeitos fixos (por exemplo, locais, épocas e blocos), efeitos aleatórios dos genótipos (DUARTE & VENCOVSKY, 2001).

A utilização de análises de modelo misto tem sido mais empregada em análises de experimentos com plantas perenes. O uso desta metodologia é muito pouco utilizado na análise de experimentos em plantas anuais. Porém, o uso da metodologia REML/BLUP poderá trazer vantagens em sua utilização para estes programas devido ao seu poder de melhor estimar os parâmetros genéticos e possuir maior poder de discriminação entre genótipos (RESENDE, 2002).

Na modelagem mista, a predição dos valores genéticos dos candidatos a seleção é realizada através de componentes de variância conhecidos ou estimados com precisão. De acordo com RESENDE (2000), o procedimento ótimo de predição de valores genéticos é o BLUP (melhor preditor linear não - viesado) e o procedimento ótimo de estimação de componentes e variância é o REML (máxima verossimilhança restrita).

Em programas de melhoramento, e comum, para otimização de recursos, a divisão das progênies, de uma população, a serem avaliadas, em grupos, os quais podem ser avaliados nos mesmos locais ou não.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de modelos mistos para se conhecer a magnitude dos parâmetros genéticos e a ordenação dos genótipos visando à seleção para o caráter alto óleo em uma população de linhagens homozigóticas oriundas do cruzamento de uma linhagem endogâmica com alto teor de óleo com outra de baixo teor de óleo, em germoplasma tropical, testadas em quatro localidades no Brasil Central em conjuntos balanceados.

## **2 - MATERIAL E MÉTODOS**

Os genótipos experimentais foram constituídos de trezentas e quinze linhagens desenvolvidas pelo método dos duplos haplóides, obtidas do cruzamento entre duas linhagens de milho endogâmicas, contrastantes para o teor de óleo no grão: MON-UB88 (teor de óleo normal - 4,5%) e MON-UB62HO (alto teor de óleo - 9,0%), cuja descrição é apresentada a seguir.



MON-UB88 linhagem desenvolvida no Centro de Pesquisa da Monsanto na localidade de Passo Fundo, no Estado do Rio Grande do Sul, de ciclo precoce, grãos amarelos dentados e teor de óleo nos grãos normal - 4,5% matéria seca, desenvolvida pelo método tradicional do pedigree.

MON-UB62HO - linhagem de milho desenvolvida no Centro de Pesquisa da Monsanto na localidade de Uberlândia no Estado de Minas Gerais, de ciclo normal, grãos duros, cor alaranjada e com alto teor de óleo nos grãos – 9,0% matéria seca, desenvolvida pelo método tradicional de pedigree.

As 315 linhagens obtidas foram cruzadas com uma linhagem testadora, MON-UB01, que é uma linhagem de milho desenvolvida no Centro de Pesquisa da Monsanto na localidade de Uberlândia, Estado de Minas Gerais de ciclo tardio, grãos amarelos dentados e com teor normal de óleo nos grãos – 5,0%.

Os 315 híbridos experimentais de alto óleo (Híbridos AO) foram obtidos em um Campo Isolado, onde as 315 linhagens foram plantadas como fêmeas e despendoadas na época do florescimento para que a linhagem MON-UB01, plantada como macho e, com a proporção de 4:2, ou seja quatro fileiras de fêmea para duas de macho, polinizasse a inflorescência feminina (estilo-estigmas) das linhagens fêmeas, produzindo os Híbridos AO.

As testemunhas utilizadas nos ensaios foram os seguintes híbridos comerciais: P30F90 – Híbrido de grãos semidentados amarelos de ciclo normal, adaptado às condições edafoclimáticas da região dos Cerrados Brasileiros, com teor de óleo de 5,2% ms. P30F87 – Híbrido de grãos flint alaranjados de ciclo normal, adaptado às regiões do Brasil Central, com teor de óleo de 5,4% ms. DKB390 – Híbrido de grãos semidentados amarelos de ciclo precoce, adaptado às regiões de baixa altitude (<700m) de ampla aptidão adaptativa, com teor de óleo de 5,5% ms. DKB393 – Híbrido de grãos semiflinte amarelos de ciclo tardio, adaptado às condições edafoclimáticas do Cerrado Brasileiro, com teor de óleo de 5,2% ms. DKB7008 – Híbrido de grãos semidentados amarelos, adaptado às condições do Brasil Central, com alto teor de óleo nos grãos, 7,5% ms.

No presente trabalho, a polinização nos ensaios foi aberta, devido ser verificado que em situações em que o desenvolvimento gevetativo das plantas de milho foi

normal, ou seja em boas condições hídricas e de fertilidade adequadas, a polinização das plantas dentro de cada parcela é praticamente realizada entre elas, possuindo pouca interferência das parcelas circunvizinhas.

O delineamento utilizado foi o de Blocos ao Acaso. Os 315 Híbridos AO foram distribuídos em 7 ensaios, cada um com 45 híbridos experimentais e 5 testemunhas, num total de 50 genótipos, plantados em 4 locais, conforme mostrado na Tabela 1, com 2 repetições por local, num total de 2800 parcelas avaliadas. O número total de localidades utilizadas para avaliação dos genótipos foram 6, sendo que cada ensaio foi plantado em 4 locais, conforme descrito na Tabela 2. Os ensaios foram plantados de Outubro a Novembro de 2006 nas localidades de Brasília-DF, Unaí-MG, Uberlândia-MG, Uberaba-MG, Passos-MG e Chapadão do Sul-MS (Tabela 2).

**Tabela 1** – Conjunto de ensaios, número de Híbridos AO, número de testemunhas, número de locais, número de repetições por local, total de repetições e total de parcelas testados no Brasil Central em 2006.

Ensaio	Híbridos AO	Testemunhas	Total de Genótipos	Número de locais	Repetições por local	Total de Repetições	Total de parcelas
<b>75674</b>	45	5	50	4	2	8	400
<b>75675</b>	45	5	50	4	2	8	400
<b>75676</b>	45	5	50	4	2	8	400
<b>75607</b>	45	5	50	4	2	8	400
<b>75697</b>	45	5	50	4	2	8	400
<b>75698</b>	45	5	50	4	2	8	400
<b>75699</b>	45	5	50	4	2	8	400
<b>Total</b>	315		350			56	2800

**Tabela 2-** Locais onde os ensaios alto óleo foram plantados, no verão de 2006.

Ensaio	Unai -MG	Chapadão do Sul - MS	Brasília - DF	Uberlândia-MG	Passos - MG	Uberaba - MG
75674	X	X	X	X		
75675	X	X	X	X		
75676	X	X	X	X		
75607			X	X	X	X
75697			X	X	X	X
75698			X	X	X	X
75699			X	X	X	X

As parcelas experimentais foram constituídas de duas linhas de 5 metros, distanciadas uma das outras em 80 cm, com uma área de 8 m<sup>2</sup>. O plantio foi realizado por meio de uma plantadeira SLC 710 adaptada para o plantio de parcelas experimentais para o sistema de plantio direto, plantando duas parcelas por vez. Foram plantadas 35 sementes por linha e, após o desbaste realizado no 20º dia após o plantio, foram deixadas 25 plantas por linha ou 50 plantas por parcela estabelecendo uma densidade de 62500 plantas por hectare. A adubação de plantio utilizada foi de 32 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio, 112 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 72 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e com uma primeira adubação de cobertura aos 25 dias após plantio de 40 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio e 40 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e mais uma adubação em cobertura aos 45 dias após plantio de 40 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio. Os tratos culturais para controle de ervas daninhas, insetos nocivos e as irrigações foram realizados quando necessário, de modo a manter as plantas em condições ótimas de crescimento e desenvolvimento.

A colheita foi realizada por uma colheitadeira Hallis Chalmer 5200, adaptada para a colheita de parcelas experimentais e coleta de amostras dos grãos destas parcelas, com capacidade de colheita de uma parcela por vez.

Os caracteres avaliados foram produtividade de grãos, que não será objeto deste trabalho e porcentagem de óleo no grão – obtido por meio de uma amostra de 200 g de grãos de cada parcela. No laboratório as amostras foram submetidas à análise de óleo no equipamento INFRATEC 1200, por meio de transmitância do vermelho próximo (NIRt).

As análises de variância para cada local, conjunta para cada grupo, geral, considerando todos os genótipos e locais, foram realizadas com o auxílio do programa computacional SAS® (SAS 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA). Com base nestas análises, foram estimadas as estimativas das variâncias genéticas e fenotípicas, estimativa da variância da interação genótipo x ambiente, a estimativa da variância do erro, as estimativas dos coeficientes de herdabilidade e o coeficiente de variância genética, considerando os modelos fixos e mistos para cada conjunto de ensaio.

No presente trabalho, os dados de porcentagem de óleo foram submetidos à análise segundo três metodologias distintas: o método tradicional, a metodologia de modelos mistos com estrutura de variância residual homogênea e a metodologia de modelos mistos com estrutura de variância residual heterogênea.

## 2.1. Metodologia tradicional

O modelo matemático utilizado para a estimação dos componentes de variância, foi o seguinte:

$$Y_{i(j)l} = \mu + a_i + b/a_{(j)l} + t_i + ta_{il} + e_{i(j)l}, \text{ onde:}$$

$Y_{i(j)l}$  = observação do tratamento  $i$  na repetição  $j$  no ambiente  $l$ .

$\mu$  = constante inerente a todas as observações.

$t_i$  = efeito aleatório de tratamentos  $t_i \sim NIID(0, \hat{\sigma}_t^2)$ ;

$b/a_{(j)l}$  = efeito aleatório de repetições dentro de ambientes  $b/a_{(j)l} \sim NIID(0, \hat{\sigma}_b^2)$

$a_i$  = efeito aleatório de ambientes  $a_e \sim NIID(0, \hat{\sigma}_e^2)$

$ta_{ij}$  = efeito da interação genótipo x ambiente  $ta_{il} \sim NIID(0, \hat{\sigma}_{ga}^2)$

$e_{i(j)l}$  = erro experimental associado à parcela  $i(j)l$ .  $e_{i(j)l} \sim NIID(0, \hat{\sigma}^2)$

As estimativas dos componentes da variância residual ( $\hat{\sigma}^2$ ), da interação genótipo por ambiente ( $\hat{\sigma}_{ga}^2$ ) e a genética ( $\hat{\sigma}_g^2$ ) foram obtidas através do proc varcomp do SAS® adotando o método dos momentos, a partir da solução do sistema de equações obtidas ao igualar as esperanças matemáticas dos quadrados médios, a seguir, aos seus respectivos valores observados.

---

Genótipos	$\sigma^2 + j\sigma_{ag}^2 + lj\sigma_g^2$	
Genótipos x Ambiente	$\sigma^2 + j\sigma_{ag}^2$	
Erro	$\sigma^2$	onde:

---

$j$  = número de repetições

$l$  = número de ambientes

Após a obtenção das estimativas dos componentes da variância, calcularam-se as médias da porcentagem de óleo nos grãos dos Híbridos AO para que os mesmos fossem submetidos à ordenação e seleção de 15% dos que apresentaram maior teor de óleo.

## 2.2. Metodologia de modelos mistos com estrutura residual homogênea

Utilizou-se o mesmo modelo e pressuposições anteriormente apresentados, porém, o processo de estimação-predição seguiu a metodologia dos modelos mistos (HENDERSON, 1975). Essa metodologia consiste na obtenção de predições dos valores genotípicos tratados como efeito aleatório. As estimativas dos componentes de variância foram obtidas pelo método da máxima verossimilhança restrita (*Restricted Maximum Likelihood* -REML) descrito por PATTERSON & THOMPSON (1971) e a predição dos valores genotípicos de cada indivíduo foi obtido pelo melhor preditor linear não viesado (BLUP), (REZENDE & MENDES, 1996).

O modelo misto é matricialmente representado por:  $y = X\beta + Za + e$ , em que:

$y$ : vetor ( $n \times 1$ ) de observações;

$X$ : matriz ( $n \times p$ ) de incidência dos efeitos fixos  $b$  ;

$Z$ : matriz ( $n \times q$ ) de incidência dos efeitos aleatórios  $a$  (genéticos ou ambientais);

$\beta$  : vetor ( $p \times 1$ ) de efeitos fixos a serem estimados;

$a$  : vetor ( $q \times 1$ ) de efeitos aleatórios ou valor genético (VG) dos genótipos a serem preditos;  $e$

$e$  : vetor ( $n \times 1$ ) de erros aleatórios associados a cada observação. Assumiu-se que:  $e \sim Nn(0, R)$ , sendo  $R$  a matriz de variâncias e covariâncias residuais, dada por  $R = I\sigma^2$  e

$a \sim Nq(0, G)$ , sendo  $G$  a matriz de variâncias e covariâncias genéticas dada por:  $G = I\sigma_g^2$ , onde  $\sigma_g^2$  denota a variância genética, da interação genótipos por ambiente ou de locais, dependendo do componente a ser estimado. A matriz  $A$  corresponde à matriz de parentesco genético entre genótipos. No presente trabalho assumiu-se que  $A$  é igual à matriz identidade ( $I$ ) e, portanto:  $G = I\sigma_g^2$ .

No modelo em questão é assumido, ainda, não existir covariância entre os desvios residuais ( $e$ ) e efeitos genéticos ( $a$ ), ou seja,  $Cov(a, e) = 0$ . Assim, o sistema equações de modelo misto (EMM) que permite obter simultaneamente o preditor para efeitos aleatórios ( $\hat{a}$ ) e o estimador dos efeitos fixos ( $\hat{b}$ ), é matricialmente representado por:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\sigma_e^2/\sigma_g^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{a} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix} \quad \text{HENDERSON (1975).}$$

E a melhor predição linear não-viesada (BLUP) é igual:  $BLUP(\hat{a}) = GZV^{-1}(y - X\hat{b})$  sendo:  $GZ = Cov(y, a)$  HENDERSON (1963).

### 2.3. Metodologia de modelos mistos com estrutura de variância residual heterogênea

As estimativas componentes de variâncias e BLUPs foram obtidas como anteriormente descritos. Porém, neste caso, adotou-se uma estrutura para a matriz de variância-covariância  $R$ , com variâncias heterogêneas entre locais (Bloco – diagonal – cada local apresentando uma variância residual diferente),  $R = I\sigma^2_l$ .

## 2.4. Parâmetros de comparação entre os modelos

A variância fenotípica foi estimada através da expressão:

$$\hat{\sigma}_f^2 = \hat{\sigma}_g^2 + \frac{\hat{\sigma}_{ga}^2}{J} + \frac{\hat{\sigma}^2}{JA}, \quad \text{onde:}$$

J = número de repetições por local

A = número de ambientes

O coeficiente de herdabilidade foi estimado utilizando-se a seguinte expressão:

$$\widehat{h^2} = \hat{\sigma}_g^2 / \hat{\sigma}_f^2, \quad \text{onde:}$$

$\hat{\sigma}_g^2$  = Variância Genética

$\hat{\sigma}_f^2$  = Variância Fenotípica

Os coeficientes de variação genético foi estimado da seguinte maneira:

$$CV_g = \left( \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\bar{x}} \right) 100$$

Os parâmetros adotados para a comparação entre as metodologias foram as estimativas da variância genética, da variância do erro, da variância da interação genótipo por ambiente, da herdabilidade e o coeficiente de variação genético. Para a ordenação dos genótipos e posterior seleção utilizaram-se comparações através do índice de correlação.

O coeficiente de variação experimental, foi estimado da seguinte maneira:

$$CV_e = \left( \frac{\sqrt{\hat{\sigma}^2}}{\bar{x}} \right) 100$$

Correlação posicional de Sperman

$$r_{rank} = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n D_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

Desvio Padrão da Média  $\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^k n_i (\bar{x}_i - \bar{\mu})^2}{n-1}}$

Erro Padrão:  $\frac{\sqrt{\sigma_e^2}}{\sqrt{n}}$

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos nos ensaios foram analisados utilizando-se o método tradicional, método de modelos mistos utilizando-se BLUP com variância homogênea e o BLUP Hetero. Na Tabela 3 são mostradas as análises de variância, médias, desvio padrão da média e coeficiente de variação das análises conjuntas dos ensaios. Pode-se verificar que, em todos os ensaios, a variância genotípica, dos Híbridos AO, foram significativamente maiores que zero, indicando a possibilidade de seleção entre os genótipos.

Houve significância para o efeito de locais (ambientes), mostrando que há uma variabilidade significativa de teor de óleo nos grãos entre os locais. Portanto o ambiente afeta o teor de óleo no grão do milho. A interação genótipo ambiente também foi significativa para todos os ensaios, mostrando que alguns genótipos tiveram uma resposta diferenciada para um determinado local, ou seja, o teor de óleo de nos grãos de um determinado genótipo pode variar entre ambientes.

Os coeficientes de variação dos ensaios tiveram uma amplitude de 4,50 a 7,42%, para genótipos totais, mostrando que os desvios em relação da média das porcentagens de óleo estão dentro de uma faixa de variação considerada normal para este caráter.



**Tabela 3-** Análise de variância conjunta dos ensaios, quadrado médio (QM), média do teor de óleo nos grãos, e coeficiente de variação (CV%).

Ensaio	FV	GL	QM		Média	CV%
75607	LOC	3	20,276	**		
75607	REP(LOC)	4	0,281	ns		
75607	Genótipos	49	2,488	**	6,92	7,19
75607	Híbridos AO	44	1,061	**	7,03	7,42
75607	Testemunhas	4	7,641	**	5,92	2,99
75607	Hib vs Test	1	44,665	**		
75607	Genótipos*LOC	147	0,445	**		
75607	Híbridos AO*LOC	132	0,455	**		
75607	Testemunhas*LOC	12	0,092	*		
75607	(Hib vs Test)*Loc	3	1,431	**		
75607	Resíduo	196	0,705			
75674	LOC	3	8,526	**		
75674	REP(LOC)	4	0,825	**		
75674	Genótipos	49	4,616	**	7,88	5,81
75674	Híbridos AO	44	1,255	**	8,08	5,93
75674	Testemunhas	4	6,489	**	6,07	3,04
75674	Hib vs Test	1	145,014	**		
75674	hybrid*LOC	147	0,611	**		
75674	Híbridos AO*LOC	132	0,672	**		
75674	Testemunhas*LOC	12	0,045	ns		
75674	(Hib vs Test)*Loc	3	0,155	**		
75674	Resíduo	196	0,676			
75675	LOC	3	5,049	**		
75675	REP(LOC)	4	0,452	*		
75675	Genótipos	49	3,62	**	7,17	5,58
75675	Híbridos AO	44	2,488	**	7,26	5,67
75675	Testemunhas	4	9,776	**	6,15	3,96
75675	Hib vs Test	1	36,1	**		
75675	hybrid*LOC	147	0,392	**		
75675	Híbridos AO*LOC	132	0,415	**		
75675	Testemunhas*LOC	12	0,05	ns		
75675	(Hib vs Test)*Loc	3	0,372	**		
75675	Resíduo	196	0,632			
75676	LOC	3	5,709	**		
75676	REP(LOC)	4	0,954	**		
75676	Genótipos	49	1,165	**	6,64	5,33
75676	Híbridos AO	44	0,473	**	6,69	5,41

75676	Testemunhas	4	7,58	**	6,03	3,2
75676	Híbvvs Test	1	13,038	**		
75676	Genótipos*LOC	147	0,236	**		
75676	Híbridos AO*LOC	132	0,249	**		
75676	Testemunhas*LOC	12	0,014	ns		
75676	(Híbvvs Test)*Loc	3	0,343	**		
75676	Resíduo	196	0,595			
75697	LOC	3	6,798	**		
75697	REP(LOC)	4	0,077	ns		
75697	Genótipo	49	0,94	**	6,1	5,12
75697	Híbridos AO	44	0,49	**	6,12	5,2
75697	Testemunhas	4	5,759	**	5,92	4,29
75697	Híb vs Test	1	1,441	**		
75697	Genótipos*LOC	147	0,236	**		
75697	Híbridos AO*LOC	132	0,235	**		
75697	Testemunhas*LOC	12	0,071	**		
75697	(Híb vs Test)*Loc	3	0,939	**		
75697	Resíduo	196	0,559			
75698	LOC	3	6,986	**		
75698	REP(LOC)	4	0,113	ns		
75698	Genótipo	49	1,028	**	6,12	4,52
75698	Híbridos AO	44	0,493	**	6,15	4,7
75698	Testemunhas	4	6,228	**	5,83	1,26
75698	Híb vs Test	1	3,775	**		
75698	Genótipos*LOC	147	0,22	**		
75698	Híbridos AO*LOC	132	0,226	**		
75698	Testemunhas*LOC	12	0,02	*		
75698	(Híb vs Test)*Loc	3	0,784			
75698	Resíduo	196	0,526			
75699	LOC	3	27,989	**		
75699	REP(LOC)	4	0,984	**		
75699	Genótipo	49	2,758	**	6,82	5,7
75699	Híbridos AO	44	1,721	**	6,92	5,89
75699	Testemunhas	4	5,777	**	5,91	1,58
75699	Híb vs Test	1	36,307	**		
75699	Genótipos*LOC	147	0,651	**		
75699	Híbridos AO*LOC	132	0,661	**		
75699	Testemunhas*LOC	12	0,019	ns		
75699	(Híb vs Test)*Loc	3	2,736	**		
75699	Resíduo	196	0,623			

\*\* Significativo a 1%; \* Significativo a 5%; NS não significativo

A comparação dos parâmetros genéticos estimados pelas metodologias tradicional, REML/BLUP com variância homogênea (BLUP Homo) e REML/BLUP Hetero (BLUP Hetero), é apresentada na Tabela 4. Quando comparado a análise no modelo tradicional com a do BLUP Homo, verificou-se que os parâmetros genéticos obtidos, ou seja, a variância genética, a variância da interação genótipo ambiente e a herdabilidade, foram exatamente as mesmas, evidenciando que os mesmos resultados podem ser obtidos com a análise tradicional ou com a análise de modelos mistos, quando os ensaios estão balanceados.

A análise utilizando-se a metodologia BLUP Hetero, ou seja, utilizando-se as variâncias de cada um dos ambientes na análise geral, mostrou maior estimativa da variância genética em todos os ensaios, quando comparado com os métodos tradicional e BLUP Homo. ROCHA et al. (2006) trabalhando com eucalipto, também observou maiores estimativas da variância genética na metodologia REML/BLUP, porém CÂNDIDO, (2009) e SCARPINATI, (2007), trabalhando com cana de açúcar e eucaliptos, respectivamente, encontraram maiores estimativas para a variância genética obtidas pelo método tradicional de análise de variância.

As variâncias da interação genótipo por ambiente, estimadas na análise por BLUP Hetero foram menores, na maioria dos casos, sendo que, somente no caso do ensaio 75607 é que foi maior. Nos outros métodos analisados, parte da variância do resíduo estava confundida com a interação genótipo por ambiente que em consequência resultou na maior variância da interação gxa e numa menor estimativa da herdabilidade. Na análise utilizando-se o BLUP Hetero, as herdabilidades encontradas, foram maiores para a maioria dos conjuntos de ensaios, acarretando maiores ganhos genéticos na seleção dos genótipos superiores. As herdabilidades encontradas para o caráter porcentagem de óleo no grão, estão de acordo com trabalhos de vários autores (DUDLEY et al., 1974; HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988).

**Tabela 4** – Estimativas da variância genética ( $V_g$ )  $\hat{\sigma}_g^2$ , da variância da interação genótipo por ambiente ( $V_{ga}$ )  $\hat{\sigma}_{ga}^2$ , da variância do erro ( $v_e$ )  $\hat{\sigma}_e$ , da variância fenotípica ( $V_f$ )  $\hat{\sigma}_f^2$ , da herdabilidade ( $h^2$ ), coeficiente de variação genética ( $CV_g$ ) e médias estimados pelos método tradicional, BLUP Homo e BLUP Hetero para os Híbridos AO (genótipos).

Ensaio	Parâmetro	Metodologias			Ensaio	Parâmetro	Metodologias		
		Tradicional	BLUP				Tradicional	BLUP	
			Homo	Hetero				Homo	Hetero
75674	Vg	0,073	0,073	0,118	75676	Vg	0,028	0,028	0,06
75674	Vga	0,222	0,222	0,124	75676	Vga	0,059	0,059	0,025
75674	Ve	0,229	0,229	0,283	75676	Ve	0,131	0,131	0,165
75674	Vf	0,212	0,212	0,216	75676	Vf	0,074	0,074	0,093
75674	h2	0,343	0,343	0,548	75676	h2	0,379	0,379	0,646
75674	CVg	0,033	0,033	0,043	75676	CVg	0,025	0,025	0,037
75674	Média	8,079	8,079	8,079	75676	Média	6,693	6,693	6,693
78675	Vg	0,159	0,159	0,201					
78675	Vga	0,123	0,123	0,017					
78675	Ve	0,17	0,17	0,264					
78675	Vf	0,242	0,242	0,243					
78675	h2	0,659	0,659	0,829					
78675	CVg	0,055	0,055	0,062					
78675	Média	7,251	7,251	7,251					
Ensaio	Parâmetro	Metodologias			Ensaio	Parâmetro	Metodologias		
		Tradicional	BLUP				Tradicional	BLUP	
			Homo	Hetero				Homo	Hetero
75607	Vg	0,076	0,076	0,091	75698	Vg	0,033	0,033	0,041
75607	Vga	0,092	0,092	0,142	75698	Vga	0,071	0,071	0,02
75607	Ve	0,272	0,271	0,24	75698	Ve	0,084	0,084	0,126
75607	Vf	0,156	0,156	0,192	75698	Vf	0,079	0,079	0,067
75607	h2	0,487	0,487	0,473	75698	h2	0,421	0,421	0,616
75607	CVg	0,039	0,039	0,043	75698	CVg	0,03	0,03	0,033
75607	Média	7,03	7,03	7,03	75698	Média	6,153	6,153	6,153

<b>75697</b>	Vg	0,032	0,032	0,061	<b>78699</b>	Vg	0,132	0,132	0,194
<b>75697</b>	Vga	0,067	0,067	0,04	<b>78699</b>	Vga	0,248	0,248	0,12
<b>75697</b>	Ve	0,101	0,1	0,116	<b>78699</b>	Ve	0,166	0,166	0,258
<b>75697</b>	Vf	0,078	0,078	0,095	<b>78699</b>	Vf	0,277	0,277	0,287
<b>75697</b>	h <sup>2</sup>	0,41	0,409	0,637	<b>78699</b>	h <sup>2</sup>	0,478	0,478	0,678
<b>75697</b>	CVg	0,029	0,029	0,04	<b>78699</b>	CVg	0,053	0,053	0,064
<b>75697</b>	Média	6,119	6,119	6,119	<b>78699</b>	Média	6,917	6,917	6,917

Os erros padrão das médias e valores genéticos estimados pelas metodologias tradicional, BLUP Homo e BLUP Hetero podem ser vistos na Tabela 5. Observa-se que as estimativas do erro padrão obtidas com a metodologia BLUP Hetero foram menores ou no mínimo igual, caso do ensaio 75607, que as obtidas com os outros dois métodos ou seja o tradicional e o BLUP Homo, as quais foram sempre menores que as para o método tradicional. Quanto menor o erro padrão dos BLUP's melhor o poder de discriminação das médias, ou seja, é mais fácil de identificar uma diferença significativa entre dois tratamentos (híbridos).

Deste modo, pode-se afirmar que, embora, os métodos tradicional e BLUP Homo tenham apresentado a mesma herdabilidade, o método BLUP apresentou um melhor poder de discriminação entre os genótipos. As estimativas de herdabilidades obtidas com o modelo BLUP Hetero, entre locais, foram em geral maiores que os demais métodos, fato que por si só já indica uma maior confiabilidade na seleção dos híbridos realizada a partir das estimativas dos efeitos obtidas por esta metodologia. Aliado a este fato acrescenta-se que esta última metodologia apresentou os menores erros padrões dentre as metodologias avaliadas. O menor erro padrão observado no BLUP Hetero deve-se, provavelmente, a menor estimativa das variâncias da interação genótipo por ambiente, observadas na Tabela 4, e por consequência pode-se inferir que o BLUP Hetero possua um maior poder de discriminação nas estimativas obtidas.

**Tabela 5** – Erro Padrão estimado em cada ensaio pelo método tradicional, BLUP Homo e BLUP com variância heterogênea.

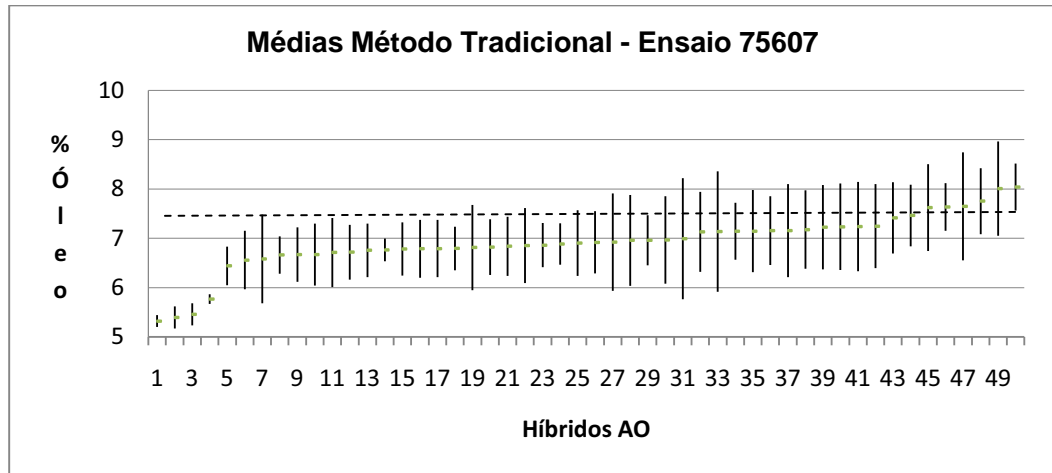
Ensaio	Erro Padrão		
	Tradicional	BLUP Homo	BLUP Hetero
75607	0,660894	0,223385	0,229793
75674	0,626221	0,273716	0,228095
75675	0,507888	0,225496	0,167448
75676	0,44414	0,159383	0,135491
75677	0,430529	0,152942	0,13722
75678	0,403084	0,152429	0,123601
75679	0,708858	0,257305	0,227747

A análise da ordenação dos genótipos para os métodos empregados, pode ser visualizada na Tabela 6, através da correlação da ordenação dos genótipos em cada metodologia. Observa-se que a ordenação realizada através do método tradicional e do BLUP Homo foi igual para todos os ensaios, porém, quando se empregou a metodologia de BLUP Hetero, houve alteração na ordenação dos genótipos com uma amplitude de variação da correlação de 0,8855 a 0,98531. Esta diferença na ordenação das estimativas pode ser o efeito da menor estimativa da interação genótipo por ambiente e do erro padrão.

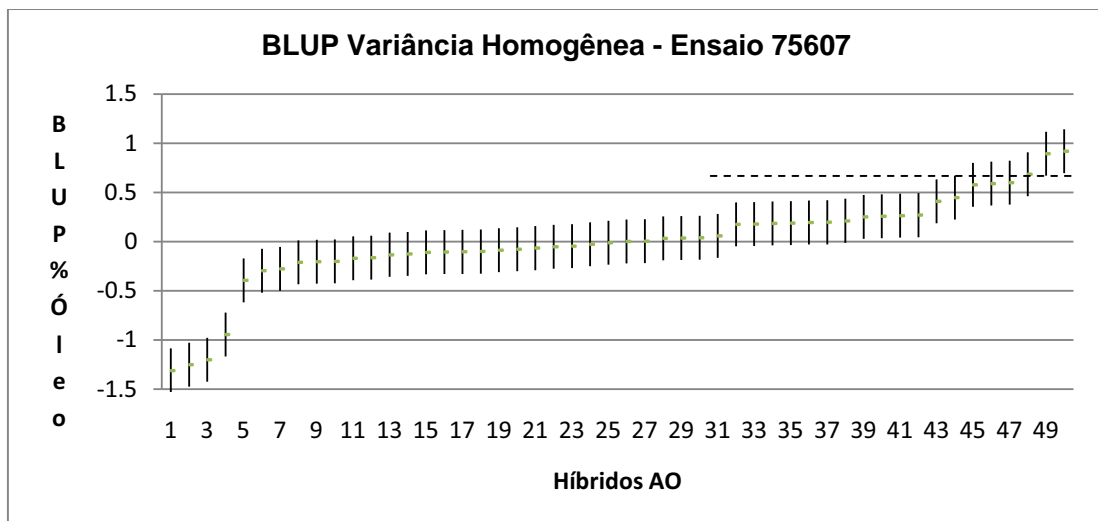
**Tabela 6** - Coeficientes da Correlação (r) das Médias da porcentagem de óleo no grão observadas com as estimativas obtidas pela metodologia BLUP com variância homogênea e BLUP com variância heterogênea da ordenação dos genótipos em cada ensaio.

Ensaio	Tradicional	BLUP	
		Homo	Hetero
75607	Médias	1	0.98531
75674	Médias	1	0.94843
75675	Médias	1	0.96905
75676	Médias	1	0.88553
75697	Médias	1	0.96401
75698	Médias	1	0.93548
75699	Médias	1	0.95361

Nas Figuras 1, 2 e 3 estão exemplificadas as médias e erros padrão, do teor de óleo nos grãos, para o modelo tradicional e para as metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero no Ensaio 75607, e pode-se observar que, apesar de o Método Tradicional e o BLUP Homo ordenarem os genótipos de uma mesma maneira, para maior teor de óleo, o BLUP mostrou maior poder de diferenciação entre as médias elegendo um grupo muito menor de genótipos que não se difeririam estatisticamente aumentando o poder de seleção dos genótipos superiores para o caráter alto óleo nos grãos. Quando se comparou a Metodologia BLUP Homo com a BLUP Hetero, verificou-se que o ordenamento dos genótipos para o maior percentual de óleo foi alterado, porém foi mantida a mesma capacidade de discriminação dos genótipos superiores. A mesma conclusão pode ser estendida a todos os ensaios realizados no presente trabalho. As linhas pontilhadas referem-se à significância entre as médias, desvios que tocam a linha tracejada não diferem entre si.

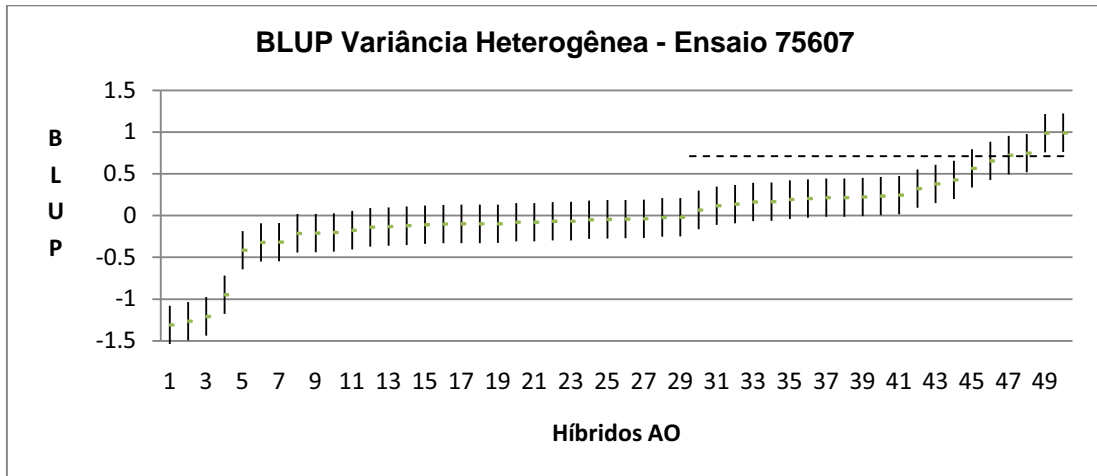


**Figura 1** - Médias e erros padrão da porcentagem de óleo nos grãos do Ensaio 75607 de cada genótipo testado com a Metodologia Tradicional.



**Figura 2** - Médias e erros padrão da porcentagem de óleo nos grãos do Ensaio 75607 de cada genótipo testado com a Metodologia BLUP Homo.





**Figura 3** - Médias e erros padrão da porcentagem de óleo nos grãos do Ensaio 75607 de cada genótipo testado com a Metodologia BLUP Hetero.

A ordenação dos genótipos quanto ao teor de óleo nos grãos foi exatamente a mesma quando se comparou a média dos genótipos ordenados pela metodologia tradicional com a estimativa do BLUP Homo, como pode ser observado na Tabela 7, e, por conseguinte, a seleção praticada de 15% dos genótipos com maior teor de óleo resultou na seleção dos mesmos indivíduos nas duas metodologias.

A metodologia das estimativas de BLUP Hetero ordenou os genótipos em uma ordem diferente para todos os ensaios. A seleção praticada com uma intensidade de 15% para maior teor de óleo nos grãos selecionou os mesmos sete indivíduos nos ensaios 75674, 75607 e 75699 os mesmos de quando se utilizou as metodologias tradicional ou BLUP com variância homogênea, porém com uma ordenação diferente. No ensaio 75675 houve uma substituição do genótipo 75206%, selecionado pelos métodos tradicionais e BLUP variância homogênea pelo genótipo 75315% selecionado pelo método BLUP Hetero. Nos ensaios 75676, 75677, 7597 e 75698 houve substituição de dois genótipos em cada ensaio. As substituições podem ser observadas na Tabela 8.

**Tabela 7** – Comparação da seleção para porcentagem de óleo no grão com índice de 15% de intensidade, levando-se em conta a ordenação dos genótipos nas metodologias tradicional, BLUP Homo e BLUP Hetero, dentro de cada ensaio.

Metodologia									
Tradicional				BULUP Homo			BLUP Hetero		
Ensaio	Genótipos	Médias	Ran	Genótipos	Estimati	Ran	Genótipos	Estimati	Ran
s	os	s	k	os	va	k	os	va	k
75674	74016%	8,996	1	74016%	0,97	1	74016%	10,361	1
75674	74188%	8,705	2	74188%	0,7173	2	74191%	0,9189	3
75674	74191%	8,696	3	74191%	0,7097	3	74188%	0,8586	2
75674	74168%	8,559	4	74168%	0,5904	4	74077%	0,8015	6
75674	74068%	8,558	5	74068%	0,5893	5	74120%	0,7035	7
75674	74077%	8,544	6	74077%	0,5774	6	74168%	0,6857	4
75674	74120%	8,524	7	74120%	0,56	7	74068%	0,6749	5
75675	75359%	8,625	1	75359%	12,984	1	75359%	16,261	1
75675	75293%	8,391	2	75293%	1,09	2	75362%	12,628	3
75675	75362%	8,241	3	75362%	0,9562	3	75206%	11,595	6
75675	75215%	8,074	4	75215%	0,8068	4	75293%	11,029	2
75675	75270%	8,055	5	75270%	0,7901	5	75270%	10,907	5
75675	75206%	8,018	6	75206%	0,7567	6	75315%	0,9337	8*
75675	75252%	7,999	7	75252%	0,7399	7	75215%	0,9254	4
75676	DKB7008	7,454	1	DKB7008	0,6492	1	76085%	0,8182	2
75676	76085%	7,409	2	76085%	0,6134	2	76367%	0,7153	3
75676	76367%	7,253	3	76367%	0,4888	3	DKB7008	0,7089	1
75676	EXP7001	7,208	4	EXP7001	0,453	4	EXP7001	0,6475	4
75676	76064%	7,085	5	76064%	0,3554	5	76064%	0,3995	5
75676	76083%	6,938	6	76083%	0,2378	6	EXP7002	0,3409	8*
75676	76186%	6,913	7	76186%	0,2179	7	76284%	0,3281	9*
75607	7119%	8,039	1	7119%	0,9198	1	7058%	0,9925	2
75607	7058%	8,008	2	7058%	0,8941	2	7119%	0,9874	1
75607	7155%	7,754	3	7155%	0,6858	3	7155%	0,7476	3
75607	7293%	7,649	4	7293%	0,5996	4	7293%	0,724	4
75607	DKB7008	7,638	5	DKB7008	0,5903	5	7270%	0,6562	6
75607	7270%	7,621	6	7270%	0,577	6	DKB7008	0,5663	5
75607	EXP4811	7,465	7	EXP4811	0,4487	7	EXP4811	0,4287	7
75697	DKB7008	7,38	1	DKB7008	0,9597	1	DKB78	10,297	1
75697	97101%	6,7	2	97101%	0,4502	2	97006%	0,5875	3
75697	97006%	6,694	3	97006%	0,4455	3	97101%	0,5556	2
75697	97010%	6,548	4	97010%	0,336	4	97009%	0,5277	7
75697	97127%	6,54	5	97127%	0,3303	5	97004%	0,4406	6

75697	97004%	6,533	6	97004%	0,3247	6	97002%	0,3403	<b>9*</b>
75697	97009%	6,52	7	97009%	0,3154	7	97143%	0,2632	<b>8*</b>
75698	DKB7008	7,361	1	DKB7008	0,9744	1	DKB7008	10,504	1
75698	98035%	6,829	2	98035%	0,5561	2	98035%	0,4891	2
75698	98046%	6,563	3	98046%	0,3469	3	98049%	0,3854	6
75698	98022%	6,504	4	98022%	0,3008	4	98057%	0,3195	<b>8*</b>
75698	98232%	6,471	5	98232%	0,2752	5	98046%	0,3047	3
75698	98049%	6,453	6	98049%	0,2605	6	98022%	0,2769	4
75698	98059%	6,443	7	98059%	0,2526	7	98366%	0,2683	<b>12*</b>
75699	99076%	7,783	1	99076%	0,7378	1	99083%	0,9681	2
75699	99083%	7,734	2	99083%	0,7006	2	99050%	0,8251	4
75699	99096%	7,65	3	99096%	0,6366	3	99076%	0,765	1
75699	99050%	7,615	4	99050%	0,6099	4	991084%	0,7354	6
75699	99061%	7,601	5	99061%	0,5994	5	99061%	0,7344	5
75699	991084%	7,586	6	991084%	0,5879	6	99096%	0,732	3
75699	99046%	7,564	7	99046%	0,5707	7	99046%	0,7266	7

\* Genótipos somente selecionados pelo BLUP Hetero

**Tabela 8** – Genótipos que foram substituídos na seleção dos 15% maiores teores de óleo no grão, quando se utilizou o BLUP com variação heterogênea.

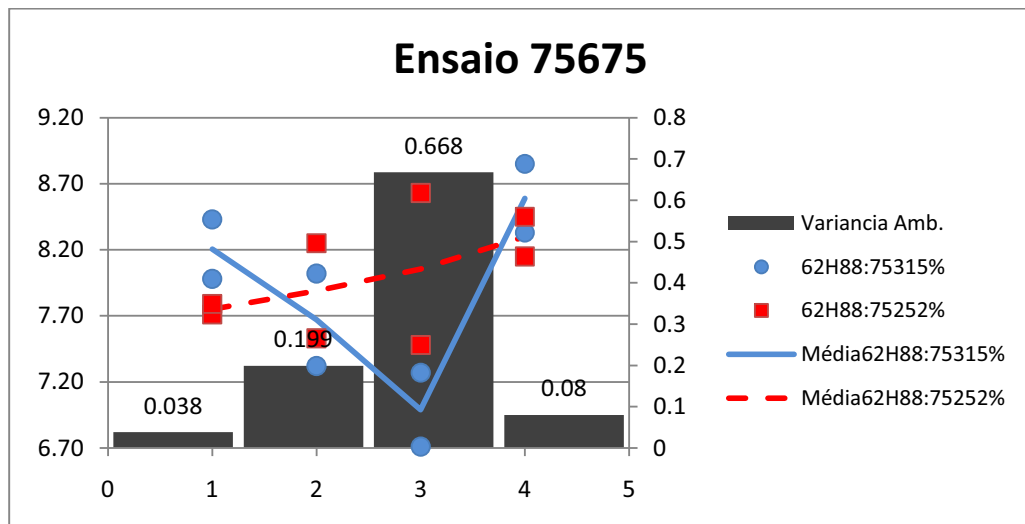
Ensaio	Metodologia								
	Tradicional			BULUP Homo			BLUP Heter		
	Genótipos	Médias	Ran	Genótipos	Estimati	Ran	Genótipos	Estimati	Ran
s	os	s	k	os	va	k	os	va	k
75675	75252%	7,999	7	75252%	7,999	7	75315%	7,864	<b>8*</b>
75676	76083%	6,938	6	76083%	6,938	6	<b>EXP7002</b>	6,899	<b>8*</b>
75676	76186%	6,913	7	76186%	6,913	7	76284%	6,883	<b>9*</b>
75697	97010%	6,548	4	97010%	6,548	4	97002%	6,341	<b>9*</b>
75697	97127%	6,54	5	97127%	6,54	5	97143%	6,369	<b>8*</b>
75698	98232%	6,471	5	98232%	6,471	5	98057%	6,426	<b>8*</b>
75698	98059%	6,443	7	98059%	6,443	7	98366%	6,385	<b>12*</b>

A diferente ordenação dos genótipos observada na metodologia BLUP Hetero deve-se à melhor estimativa dos erros, ou seja, da variância da interação genótipo por ambiente e o maior controle ambiental. Nas Figuras 4, 5 e 6 pode-se visualizar a média e a amplitude dos dados obtidos dentro dos locais como também a variância do erro por local, dos genótipos selecionados pela metodologia tradicional e BLUP variância

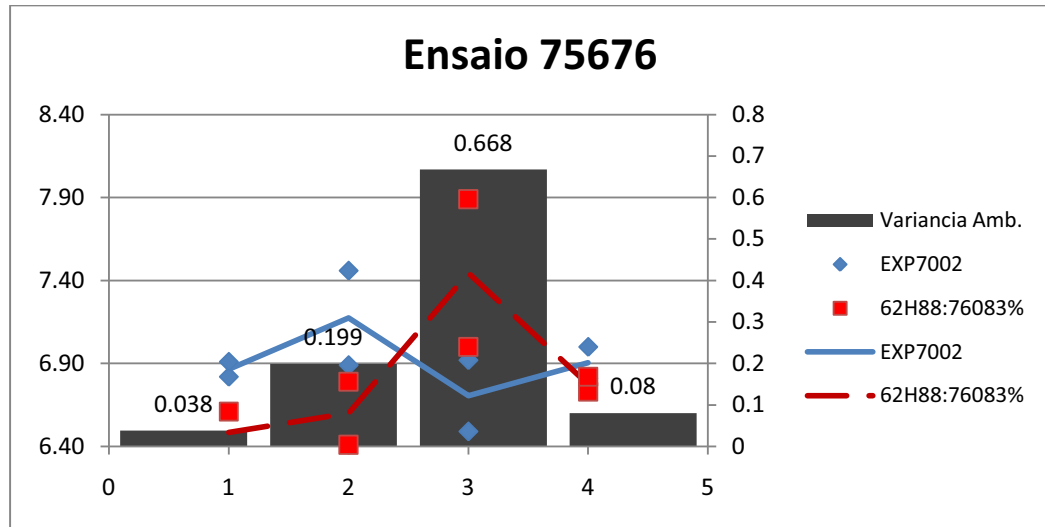
homogênea, pontos quadrados e linhas tracejadas para as médias e os substituídos quando se utilizou a metodologia de BLUP Hetero, representados pelos pontos circulares e a linhas cheias nas figuras.

Observa-se na Figura 4, que o genótipo 75252% selecionado tanto pelo modelo tradicional como pelo BLUP Homo, representados pelas linhas tracejadas e os pontos quadrados, exibiu maior amplitude entre os dados obtidos dentro do local 3, que obteve a maior variância do erro estimada, e foi substituído na metodologia BLUP Hetero, pelo genótipo 75315%, que mostrou menor variância das estimativas de óleo principalmente no local de maior variância do erro, ou seja o local três, sugerindo que a maior estimativa do teor de óleo do genótipo 75252% está superestimada devido ao maior erro contido nas estimativas obtidas.

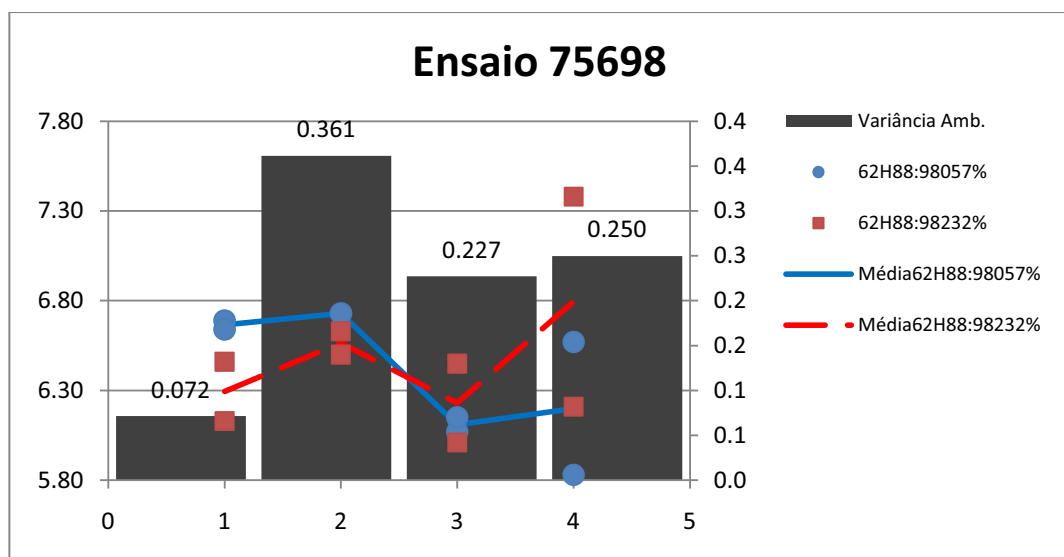
Via de regra, as mesmas considerações podem ser feitas para todos os genótipos substituídos na seleção pela metodologia BLUP Hetero, evidenciando que o BLUP Hetero possui maior poder de estimar o valor genético dos genótipos superiores, devido ao melhor controle do erro experimental.



**Figura 4** - Comparação entre os genótipos 75315%, selecionado pela Metodologia BLUP Hetero, e do genótipo 75252%, selecionado pelo Método Tradicional e pela Metodologia BLUP Homo, do Ensaio 75675, pelos valores de óleo por repetição por local, médias destes valores e a variância ambiental dentro do local.



**Figura 5** - Comparação entre os genótipos EXP7002, selecionado pela Metodologia BLUP Hetero, e do genótipo 76283% selecionado pelo Método Tradicional e pela Metodologia BLUP Homo, do Ensaio 75676, pelos valores de óleo por repetição por local, médias destes valores e a variância ambiental dentro do local.



**Figura 6** - Comparação entre os genótipos 98057%, selecionado pela Metodologia BLUP Hetero, e do genótipo 98232% selecionado pelo Método Tradicional e pela Metodologia BLUP Homo, do Ensaio 75698, pelos valores de óleo por repetição por local, médias destes valores e a variância ambiental dentro do local.

Resumindo as considerações acima pode-se inferir que o caráter alto óleo mostrou ser influenciado pelo ambiente e possuir interação genótipos x ambientes, que foi significativa em todos os ensaios testados para os Híbridos AO, porém, no caso das

testemunhas na maioria dos locais a interação foi não significativa, talvez devido a estes híbridos comerciais terem sido selecionados por apresentarem menor interação genótipo x ambiente. A metodologia tradicional e o BLUP Homo proporcionaram as mesmas estimativas para os parâmetros genéticos, variância da interação genótipo por ambiente e variância do erro, devido a os ensaios estarem balanceados. A metodologia BLUP Hetero obteve as menores estimativas da variância da interação genótipo x ambiente. As maiores estimativas da variância genética e as maiores estimativas da herdabilidade quando comparado às metodologias Tradicional e BLUP Homo. As metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero tiveram maior poder de discriminação dos genótipos evidenciados pelos menores erros padrão dos ensaios. A ordenação dos genótipos foi igual para as metodologias Tradicional e a do BLUP Homo. A substituição dos genótipos selecionados pelo método tradicional por outros selecionados pela metodologia BLUP Hetero foi devido à menor variância dos dados no local.

#### **4 - CONCLUSÃO**

A metodologia REML/BLUP com variâncias heterogêneas mostrou ser a metodologia mais precisa na ordenação e seleção dos genótipos superiores para o caráter alto óleo em milho.

#### **6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALEXANDER, D. E. Corn as an oil crop. In: ANNUAL HYBRID CORN INDUSTRY RESEARCH, 17., 1963, Washington. **Proceedings...** Washington: American Seed Trade Association, 1963.

CÂNDIDO, L. S. **Uso de modelos mistos na avaliação e ordenação de genótipos de cana-de-açúcar, com e sem efeitos de competição com parcelas vizinhas.** 2009. 58 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

DUARTE, J. B.; VENCOVSKY, R. Estimação e predição por modelo linear misto com ênfase na ordenação de médias de tratamentos genéticos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n.1, p. 109-117, 2001.

DUDLEY, J. W. Seventy-six generation of selection for oil and protein percentage in maize. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON QUANTITATIVE GENETICS, 1977, Ames. **Proceedings...** Ames: Iowa State University Press, 1977. p. 459-473.

DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J.; ALEXANDER, D.E. Seventy generations of selection for oil and protein concentration in the maize kernel. In: DUDLEY, J. W. (Ed.). **Seventy generations of selection for oil and protein in maize**. Madison: CSSA, 1974. p. 181-212.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HENDERSON, C. R. Selection index and expected genetic advance. In: NRC. National Research Council. **Statistical genetics and plant breeding**. Washington, 1963. p. 141-163. (Publications, 982).

HENDERSON, C. H. Best linear estimation and prediction under a selection model. **Biometrics**, Washington, v. 31, n. 2, p. 423-447, 1975.

LAMBERT, R. J. High-oil corn hybrids. In: HALLAUER, A. R.(Ed.). **Specialty corns**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 123-145.

MADE, J. M.; LAMBERT, R. J. Selection response for increase grain yield in two high oil maize synthetics. **Indonesian Journal Science**, Bogor, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2007

PATTERSON, H. D.; THOMPSON, R. Recovery of inter-block information when blocks sizes are unequal. **Biometrika**, Washington, v. 58, p. 545-554, 1971.

RESENDE, M. D. V. de. **Análise estatística de modelos mistos via REML/BLUP na experimentação em melhoramento de plantas perenes**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. p. 1-101, (Documentos, 47).

RESENDE, M. D. V. de. Procedimentos ótimos de seleção com dados balanceados e desbalanceados. In:\_\_\_\_\_. (Ed). **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. cap. 7, p. 209-347.

RESENDE, M. D. V. de.; MENDES, S. Estimaco de componentes de variância e predico de valores genéticos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e melhor predico não viciada (BLUP) em *Pinus*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 32/33, p. 23-42, 1996.

ROCHA, M. G. B.; PIRES, I. E.; XAVIER, A.; CRUZ, C. D.; ROCHA, R. B. Avaliaco genética de progênies de meios-irmãos de *Eucalyptus urophylla* utilizando os procedimentos REML/BLUP e E(QM). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 16, n. 4, p. 369-379. 2006.



SCARPINATI, E. A. **Influência do modelo de análise estatística e da forma das parcelas experimentais na seleção de clones de *Eucalyptus* spp.** 2007. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

SILVELA, L.; RODGERS, R.; BARRERA, A.; ALEXANDER, D. E. Effect of selection intensity and population size on percent oil in maize, *Zea mays*, L. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 78 p. 298-304, 1989.

SPRAGUE, G. F.; MILLER, P. A.; BRIMHALL, B. Additional studies of relative effectiveness of two systems of selection for oil content of the corn kernel. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, p. 329-331, 1952.

WASSON, J. J.; WONG, J. C.; MARTINEZ, E.; KING, J. J.; DeBAENE, J.; HOTCHKISS, J. R.; MIKKILINENI, V.; MARTIN, B. O.; ROCHEFORT, T. R. QTL Associated with maize kernel oil, protein, and starch concentrations; kernel mass; and grain yield in illinois high oil x b73 backcross-derived lines. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 243-253, 2008.

### **3.2 - ORDENAÇÃO, SELEÇÃO E PARÂMETROS GENÉTICOS DO CARÁTER “ALTO ÓLEO” EM MILHO AVALIADO POR METODOLOGIAS DE MODELO FIXO E MISTO EM ENSAIOS SEMI BALANCEADOS.**

**RESUMO:** O milho com alto teor de óleo nos grãos tem despertado interesse pelos melhoristas devido a seu uso como componente das rações para monogástricos e indústria alimentícia. Porém pouca informação existe sobre o caráter teor de óleo nos grãos nas áreas e genótipos tropicais. Trezentas e quinze linhagens de milho provenientes do cruzamento de duas linhagens contrastantes para o teor de óleo foram testadas em sete ensaios avaliados em seis locais no Brasil Central porém de forma não balanceada, pois cada ensaio somente foi plantado em quatro locais. Foram avaliadas três metodologias para a estimativa dos parâmetros genéticos, a metodologia tradicional utilizando-se blocos incompletos aumentados, a metodologia REML/BLUP com variância homogênea, para todos os locais e a metodologia RML/BLUP com variâncias heterogêneas e ponderadas por local. As análises foram realizadas dentro dos dois grupos formados pelos ambientes onde os ensaios foram testados, Grupo 1 nas localidades de Brasília-DF, Uberlândia-MG, Unai-MG e Chapadão do Sul-MS e Grupo 2 nas localidades de Brasília-DF, Uberlândia-MG, Uberaba-MG e Passos-MG. A metodologia BLUP Hetero apresentou menor estimativa da variância da interação genótipo por ambiente, maior estimativa da variância genética e maior estimativa da herdabilidade. As metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero mostraram um maior poder de discriminação da média. A metodologia BLUP Hetero apresentou as menores estimativas do desvio padrão da média, evidenciando uma maior poder de separação das médias (estimativas) do que as outras metodologias testadas. A substituição dos genótipos selecionados pela metodologia tradicional pelos selecionados pela metodologia BLUP Homo e BLUP Hetero deve-se à variância das estimativas dentro e entre locais. A metodologia REML/BLUP com variâncias heterogêneas mostrou ser a metodologia mais precisa na seleção dos genótipos superiores para o caráter alto óleo em milho em condição de ensaios semi-balanceados.

**PALAVRAS CHAVE:** Milho Alto Óleo, Modelos Mistos, REML/BLUP, Parâmetros Genéticos e seleção.

#### **1 - INTRODUÇÃO**

O milho com alto teor de óleo nos grãos tem despertado interesse pelas empresas de sementes de milho devido a seu uso como componente das rações para monogástricos e indústria alimentícia. O milho alto óleo, além de aumentar a densidade energética, também melhora o balanço de aminoácidos, devido ser a densidade de lipídeos 2,25 vezes maior do que a do amido e de possuir um embrião maior, onde são encontradas as maiores quantidades dos aminoácidos essenciais (ALEXANDER, 1963; LAMBERT, 1994; WASSON et al., 2008).

A correlação positiva existente entre o teor de amido e o peso do grão fez com que o melhoramento acentuado para o aumento de produtividade por área e características agronômicas desejáveis, resultasse em uma perda relativa de nutrientes no grão como, principalmente, proteína e óleo (MADE & LAMBERT, 1994). A resposta contínua à seleção por várias gerações, bem como a resposta à seleção reversa em gerações avançadas, sugere que um grande número de locos segregantes estão envolvidos na herança do teor de óleo no grão de milho (SPRAGUE et al. 1952; ALEXANDER, 1963; DUDLEY, 1977). Verificou-se que o caráter alto óleo em milho está sob controle genético aditivo (DUDLEY, 1977; SILVELA et al., 1989). O teor de óleo no milho é regido por poligenes e, portanto quantitativo (DUDLEY, 1977; LAMBERT, 1994) e apresenta uma alta herdabilidade para este caráter, da ordem de 70% (HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988).

O melhoramento para milho alto óleo tem sido realizado e reportado nas regiões temperadas, principalmente nos Estados Unidos e China. Poucos trabalhos têm sido realizados nas regiões tropicais, portanto não se conhece a interação genótipo x ambiente, herbabilidade, variância genética e outros parâmetros genéticos importantes para um programa de seleção para o caráter alto óleo em milho tropical.

No melhoramento de plantas, a maioria das análises têm sido realizadas baseadas em modelo fixo para a estimação de médias de tratamentos, mesmo quando estes forem obtidos por amostragem numa população. Isto é, em situações em que o modelo é tipicamente misto, pois inclui além de efeitos fixos ( locais, épocas e blocos) e os efeitos aleatórios dos genótipos (DUARTE & VENCOVSKY, 2001).

Na modelagem mista, a predição dos valores genéticos dos candidatos a seleção é realizada através de componentes de variância conhecidos ou estimados com precisão. De acordo com RESENDE (2000), o procedimento ótimo de predição de valores genéticos é o BLUP (melhor preditor linear não - viesado) e o procedimento ótimo de estimação de componentes e variância é o REML (máxima verossimilhança restrita).

Em alguns programas de melhoramento, é comum, para otimização de recursos, a divisão das progênies, de uma população, a serem avaliadas, em grupos, os quais podem ser avaliados nos mesmos locais ou não.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de modelos mistos para conhecer a magnitude dos parâmetros genéticos e a ordenação dos genótipos visando a seleção para o caráter alto óleo em uma população de linhagens homozigóticas oriundas do cruzamento de uma linhagem endogâmica com alto teor de óleo com outra de baixo teor de óleo, desenvolvidas pela metodologia de duplos haplóides, em germoplasma tropical e testadas em quatro localidades no Brasil Central em conjuntos semi balanceados.

## **2 - MATERIAL E MÉTODOS**

Os genótipos experimentais utilizados neste trabalho foram constituídos de trezentas e quinze linhagens desenvolvidas pelo método dos duplos haplóides, oriundas do cruzamento entre duas linhagens de milho endogâmicas, contrastantes para o teor de óleo no grão: MON-UB88 (teor de óleo normal - 4,5%) e MON-UB62HO (alto teor de óleo - 9,0%), cuja descrição é apresentada a seguir.

MON-UB88 linhagem, desenvolvida no Centro de Pesquisa da Monsanto na localidade de Passo Fundo no Estado do Rio Grande do Sul, de ciclo precoce, grãos amarelos dentados e teor de óleo nos grãos normal - 4,5% matéria seca, desenvolvida pelo método tradicional do pedigree.

MON-UB62HO - linhagem de milho, desenvolvida no Centro de Pesquisa da Monsanto na localidade de Uberlândia no Estado de Minas Gerais, de ciclo normal, grãos duros, cor alaranjada e com alto teor de óleo nos grãos – 9,0% matéria seca, desenvolvida pelo método tradicional de pedigree.

As 315 linhagens obtidas foram cruzadas com uma linhagem testadora, MON-UB01, que é uma linhagem de milho, desenvolvida no Centro de Pesquisa da Monsanto na localidade de Uberlândia, Estado de Minas Gerais de ciclo tardio, grãos amarelos dentados e com teor normal de óleo nos grãos (5,0%).

Os 315 híbridos sintetizados com linhagens de milho alto óleo (Híbridos AO) foram obtidos em um campo isolado, onde as 315 linhagens foram plantadas como Fêmeas e despendoadas na época do florescimento para que a linhagem MON-UB01, plantada como macho e com a proporção de 4:2, ou seja, quatro fileiras de fêmea para

duas de macho, polinize a inflorescência feminina (estilo-estigmas) das linhagens fêmeas, produzindo os Híbridos AO.

As testemunhas utilizadas nos ensaios foram os seguintes híbridos comerciais:

P30F90 – Híbrido de grãos semidentados amarelos de ciclo normal, adaptado às condições edafoclimáticas da região dos Cerrados Brasileiros, com teor de óleo de 5,2% ms. P30F87 - Híbrido de grãos flinte alaranjados de ciclo normal, adaptado às regiões do Brasil Central, com teor de óleo de 5,4%ms. DKB390 - Híbrido de grãos semidentados amarelos de ciclo precoce, adaptado às regiões de baixa altitude (<700m) de ampla aptidão adaptativa, com teor de óleo de 5,5%ms. DKB393 - Híbrido de grãos semiflinte amarelos de ciclo tardio, adaptado às condições edafoclimáticas do Cerrado Brasileiro, com teor de óleo de 5,2%ms. DKB7008 - Híbrido de grãos semidentados amarelos, adaptado às condições do Brasil Central, com alto teor de óleo nos grãos (7,5% ms).

No presente trabalho, a polinização nos ensaios foi aberta, devido ser verificado que em situações em que o desenvolvimento gevetativo das plantas de milho foi normal, ou seja em boas condições hídricas e de fertilidade adequadas, a polinização das plantas dentro de cada parcela é praticamente realizada entre elas, possuindo pouca interferência das parcelas circunvizinhas.

Os 315 Híbridos AO foram distribuídos em 7 ensaios, cada um com 45 híbridos experimentais e 5 testemunhas, num total de 50 genótipos, plantados em 4 locais, conforme mostrado nas Tabelas 1a e 1b, com 2 repetições por local, num total de 2800 parcelas avaliadas plantadas no verão de 2006. O número total de localidades utilizadas para avaliação dos Híbridos AO foram 6, sendo que cada ensaio foi plantado em 4 locais, conforme descrito na Tabela 2. Deste modo, os ensaios foram agrupados em dois grupos, de acordo com as localidades nas quais foram avaliados. Grupo 1, ensaios 75674, 75675 e 75676, que foram avaliados em Brasília-DF, Unai-MG, Chapadão do Sul-MS e Uberlândia-MG e Grupo 2, ensaios 75607, 75697, 75698 e 75699 que foram avaliados em Brasília-DF, Passos-MG, Uberaba-MG e Uberlândia-MG., os ensaios foram plantados em Outubro e Novembro de 2006. As análises estatísticas foram realizadas dentro de cada grupo. Constituindo, desta maneira um delineamento em blocos incompletos aumentados parcialmente balanceado. Sendo que os ‘ensaios’

são os blocos, os Híbridos AO são os tratamentos regulares (aparecem em único bloco por repetição) e os híbridos testemunhas são os tratamentos adicionais (aparecem em todos os blocos de todas as repetições).

**Tabela 1a** – Conjunto de ensaios, número de Híbridos AO, número de testemunhas, número de locais, número de repetições por local, total de repetições e total de parcelas testados no Brasil Central em 2006.

Ensaio	Híbridos AO	Testemunhas	Total de Genótipos	Número de locais	Repetições por local	Total de Repetições	Total de parcelas
75674	45	5	50	4	2	8	400
75675	45	5	50	4	2	8	400
75676	45	5	50	4	2	8	400
75607	45	5	50	4	2	8	400
75697	45	5	50	4	2	8	400
75698	45	5	50	4	2	8	400
75699	45	5	50	4	2	8	400
<b>Total</b>	315		350			56	2800

**Tabela 1b** - Grupo 1 e Grupo 2 de ambientes, número de genótipos, número de testemunhas, número de locais, número de repetições por local, total de repetições e total de parcelas testados no Brasil Central no verão de 2006.

Grupos	Híbridos AO	Testemunhas	Total de Tratamentos	Número de locais	Repetições por local	Total de Repetições	Total de parcelas
<b>G1</b>	135	5	140	4	2	8	1200
<b>G2</b>	180	5	185	4	2	8	1600
<b>Total</b>	315	5	320	4	2	8	2800

**Tabela 2-** Locais onde os ensaios alto óleo foram plantados, no verão 2006/7.

Ensaio	Chapadão					
	Unai - MG	do Sul - MS	Brasília - DF	Uberlândia- MG	Passos - MG	Uberaba - MG
75674	X	X	X	X		
75675	X	X	X	X		
75676	X	X	X	X		
						G1
75607			X	X	X	X
75697			X	X	X	X
75698			X	X	X	X
75699			X	X	X	X
						G2

As parcelas experimentais foram constituídas de duas linhas de 5 metros, distanciadas uma das outras em 80 cm, com uma área de 8 m<sup>2</sup>.

O plantio foi realizado por meio de uma plantadeira SLC 710 adaptada para o plantio de parcelas experimentais para o sistema de plantio direto, plantando-se duas parcelas por vez. Foram plantadas 35 sementes por linha e após o desbaste realizado no 20º dia após o plantio, foram deixadas 25 plantas por linha ou 50 plantas por parcela estabelecendo uma densidade de 62500 plantas por hectare. A adubação de plantio utilizada foi de 32 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio, 112 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 72 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e com uma primeira adubação de cobertura aos 25 dias após plantio de 40 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio e 40 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e mais uma adubação em cobertura aos 45 dias após plantio de 40 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio. Os tratos culturais para controle de ervas daninhas, insetos nocivos e irrigações foram realizados, quando necessário, de modo a manter as plantas em condições ótimas de crescimento e desenvolvimento.

A colheita foi realizada por uma colheitadeira Hallis Chalmer 5200, adaptada para a colheita de parcelas experimentais e coleta de amostras dos grãos destas parcelas, com capacidade de colheita de uma parcela por vez. A porcentagem de óleo no grão foi obtida por meio de uma amostra de 200 g de grãos de cada parcela. No

laboratório as amostras foram submetidas à análise de óleo no equipamento INFRATEC 1200, por meio de transmitância do vermelho próximo (NIRt).

Os dados de porcentagem de óleo nos grãos dos Híbridos AO e testemunhas foram submetidos à análise segundo três metodologias distintas: o método tradicional, a metodologia de modelos mistos com estrutura de variância residual homogênea e a metodologia de modelos mistos com estrutura de variância residual heterogênea.

As análises de variância conjunta para cada grupo foram realizadas com o auxílio do programa computacional SAS® (SAS 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA). Com base nestas análises, foram estimadas as variâncias genética, fenotípica, do erro e da interação genótipo por ambiente, as correlações entre as estimativas obtidas pelas metodologias empregadas, os coeficientes de herdabilidade, considerando os modelos fixos e mistos.

## 2.1. Metodologia tradicional

O modelo matemático para a análise conjunta de cada Grupo para a Metodologia Tradicional foi o seguinte:

$$Y_{i(j)(l)k} = \mu + a_i + s_k + b/a/s_{(j)(l)k} + t_i + ta_{ij} + e_{i(j)(l)k}, \text{ onde:}$$

$Y_{i(j)(l)}$  = observação do tratamento  $i$  na repetição  $j$  no ambiente  $l$ .

$\mu$  = constante inerente a todas as observações

$a_i$  = efeito aleatório de ambientes  $a_e \sim NIID(0, \hat{\sigma}_a^2)$

$s_k$  é o efeito aleatório do ensaio  $s_k \sim NIID(0, \hat{\sigma}_s^2)$

$t_i$  = efeito aleatório de tratamentos  $t_i \sim NIID(0, \hat{\sigma}_g^2)$

$b/a/s_{(j)(l)k}$  = efeito aleatório de blocos(repetições) dentro de ambientes dentro de ensaio  $b/a/s_{(j)(l)k} \sim NIID(0, \hat{\sigma}_b^2)$

$ta_{ij}$  = efeito da interação genótipo x ambiente  $ta_{ij} \sim NIID(0, \hat{\sigma}_{ga}^2)$

$e_{i(j)(l)k}$  = erro experimental associado à parcela  $i(j)(l)k$ ;  $e_{i(j)(l)k} \sim NIID(0, \hat{\sigma}^2)$ .

As estimativas dos componentes da variância residual  $\sigma^2$ , variância da interação genótipo por ambiente  $\hat{\sigma}_{ga}^2$  e a estimativa da variância genética  $\hat{\sigma}_g^2$ , foram



estimados utilizando-se o PROC VARCOMP do SAS<sup>®</sup>, adotando o método dos momentos, a partir da solução do sistema de equações obtidas ao igualar as esperanças matemáticas dos quadrados médios aos seus respectivos valores observados (REGAZZI et al., 1999):

---

Genótipos	$\hat{\sigma}^2 + \left(\frac{k+1}{k}\right) J \hat{\sigma}_{ga}^2 + \left(\frac{k+1}{k}\right) JA \hat{\sigma}_g^2$
Genótipo x Ambiente	$\hat{\sigma}^2 + \left(\frac{k+1}{k}\right) J \hat{\sigma}_{ga}^2$
Erro	$\hat{\sigma}^2$

---

Onde:

k= número de blocos por repetição (ensaios)

J = número de repetições

A = número de ambientes (locais)

## 2.2. Metodologia de modelos mistos com estrutura residual homogênea

Nesta metodologia foi utilizado o mesmo modelo e pressuposições apresentadas no item 2.1. O processo de estimação-predição seguiu a metodologia dos modelos mistos (HENDERSON, 1975). Essa metodologia consiste na obtenção de predições dos valores genotípicos tratados como efeito aleatório. As estimativas dos componentes de variância foram obtidas pelo método da máxima verossimilhança restrita (*Restricted Maximum Likelihood* -REML) descrito por PATTERSON & THOMPSON (1971) e a predição dos valores genotípicos de cada indivíduo foi obtido pelo melhor preditor linear não viesado (BLUP) (REZENDE & MENDES, 1996).

Modelo misto é matricialmente representado por:  $y = X\beta + Za + e$ , em que:  
y: vetor (nx1) de observações;

$X$  : matriz ( $n \times p$ ) de incidência dos efeitos fixos  $b$  ;

$Z$  : matriz ( $n \times q$ ) de incidência dos efeitos aleatórios  $a$  (genéticos ou ambientais);

$\beta$  : vetor ( $p \times 1$ ) de efeitos fixos a serem estimados;

$a$  : vetor ( $q \times 1$ ) de efeitos aleatórios serem preditos;

$e$  : vetor ( $n \times 1$ ) de erros aleatórios associados a cada observação. Assumiu-se que:  $e \sim Nn(0, R)$ , sendo  $R$  a matriz de variâncias e covariâncias residuais, dada por  $R = I\hat{\sigma}^2$  e  $a \sim Nq(0, G)$ , sendo  $G$  a matriz de variâncias e covariâncias genéticas dada por:  $G = A\sigma_g^2$ , onde  $\sigma_g^2$  denota a variância genética, da interação genótipo  $\times$  ambiente, ou de locais, dependendo do componente a ser estimado. A *Matriz A* corresponde à matriz de parentesco genético entre genótipos. Mas, no presente trabalho a matriz de parentesco não foi considerada, assumiu-se que  $A$  é igual à matriz identidade ( $I$ ) e, portanto:  $G = I\sigma_g^2$ .

No modelo em questão é assumido, ainda, não existir covariância entre os desvios residuais ( $e$ ) e efeitos genéticos ( $a$ ), ou seja,  $Cov(a, e) = 0$ . Assim, o sistema equações de modelo misto (EMM) que permite obter simultaneamente o preditor para efeitos aleatórios ( $\hat{a}$ ) e o estimador dos efeitos fixos ( $\hat{\beta}$ ), é matricialmente representado por:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\sigma_e^2/\sigma_g^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{a} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix} \text{ HENDERSON (1975).}$$

E a melhor predição linear não-viesada (BLUP) é igual:  $BLUP(\hat{a}) = GZV^{-1}(y - X\hat{\beta})$ , sendo:  $GZ = Cov(y, a)$  conforme HENDERSON (1963).

### 2.3. Metodologia de modelos mistos com estrutura de variância residual heterogênea

As estimativas dos componentes de variâncias e BLUPs foram obtidas como anteriormente descritos (item 2.1). Porém neste caso adotou-se uma estrutura para a

matriz de variância-covariância R - variâncias heterogêneas entre locais (Bloco – diagonal – cada local apresentando uma variância residual diferente),  $R = I\sigma^2_l$ .

#### 2.4. Parâmetros de comparação entre os modelos

Os estimadores dos componentes de variância,  $\hat{\sigma}_a^2$ ,  $\hat{\sigma}_{ga}^2$  e  $\hat{\sigma}_e^2$ , estimados por REML, foram obtidas pelo algoritmo EM (Expectation Maximization). (RESENDE, 2002).

Os valores de BLUP para os genótipos foram comparados com as médias obtidas, no modelo tradicional por meio de coeficientes de correlação de Sperman da posição no ordenamento. O efeito de tratamentos foi desdobrado em efeitos dos Híbridos AO e efeitos das testemunhas, para a estimativa dos parâmetros genéticos da população de linhagens alto óleo. Os parâmetros adotados para a comparação entre as metodologias foram as estimativas da variância genética, da variância do erro, da variância da interação genótipo por ambiente, da herdabilidade e o coeficiente de variação genético.

A estimativa da variância fenotípica foi obtida da seguinte maneira:

$$\hat{\sigma}_f^2 = \hat{\sigma}_g^2 + \frac{\hat{\sigma}_{ga}^2}{J} + \frac{\hat{\sigma}_e^2}{JA} \text{ onde :}$$

J = Número de observações

A = Número de ambientes

A estimativa da herdabilidade foi realizada da seguinte maneira:

$$\widehat{h^2} = \hat{\sigma}_g^2 / \hat{\sigma}_f^2 \text{ herdabilidade sentido amplo}$$

O coeficiente de variação genético:

$$CV_g = \left( \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\bar{x}} \right) 100$$

O coeficiente de variação ambiental:

$$CV_e = \left( \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_e^2}}{\bar{x}} \right) 100$$

Correlação posicional de Sperman  $r_{rank} = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n D_i^2}{n(n^2 - 1)}$

Desvio Padrão da Média =  $\sqrt{\sum_{i=1}^k \frac{n_i (i - \bar{\mu})^2}{n - 1}}$

Erro Padrão:  $\frac{\sqrt{\sigma_e^2}}{\sqrt{n}}$

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ANOVA da metodologia tradicional está apresentada na Tabela 3, para a análise com os grupos de ambientes G1 e G2 resultantes quando os ensaios foram agrupados por ambientes onde foram testados. Os efeitos de tratamentos que compreendem os Híbridos AO e as testemunhas foram desdobrados para a estimativa das variâncias e análise dos parâmetros genéticos.

Na ANOVA pode-se verificar que a variância genotípica dos Híbridos AO foi significativamente maior que zero, nos grupos G1 e G2, indicando que em ambos grupos existe variabilidade genética para que uma seleção efetiva para o teor de óleo no grão seja realizada (Tabela3). A diferença significativa observada entre as testemunhas é devido à existência de um híbrido pré-comercial de alto teor de óleo entre eles.

Foi verificado que houve significância para o efeito de locais (ambientes), mostrando que há uma variabilidade significativa para o teor de óleo entre o locais. Portanto, o ambiente afeta o teor de óleo no grão de milho.

Houve interação significativa dos Híbridos AO x ambientes, porém a interação testemunhas x ambiente foi não significativa nos dois grupos, G1 e G2. Portanto pode-se verificar que o ambiente interfere com o teor de óleo e que Híbridos AO com alto óleo podem interagir diferentemente entre os ambientes onde forem plantados. A média do porcentual de óleo nos híbridos Híbridos AO no G1 foi maior do que a média no G2,

indicando que os Híbridos AO do G1 tem maior teor de óleo que os do G2. A diferença da média do teor de óleo das testemunhas foi pequena.

**Tabela 3** - Análise de variância nos grupos G1 e G2 agrupados por ambientes referentes aos ensaios, quadrado médio (QM), média do teor de óleo nos grãos, e coeficiente de variação (CV%).

GRUPO	FV	GL	QM		Média	CV%
G1.	Ensaios	2	1,546,333	**		
G1.	Locais	3	185,837	**		
G1.	REP(Ensaios)*LOC	18	0,6123	**		
G1.	Genótipos	141	32,647	**	7,23	5,53
G1.	Híbridos AO	134	14,064	**	7,34	5,72
G1.	Testemunhas	4	194,294	**	6,08	3,38
G1.	Hib vs Testemunha	3	647,174	**		
G1.	Genótipos*LOC	423	0,4288	**		
G1.	Híbridos AO*LOC	402	0,4437	**		
G1.	Testemunhas*LOC	12	0,0342	ns		
G1.	Erro	612	0,1600			
<hr/>						
G2.	Ensaios	3	772,366	**		
G2.	Locais	3	511,127	**		
G2.	REP(Ensaios*LOC)	25	15,453	**		
G2.	Genótipos	184	1,916	**	6,49	5,73
G2.	Híbridos AO	176	0,9415	**	6,55	6,02
G2.	Testemunhas	4	251,653	**	5,89	3,46
G2.	Hib vs Testemunha	4	215,468	**		
G2.	Genótipos*LOC	552	0,41	**		
G2.	Híbridos AO*LOC	528	0,3942	**		
G2.	Testemunhas*LOC	12	0,0411	ns		
G2.	Erro	834	0,1383			

Os parâmetros genéticos obtidos pela metodologia tradicional e pelas metodologias BLUP com variância homogênea (BLUP Homo) e BLUP com variância heterogênea (BLUP Hetro) estão sumarizados na Tabela 4. Observa-se que no Grupo 1 (G1) a maior estimativa para a variância genética foi obtida quando utilizou-se a metodologia BLUP Hetero a qual também apresentou a menor estimativa da variância da interação top cross x ambiente e maior estimativa da variância fenotípica. Portanto, com melhor controle ambiental e maior variância genética, a estimativa da herdabilidade

também foi maior para a metodologia BLUP Hetero, evidenciando que esta metodologia, no caso do G1, poderá ser a mais efetiva na seleção de Híbridos AO superiores. A ação gênica envolvida no caráter alto óleo em milho foi presumida ser de natureza aditiva (DUDLEY,1977; SILVELA *et al.*,1989) e, portanto, pode-se inferir que a herdabilidade estimada é do tipo restrito.

No G2, o BLUP Hetero, como no G1, também obteve a maior estimativa da variância genética, a menor estimativa da variância da interação Híbridos AO x ambiente e maior estimativa da variância fenotípica do que as metodologias tradicional e BLUP Homo. CÂNDIDO (2009) e SCARPINATI (2007), trabalhando com cana de açúcar e eucaliptos, respectivamente, encontraram maiores estimativas para a variância genética obtidas pelo método tradicional de análise de variância do que os estimados pela metodologia REML/BLUP, e ROCHA *et al.* (2006) trabalhando com eucalipto, observou maiores estimativas da variância genética na metodologia REML/BLUP.

Verifica-se que a variância da interação Híbridos AO por ambiente foi menor quando utilizada a metodologia BLUP Hetero, mostrando maior controle ambiental. A comparação das estimativas dos parâmetros genéticos entre a metodologia tradicional e a de BLUP Homo, mostrou que os valores destas variâncias e herdabilidade estão muito próximos, porém, as pequenas diferenças existentes, são devido à que a metodologia tradicional não está completamente balanceada.

**Tabela 4** – Estimativas da variância genética  $V_g$  ( $\hat{\sigma}_g^2$ ), da variância da interação Híbridos AO por ambiente  $V_{ga}$  ( $\hat{\sigma}_{ga}^2$ ), da variância do erro  $V_e$  ( $\hat{\sigma}^2$ ), variância de local ( $V_a$ ) ( $\hat{\sigma}_a^2$ ), da variância fenotípica  $V_f$  ( $\hat{\sigma}_f^2$ ), da herdabilidade  $h^2$  ( $\hat{h}^2$ ), do coeficiente de variabilidade genética  $CV_g$  estimados pelos método tradicional, BLUP com variância homogênea e BLUP com variância heterogênea para o Grupo 1 e Grupo 2 e média do teor de óleo.

Ensaio	Parâmetro	Metodologias		
		Tradicional	BLUP	
			Homo	Hetero
G1	Vg	0,120	0,121	0,200
G1	Vga	0,134	0,132	0,037
G1	Ve	0,176	0,177	0,252
G1	Va	0,065	0,065	0,066
G1	$h^2$	0,575	0,577	0,800
G1	CVg	0,047	0,047	0,061
G1	Média	7,338	7,338	7,338
G2	Vg	0,068	0,068	0,088
G2	Vga	0,119	0,121	0,088
G2	Ve	0,156	0,155	0,175
G2	Va	0,150	0,150	0,151
G2	$h^2$	0,464	0,460	0,571
G2	CVg	0,040	0,040	0,045
G2	Média	6,555	6,555	6,555

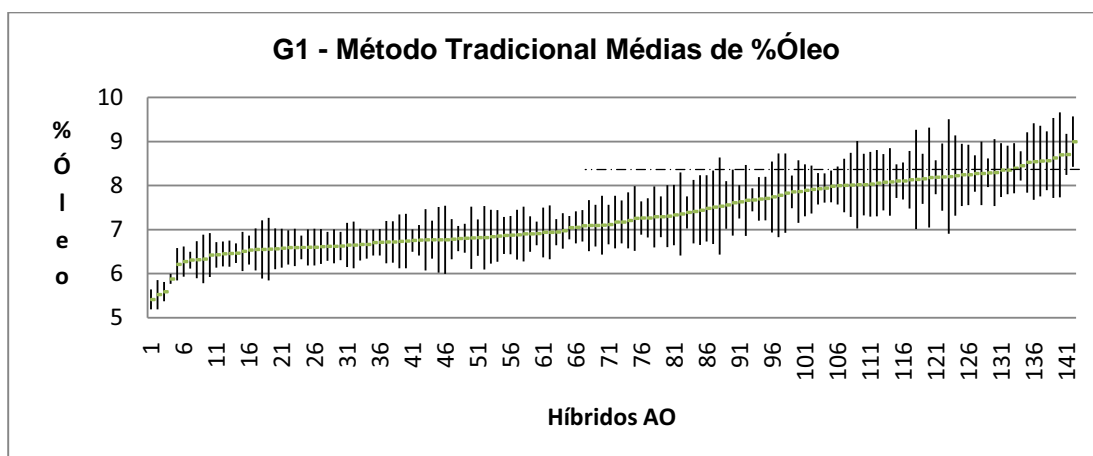
As metodologias foram comparadas na ordenação dos Híbridos AO, cujas correlações para a posicionamento de cada top cross ordenado em cada metodologia pode ser vista na Tabela 5. Observa-se que as correlações obtidas para o G1 mostraram maiores diferenças entre as metodologias do que no G2. A metodologia tradicional proporcionou as maiores correlações, na ordenação, com a metodologia BLUP Homo no G1. No G2 houve um aumento da correlação da ordenação tanto com as médias, na metodologia tradicional, quanto entre os BLUP's Homo e Hetero, que pode ser explicado pela maior correção das estimativas BLUP efetuada pela metodologia BLUP Hetero, devido à que a estimativa da variância de locais (ambientes)  $\sigma_a^2$ , foi maior no G2 do que no G1, como pode ser observado na Tabela 4.

**Tabela 5** - Coeficientes da Correlação da ordenação das Médias Observadas (Método Tradicional) com BLUP Variância Homogênea e BLUP Variância Heterogênea da ordenação dos Híbridos AO em cada Grupo para Porcentagem de Óleo no Grão.

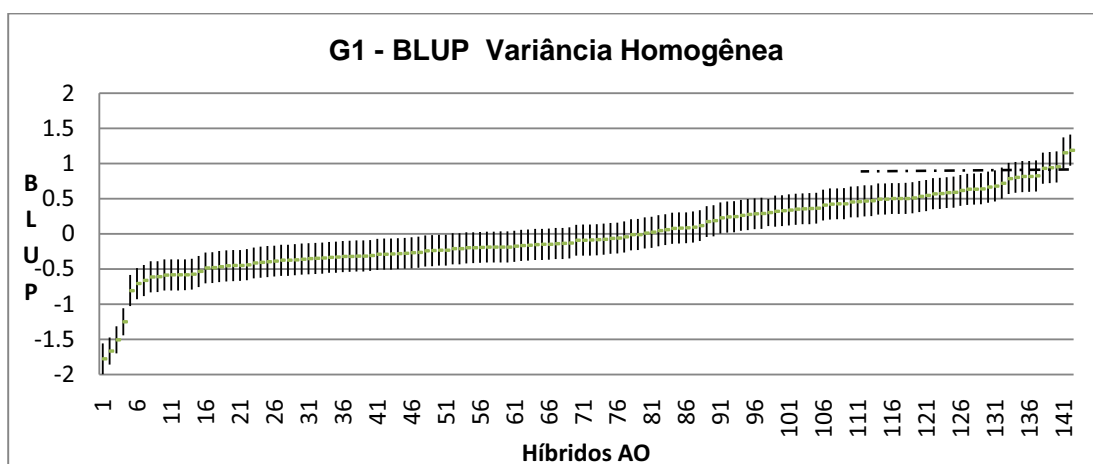
<b>Grupos</b>	<b>Metodologias</b>	<b>BLUP Homo</b>	<b>BLUP Hetero</b>
<b>G1</b>	<b>Médias</b>	0,954	0,932
<b>G1</b>	<b>BLUP Homo</b>	1	0,914
<b>G2</b>	<b>Médias</b>	0,944	0,951
<b>G2</b>	<b>BLUP Homo</b>	1	0,920

As metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero exibiram maior poder de discriminação dos Híbridos AO, devido ao menor erro padrão, quando comparado com a metodologia tradicional, como pode ser observado nas Figuras 1, 2 e 3 para o G1 e nas Figuras 4,5 e 6 para o G2. Observa-se pela linha traçada na base do desvio inferior da média dos Híbridos AO com o maior teor de óleo que se cruza com o desvio das médias dos demais Híbridos AO representando graficamente uma diferença mínima significativa. Na Tabela 6 pode-se verificar que os desvios da média foram menores quando empregada a metodologia BLUP Hetero, evidenciando maior poder de discriminação do que o BLUP Homo, e muito maior que a metodologia tradicional, devido ao melhor controle ambiental promovido pelo BLUP Hetero. As linhas pontilhadas referem-se à significância entre as médias, desvios que tocam a linha tracejada não diferem entre si.

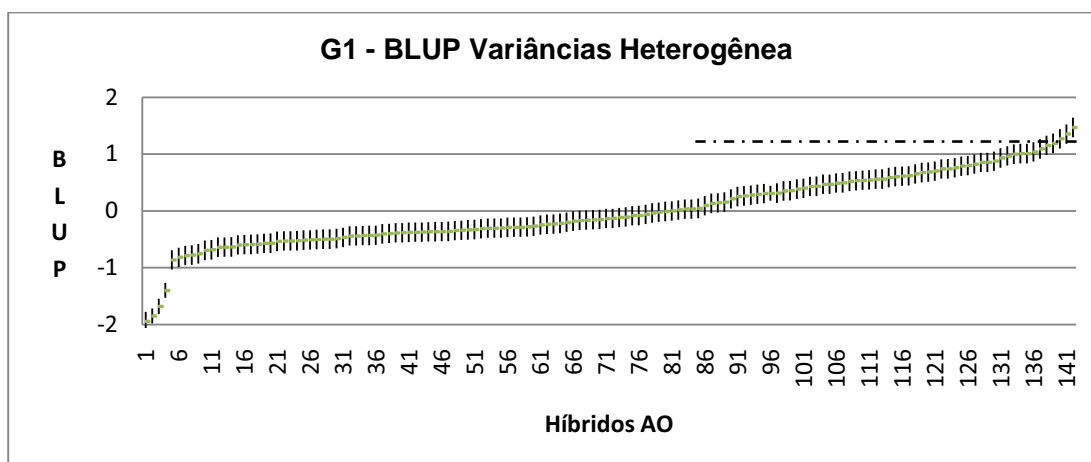




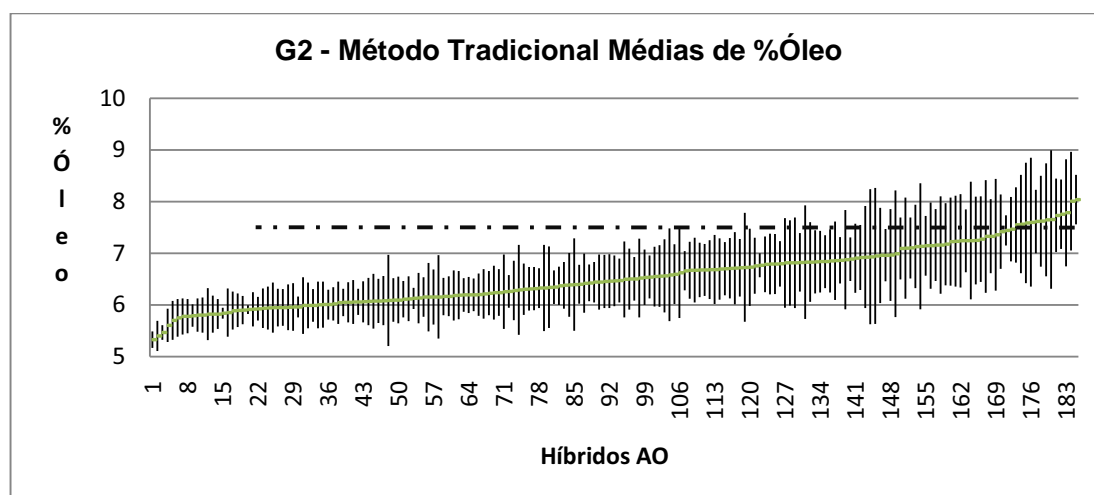
**Figura 1** - Médias e erros padrão da porcentagem de óleo nos grãos obtidos pela metodologia Tradicional para o Grupo 1.



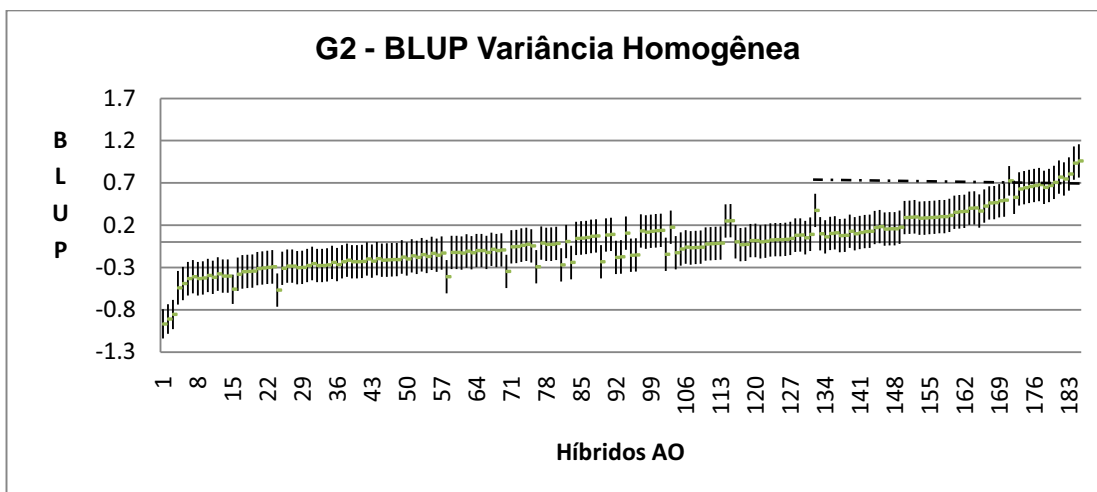
**Figura 2** - Médias e erros padrão da porcentagem de óleo nos grãos obtidos pela metodologia BLUP Homo, para o Grupo 1.



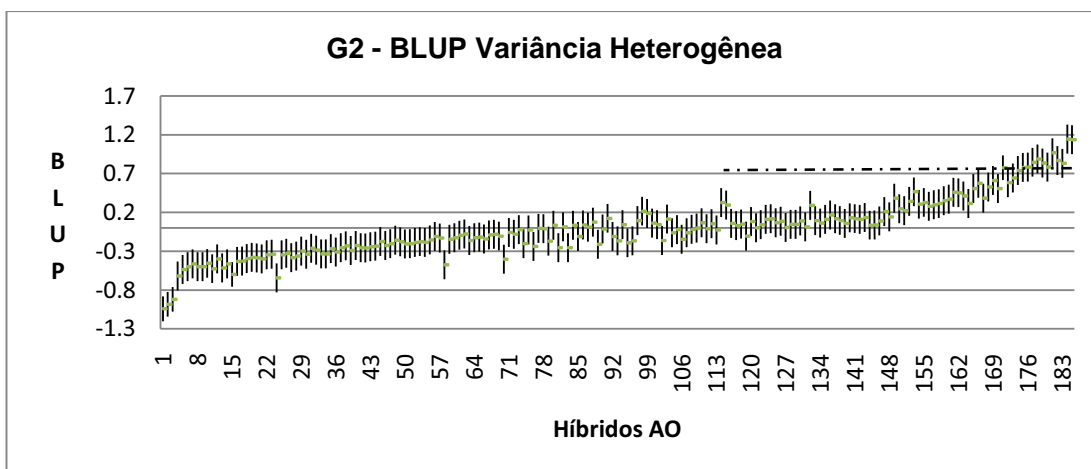
**Figura 3** - Médias e Erros Padrão da porcentagem de óleo nos grãos obtidos pela metodologia BLUP Hetero, para o Grupo 1.



**Figura 4** - Médias e Erros padrão da porcentagem de óleo nos grãos obtidos pela metodologia Tradicional, BLUP Homo e BLUP Hetero para o Grupo 2.



**Figura 5** - Médias e Eros padrão da porcentagem de óleo nos grãos obtidos pela metodologia BLUP Homo para o Grupo 2.



**Figura 6** - Médias e Eros padrão da porcentagem de óleo nos grãos obtidos pela metodologia BLUP Hetero para o Grupo 2.

**Tabela 6** - Erros padrão da média estimados para as metodologias Tradicional, BLUP com variância homogênea e BLUP com variância heterogênea, para os Grupos 1 e Grupo2 para os Híbridos AO.

<b>Desvios Padrão da Média</b>			
	<b>Método</b>	<b>BLUP</b>	<b>BLUP</b>
	<b>Tradicional</b>	<b>Homo</b>	<b>Hetero</b>
G1	0,545	0,192	0,133
G2	0,657	0,197	0,186

Na comparação da seleção praticada com a ordenação dos Híbridos AO em cada metodologia no Grupo 1 e, fazendo-se uma seleção de intensidade de 10% para os Híbridos AO com maior teor de óleo, observa-se na Tabela 7, que utilizando-se a metodologia BLUP Homo e comparada à metodologia tradicional, verifica-se a substituição de três Híbridos AO, dentre os 14 selecionados. Quando se comparou os Híbridos AO selecionados pela metodologia tradicional com os selecionados pelo BLUP Hetero, verifica-se a substituição de cinco Híbridos AO, e a comparação entre os Híbridos AO selecionados pelo BLUP Homo com o BLUP Hetero evidenciou a substituição de três Híbridos AO dentre os 14 selecionados.

No G2, quando comparada a seleção praticada utilizando-se cada metodologia, observa-se que, na comparação entre a metodologia tradicional e a BLUP Homo, os mesmos Híbridos AO foram selecionados quando praticada uma seleção de 10% de intensidade, possivelmente pela maior similaridade entre as variâncias dos parâmetros genéticos e da interação Híbridos AO por ambiente e do erro. Somente quando utilizou-se a metodologia BLUP Hetero na ordenação e seleção é que houve a substituição de um top cross, comparado com as demais metodologias, como pode ser observado na Tabela 8. O menor número de Híbridos AO substituídos no G2 deve-se à menor variância do erro e da interação Híbridos AO por ambiente do que no G1.

A Tabela 9 mostra os Híbridos AO que foram substituídos, usando-se as três metodologias, onde pode ser visualizado o top cross, a média da porcentagem de óleo

e a posição, da maior para a menor, das médias do método tradicional selecionadas e a posição dos Híbridos AO que as substituíram, quando utilizadas as metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero. A razão das substituições, nos dois grupos, pode ser explicada pela maior variância das observações em cada local, dos Híbridos AO substituídos, quando se utilizou a metodologia BLUP Homo e BLUP Hetero.

**Tabela 7** – Comparação da seleção para porcentagem de óleo no grão com índice de 10% de intensidade, levando-se em conta a ordenação dos Híbridos AO nas metodologias tradicional, BLUP com variância homogênea e BLUP com variância heterogênea, dentro do Grupo 1.

Grupos	Metodologia								
	Tradicional			BLUP Homo			BLUP Hetero		
	Híbridos AO	Médias	Ordem	Híbridos AO	Estimativa	Ordem	Híbridos AO	Estimativa	Ordem
G1	74016%	9,00	1	74016%	1,190	1	75359%	1,470	4
G1	74188%	8,71	2	75359%	1,152	4	74016%	1,354	1
G1	74191%	8,70	3	75293%	0,953	10	74191%	1,271	3
G1	75359%	8,63	4	74188%	0,941	2	74188%	1,192	2
G1	74168%	8,56	5	74191%	0,934	3	74077%	1,154	7
G1	74068%	8,56	6	75362%	0,824	17*	75362%	1,092	17*
G1	74077%	8,54	7	74168%	0,816	5	74120%	1,039	8
G1	74120%	8,52	8	74068%	0,815	6	74168%	1,011	5
G1	74185%	8,45	9	74077%	0,804	7	75293%	1,010	10
G1	75293%	8,39	10	74120%	0,787	8	74068%	1,000	6
G	74006%	8,35	11	74185%	0,721	9	75206%	0,969	34*
G1	74162%	8,35	12	75215%	0,681	30*	75270%	0,933	31*
G1	74026%	8,30	13	75270%	0,665	31*	74164%	0,876	20*
G1	74009	8,29	14	74006%	0,641	11	74059%	0,854	23*

\* Híbridos AO Substituídos quando comparados à seleção com base nas médias

**Tabela 8** – Comparação da seleção para porcentagem de óleo no grão com índice de 10% de intensidade, levando-se em conta a ordenação dos Híbridos AO nas metodologias tradicional, BLUP com variância homogênea e BLUP com variância heterogênea, dentro do Grupo 2.

Ensaio	Metodologia								
	Tradicional			BLUP Var Homo			BLUP Var Heter		
	Híbridos AO	Médias	Ordem	Híbridos AO	Estimativa	Ordem	Híbridos AO	Estimativa	Ordem
G2,	7119%	8,04	1	7119%	0,959	1	7058%	1,143	2
G2,	7058%	8,01	2	7058%	0,936	2	7119%	1,138	1
G2,	99076%	7,78	3	99076%	0,806	3	99083%	0,966	5
G2,	7155%	7,75	4	99083%	0,769	5	7270%	0,887	8
G2,	99083%	7,73	5	7155%	0,747	4	7155%	0,869	4
G2,	99096%	7,65	6	DKB7008	0,724	15	99050%	0,846	9
G2,	7293%	7,65	7	99096%	0,707	6	7293%	0,838	7
G2,	7270%	7,62	8	99050%	0,681	9	99076%	0,832	3
G2,	99050%	7,62	9	99061%	0,671	10	99061%	0,785	10
G2,	99061%	7,6	10	7293%	0,668	7	99096%	0,783	6
G2,	991084%	7,59	11	991084%	0,659	11	991084%	0,781	11
G2,	99046%	7,56	12	7270%	0,648	8	DKB7008	0,775	15
G2,	991051%	7,55	13	99046%	0,643	12	99046%	0,74	12
G2,	EXP4811	7,47	14	991051%	0,63	13	991051%	0,645	13
G2,	DKB7008	7,44	15	EXP4811	0,531	14	99339%	0,612	17
G2,	7359%	7,42	16	7359%	0,496	16	EXP4811	0,585	14
G2,	99339%	7,36	17	99339%	0,488	17	99090%	0,574	20*
G2,	99039%	7,33	18	99039%	0,468	18	99039%	0,528	18

\* Híbridos AO Substituídos quando comparado à seleção com base nas médias

**Tabela 9** – Híbridos AO substituídos na seleção dos 10% maiores teores de óleo no grão, quando se utilizou o BLUP Homo e BLUP Hetero em comparação ao método tradicional.

Ensaio	Metodologia								
	Tradicional			BLUP Var Homo			BLUP Var Heter		
	Híbridos AO	Médias	Rank	Híbridos AO	Média	Rank	Híbridos AO	Média	Rank
G1	74185%	8,45	9				75362%	8,24	17
	74162%	8,35	12	75362%	8,24	17	75270%	8,06	31
	74006%	8,35	11				75206%	8,02	34
	74026%	8,3	13	75215%	8,07	30	74164%	8,2	20
	74009	8,29	14	75270%	8,06	31	74059%	8,18	23
G2	7359%	7,42	16				99090%	7,27	20

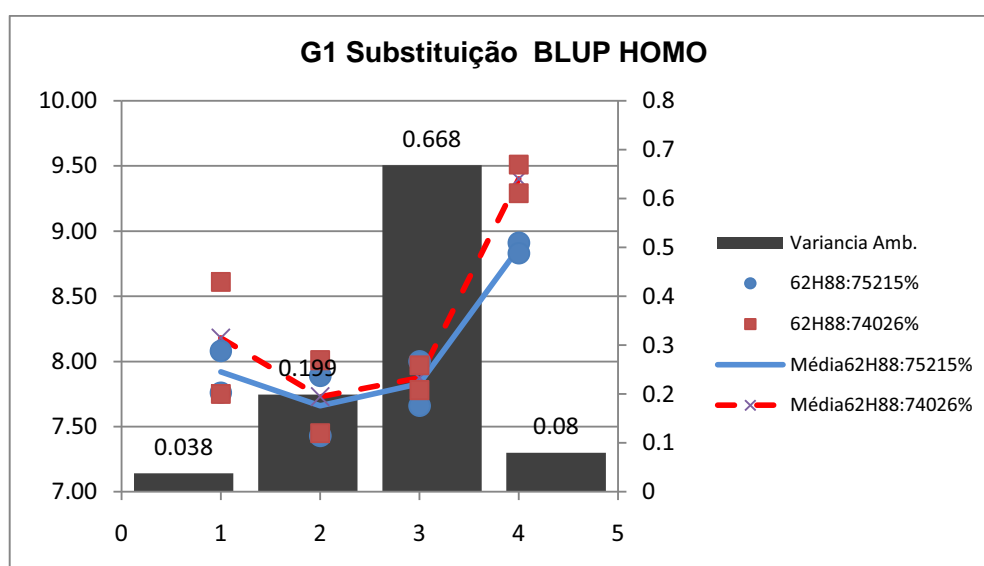
As três metodologias ordenaram diferentemente os Híbridos AO selecionados, como pode ser observado na Tabela 10, onde as correlações entre a ordenação e a seleção de Híbridos AO pode ser observada para o Grupo 1 e Grupo 2, Verifica-se que para o G2 as correlações de ordenação e de seleção foram mais altas, provavelmente devido às maiores correções do erro ambiental das estimativas BLUP ocorridas na metodologia BLUP Hetero, tornando as estimativas BLUP e médias com valores para ordenação mais parecidos entre as metodologias. Na Tabela 4 podem ser observadas as estimativas da variância entre locais para os dois grupos.

**Tabela 10** – Correlação entre a Média, BLUP com variâncias homogêneas e BLUP com variâncias heterogênea com a ordenação e seleção dos Híbridos AO para o caráter porcentagem de óleo no Grão.

Metodologias	Correlação	
	Ordenamento	Seleção
<b>G1</b> Médias VS BLUP Var Homo	0,6303	0,9858
<b>G1</b> Médias VS BLUP Var Hetero	0,7602	0,9765
<b>G1</b> BLUP Var Homo vs BLUP Var Hetero	0,6557	0,9721
<b>G2</b> Médias VS BLUP Var Homo	0,8823	1
<b>G2</b> Médias VS BLUP Var Hetero	0,9043	0,9931
<b>G2</b> BLUP Var Homo vs BLUP Var Hetero	0,8482	0,9931

Para fins de seleção de um grupo de linhagens superiores para a porcentagem de óleo no grão, a ordenação dos Híbridos AO será importante se houver significativa inversão de posicionamento dos Híbridos AO, pois sabe-se que a interação porcentagem de óleo no grão por ambiente foi significativa e, portanto, a ordenação dos Híbridos AO é válida para o determinado ano e locais onde os experimentos foram testados. Portanto o grupo de Híbridos AO selecionados é mais importante do que a ordenação, pois a perda de seleção de um Híbridos AO superior para a característica desejada poderá diminuir o ganho de seleção num intervalo de tempo,

A Figura 7 exemplifica a substituição do Híbridos AO selecionado pela metodologia tradicional, 74026% (pontos quadrados e média com linhas tracejadas), pelo Híbridos AO 75215% (pontos circulares e médias com linha cheia) na metodologia BLUP Homo. O gráfico em barras representa a variância ambiental em cada local no G1. Verifica-se que o Híbridos AO substituído, 74026%, apresentou maior amplitude entre os valores obtidos nos locais um e dois, onde as variâncias do erro ambiental foram mais baixas. O Híbridos AO 75215% apresentou maior amplitude no local 3 onde a variância ambiental foi muito alta, selecionando desta maneira uma estimativa com menor erro experimental.

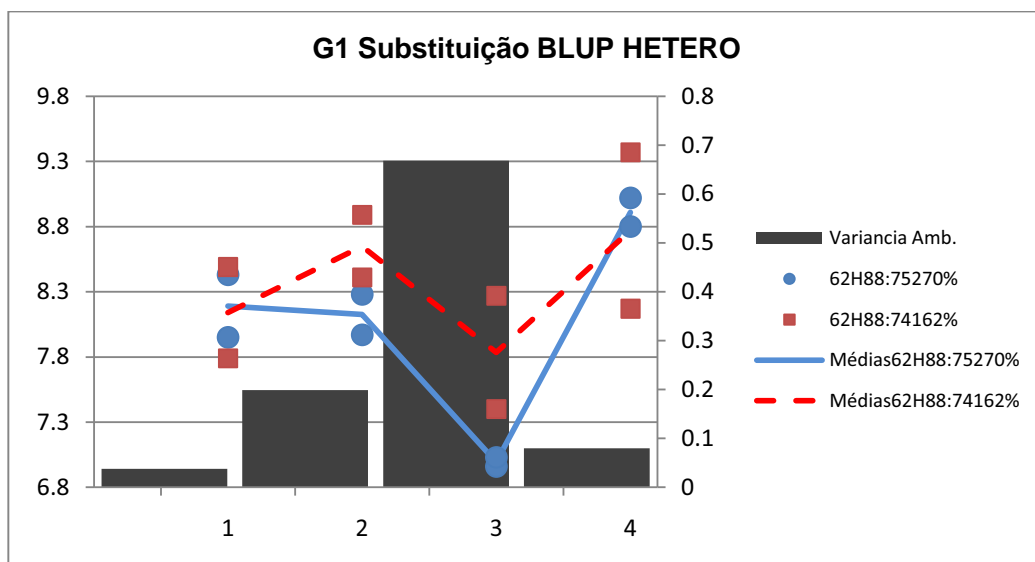


**Figura 7** - Comparação entre os Híbridos AO 74026% selecionado pela Metodologia Tradicional, e AO 75215% selecionado pela Metodologia BLUP com Variância Homogênea, no G1, pelos valores de óleo por repetição por local, médias destes valores e a variância ambiental dentro de cada local.

A Figura 8 exemplifica a substituição do Híbridos AO 74162% (pontos quadrados e médias representadas pelas linhas tracejadas), selecionado pela metodologia tradicional, pelo Híbridos AO 75270% (pontos circulares e médias representadas pela linha cheia) que foi selecionado pela metodologia BLUP Hetero. Verifica-se que a amplitude dos valores obtidos em cada local foi maior nos ambientes

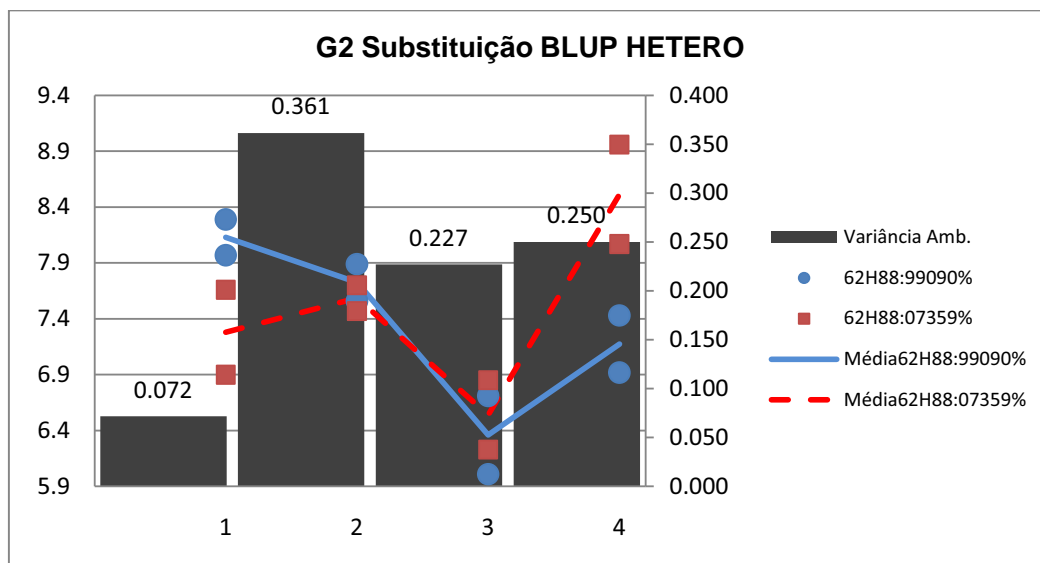


dois, três e quatro para o Híbridos AO que foi substituído, ou seja o Híbridos AO 74162%.



**Figura 8** - Comparação entre os Híbridos AO 74026% selecionado pela Metodologia Tradicional, e 75215% selecionado pela Metodologia BLUP com Variância Homogênea, no G1, pelos valores de óleo por repetição por local, médias destes valores e a variância ambiental dentro de cada local.

Na Figura 9 pode-se verificar que o top cross 99090%, selecionado pela metodologia BLUP Hetero (pontos redondos e linha cheia) substituiu o top cross 07359% (pontos quadrados e linhas pontilhadas) selecionado pela metodologia tradicional. Observa-se que a amplitude dos dados do teor de óleo obtidos em cada local foi menor no top cross 99090% do que no 07359%.



**Figura 9** - Comparação entre os Híbridos AO 07359% selecionado pela Metodologia Tradicional, e 99090% selecionado pela Metodologia BLUP com Variância Heterogênea, no G2, pelos valores de óleo por repetição por local, médias destes valores e a variância ambiental dentro de cada local.

Os demais híbridos substituídos segem a mesma lógica exemplificada nas Figuras 7, 8 e 9, evidenciando o melhor poder de identificação (ordenamento e seleção) dos Híbridos AO pelas metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero. A melhor comprovação do poder de melhor ordenar as médias será o de se repetir o plantio dos Híbridos AO selecionados nos mesmos locais e época e ordená-los novamente com as mesmas metodologias para que a correlação da ordem seja avaliada.

Concluindo, pode-se sumarizar que a metodologia BLUP com variância heterogênea apresentou menor estimativa da variância da interação Híbridos AO por ambiente, maior estimativa da variância genética e maior estimativa da herdabilidade. As metodologias BLUP com variância Homogênea e BLUP com variância Heterogênea mostraram maior poder de discriminação das médias. A metodologia BLUP com variância heterogênea apresentou as menores estimativas do desvio padrão da média, evidenciando maior poder de separação das médias do que as outras metodologias testadas. A ordenação dos Híbridos AO, quanto ao teor de óleo no grão, foi diferente entre as três metodologias testadas. A substituição dos Híbridos AO selecionados pela metodologia tradicional pelos selecionados pela metodologia BLUP Homo e BLUP Hetero deve-se à variância das estimativas dentro de locais. Existe ganho em precisão

ao se utilizar as metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero comparado ao método tradicional nas situações de não balanceamento dos ensaios.

#### **4 - CONCLUSÃO**

A metodologia REML/BLUP com variâncias heterogêneas mostrou ser a metodologia mais precisa na seleção dos Híbridos AO superiores para o caráter alto óleo em milho em condição de ensaios semi-balanceados.

#### **5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALEXANDER, D. E. Corn as an oil crop. In: THE ANNUAL HYBRID CORN INDUSTRY RESEARCH, 17., 1963, Washington. **Proceedings...** Washington: American Seed Trade Association, 1963.

CÂNDIDO, L. S. **Uso de modelos mistos na avaliação e ordenação de genótipos de cana-de-açúcar. com e sem efeitos de competição com parcelas vizinhas.** 2009. 58 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

DUARTE, J. B.; VENCOVSKY, R. Estimação e predição por modelo linear misto com ênfase na ordenação de médias de tratamentos genéticos. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 109-117, 2001.

DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J.; ALEXANDER, D. E. Seventy generations of selection for oil and protein concentration in the maize kernel. In: DUDLEY, J. W. (Ed.). **Seventy generations of selection for oil and protein in maize.** Madison: CSSA. Madison, 1974. p. 181-212.

DUDLEY, J. W. Seventy-six generation of selection for oil and protein percentage in maize. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON QUANTITATIVE GENETICS, 1977, Ames. **Proceedings...** Ames: Iowa State University Press, 1977. p. 459-473.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468p.

HENDERSON, C. R. Selection index and expected genetic advance. In: STATISTICAL GENETICS AND PLANT BREEDING: a symposium and workshop. NRC, 1963. p. 141-163. (Publication, 928).

HENDERSON, C. H. Best linear estimation and prediction under a selection model. **Biometrics**, Washington, v. 31, n. 2, p. 423-447, 1975.

LAMBERT, R. J. High-oil corn hybrids. In: HALLAUER, A. R. (Ed.). **Specialty corns**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 123-145.

MADE, J. M.; LAMBERT, R. J. Selection response for increase grain yield in two high oil maize synthetics. **Indonesian Journal Science**, Bogor, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2007.

PATTERSON, H. D.; THOMPSON, R. Recovery of inter-block information when blocks sizes are unequal. **Biometrika**, Washington, v. 58, p. 545-554. 1971.

REGAZZI, A. J.; SILVA, H. D.; VIANA, J. M. S.; CRUZ, C. D. Análise de experimentos em látice quadrado com ênfase em componentes de Variância. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 34, n. 11, p. 1987-1997, 1999.

RESENDE, M. D. V. de. **Análise estatística de modelos mistos via REML/BLUP na experimentação em melhoramento de plantas perenes**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. p. 1-101. (Documentos, 47).

RESENDE, M. D. V. de. Procedimentos ótimos de seleção com dados balanceados e desbalanceados. In: \_\_\_\_\_. (Ed). **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. cap. 7. p. 209-347.

RESENDE, M. D. V. de; MENDES, S. Estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e melhor predição não viciada (BLUP) em *Pinus*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 32/33, p. 23-42, 1996.

ROCHA, M. G. B.; PIRES, I. E.; XAVIER, A.; CRUZ, C. D.; ROCHA, R. B. Avaliação genética de progênies de meios-irmãos de *Eucalyptus urophylla* utilizando os procedimentos REML/BLUP e E(QM). **Ciência Florestal.**, Piracicaba, v. 16, n. 4, p. 369-379, 2006.

SCARPINATI, E. A. **Influência do modelo de análise estatística e da forma das parcelas experimentais na seleção de clones de *Eucalyptus* spp.** 58p. .Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2007.

SPRAGUE, G. F.; MILLER, P. A.; BRIMHALL, B. Additional studies of relative effectiveness of two systems of selection for oil content of the corn kernel. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, p. 329-331, 1952.

SILVELA, L.; RODGERS, R.; BARRERA, A. E ALEXANDER, D.E. Effect of selection intensity and population size on percent oil in maize. *Zea mays*. L. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 78, p. 298-304, 1989.

WASSON, J. J; WONG, J. C.; MARTINEZ, E.; KING, J. J.; DeBAENE, J.; HOTCHKISS, J.; MIKKILINENI, V.; BOHN, M. O.; ROCHEFORT, T. R. QTL associated with maize kernel oil. protein. and starch concentrations; kernel mass; and grain yield in illinois high oil x b73 backcross-derived lines. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 243-253, 2008.

### **3.3. ORDENAÇÃO, SELEÇÃO E PARÂMETROS GENÉTICOS DO CARÁTER “ALTO ÓLEO” EM MILHO AVALIADO POR METODOLOGIAS DE MODELO MISTO E O ÍNDICE “OILCK” EM ENSAIOS NÃO BALANCEADOS.**

**RESUMO:** A utilização do milho alto óleo em rações animais e pela indústria alimentícia humana tem despertado o interesse por programas de melhoramento genético visando cultivares mais adaptados com maior teor de óleo e maior produtividade de grãos. Pouca informação existe deste caráter quanto aos parâmetros genéticos principalmente nas regiões tropicais. A utilização de análises de modelo misto tem sido mais empregada em análises de experimentos com plantas perenes, principalmente devido ao desbalanceamento nos ensaios. Esta metodologia é muito pouco utilizada na análise de experimentos em plantas anuais, onde na maioria dos casos são utilizados ensaios balanceados para avaliação da produtividade das cultivares. Para tornar possível a comparação entre dados de ensaios não balanceados, é comum a construção de um índice que pondera o erro experimental estimado pelo uso de testemunhas em comum entre os ensaios. Trezentas e quinze linhagens e cinco testadores foram avaliados para o teor de óleo no grão em quatro locais, porém de forma não balanceada, os genótipos estavam em ambientes distintos, impossibilitando a análise pela metodologia tradicional. Foram comparadas as metodologias REML/BLUP com variâncias homogêneas e com variância heterogênea entre locais, comparadas entre si e com o Índice OILCK para a ordenação e seleção dos genótipos. Verificou-se que a metodologia REML/BLUP com variâncias heterogêneas foi mais eficiente em estimar os parâmetros genéticos, na ordenação e seleção dos genótipos devido ao maior poder do controle ambiental.

#### **1 - INTRODUÇÃO:**

A alta concentração de nutrientes nos grãos tem sido a meta de vários programas de melhoramento de muitos cereais, inclusive o milho, aumentando o teor ou qualidade de óleo, proteína ou amido com foco na alimentação humana e na animal. O milho alto óleo além de aumentar a densidade energética também melhora o balanço de aminoácidos, devido ser a energia dos lipídeos 2,25 vezes maior do que a do amido e de possuir um embrião maior, onde são encontradas as maiores quantidades dos aminoácidos essenciais (ALEXANDER, 1963; LAMBERT, 1994; WASSON et al., 2008).

A correlação positiva existente entre o teor de amido e o peso do grão fez com que o melhoramento acentuado para o aumento de produtividade por área e características agrônômicas desejáveis, resultasse em uma perda relativa de nutrientes no grão como, principalmente, proteína e óleo (MADE & LAMBERT, 2007). A resposta

continua à seleção por várias gerações, bem como a resposta à seleção reversa em gerações avançadas, sugere que um grande número de locos segregantes está envolvido na herança do teor de óleo no grão de milho (SPRAGUE et al., 1952; ALEXANDER, 1963; DUDLEY, 1977). Verificou-se que efeitos genéticos de dominância ou heterose não têm sido detectados em cruzamentos de linhagens para a característica alto óleo, e também não foi detectada depressão por endogamia, portanto, foi presumido que o caráter alto óleo em milho está sob controle genético aditivo (DUDLEY et al, 1974; SILVELA et al., 1989). O teor de óleo no milho é regido por poligenes e, portanto, quantitativo (DUDLEY, 1977; MADE & LAMBERT, 2007) e apresenta uma alta herdabilidade para este caráter, da ordem de 70% (HALLAUER & MIRANDA FILHO, 1988).

O melhoramento para milho alto óleo tem sido realizado e reportado nas regiões temperadas, principalmente nos Estados Unidos e China, poucos trabalhos têm sido realizados nas regiões tropicais, portanto não se conhece a interação genótipo x ambiente, herbabilidade, variância genética e outros parâmetros genéticos importantes para um programa de seleção para o caráter alto óleo em milho tropical.

No melhoramento de plantas, a maioria das análises têm sido realizadas baseadas em modelo fixo para a estimação de médias de tratamentos, mesmo quando estes forem obtidos por amostragem numa população, isto é, em situações que o modelo é tipicamente misto, pois inclui, além de efeitos fixos, efeitos aleatórios dos genótipos (DUARTE & VENCOVSKY, 2001).

A utilização de análises de modelo misto tem sido mais empregada em análises de experimentos com plantas perenes, principalmente devido ao desbalanceamento nos ensaios. O uso desta metodologia é muito pouco utilizado na análise de experimentos em plantas anuais, onde, na maioria dos casos, são utilizados ensaios balanceados para avaliação da produtividade das cultivares. Porém o uso da metodologia REML/BLUP poderá ser uma ferramenta para estimar parâmetros genéticos, discriminar médias e ordenar genótipos mais exata que a metodologia tradicional e que deverá ser testada para este fim.

Na modelagem mista, a predição dos valores genéticos dos candidatos a seleção é realizada através de componentes de variância conhecidos ou estimados com



precisão. De acordo com RESENDE (2000), o procedimento ótimo de predição de valores genéticos é o BLUP (melhor preditor linear não - viesado) e o procedimento ótimo de estimação de componentes e variância é o REML (máxima verossimilhança restrita).

Em programas de melhoramento, é comum, para otimização de recursos, a divisão das progênes, de uma população, a serem avaliadas, em grupos, os quais podem ser avaliados nos mesmos locais ou não.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de modelos mistos através da metodologia REML/BLUP para conhecer a magnitude dos parâmetros genéticos e a ordenação dos genótipos visando a seleção para os caracteres alto óleo e produtividade em uma população de linhagens homozigóticas oriundas do cruzamento de uma linhagem endogâmica com alto teor de óleo com outra de baixo teor de óleo, em germoplasma tropical e testadas em quatro localidades no Brasil Central em conjuntos não balanceados.

## **2 – MATERIAL E MÉTODOS**

Os genótipos experimentais utilizados neste trabalho foram constituídos de trezentas e quinze linhagens desenvolvidas pelo método dos di-haplóides, oriundas do cruzamento entre duas linhagens de milho endogâmicas, contrastantes para o teor de óleo no grão: MON-UB88 (teor de óleo normal - 4,5%) e MON-UB62HO (alto teor de óleo - 9,0%), cuja descrição é apresentada a seguir:

MON-UB88 linhagem, desenvolvida no Centro de Pesquisa da Monsanto na localidade de Passo Fundo no Estado do Rio Grande do Sul, de ciclo precoce, grãos amarelos dentados e teor de óleo nos grãos normal - 4,5% matéria seca, desenvolvida pelo método tradicional do pedigree.

MON-UB62HO - linhagem de milho, desenvolvida no Centro de Pesquisa da Monsanto na localidade de Uberlândia, no Estado de Minas Gerais, de ciclo normal, grãos duros, cor alaranjada e com alto teor de óleo nos grãos – 9,0% matéria seca, desenvolvida pelo método tradicional de pedigree.

As 315 linhagens obtidas foram cruzadas com uma linhagem testadora, MON-UB01, que é uma linhagem de milho, desenvolvida no Centro de Pesquisa da Monsanto na localidade de Uberlândia, Estado de Minas Gerais, de ciclo tardio, grãos amarelos dentados e com teor normal de óleo nos grãos (5,0% ms).

Os 315 híbridos de alto óleo (Híbridos AO) foram obtidos em um campo isolado, onde as 315 linhagens foram plantadas como fêmeas e a linhagem MON-UB01, plantada como macho.

As testemunhas utilizadas nos ensaios foram os seguintes híbridos comerciais:

**P30F90** – Híbrido de grãos semidentados amarelos de ciclo normal, adaptado às condições edafoclimáticas da região dos Cerrados Brasileiros, com teor de óleo de 5,2% na matéria seca (ms).

**P30F87** – Híbrido de grãos flinte alaranjados de ciclo normal, adaptado às regiões do Brasil Central, com teor de óleo de 5,4% ms.

**DKB390** – Híbrido de grãos semidentados amarelos de ciclo precoce, adaptado às regiões de baixa altitude (<700m) de ampla aptidão adaptativa, com teor de óleo de 5,5% ms.

**DKB393** – Híbrido de grãos semiflinte amarelos de ciclo tardio, adaptado às condições edafoclimáticas do Cerrado Brasileiro, com teor de óleo de 5,2%ms,

**DKB7008** – Híbrido de grãos semidentados amarelos, adaptado às condições do Brasil Central, com alto teor de óleo nos grãos, 7,5% ms.

Os 315 Híbridos AO, formaram distribuídos em 7 ensaios, cada um com 45 híbridos experimentais e 5 testemunhas, num total de 50 genótipos, plantados em 4 locais, conforme mostrado na Tabela 1, com 2 repetições por local, num total de 2800 parcelas avaliadas. O número total de localidades utilizadas para avaliação dos genótipos foram 6, sendo que cada ensaio ou genótipo foi plantado em 4 locais, conforme descrito na Tabela 2. Os ensaios foram agrupados em um único grupo de maneira desbalanceada para ambientes, pois os ensaios 75674, 75675 e 75676 foram avaliados em Brasília-DF, Unai-MG, Chapadão do Sul-MS e Uberlândia-MG e os ensaios 75607, 75697, 75698 e 75699 foram avaliados em Brasília-DF, Passos-MG, Uberaba-MG e Uberlândia-MG. Deste modo, uma vez que, os tratamentos (genótipos) não foram avaliados em todos os locais, as médias ajustadas (BLUE) para híbridos

tornam-se não estimáveis, Neste caso, apenas a metodologia de modelos mistos é aplicável à análise destes dados.

**Tabela 1** – Ensaio, número de genótipos, repetições e parcelas por local.

Ensaio	Híbridos AO	Testemunhas	Total de Genótipos	Número de locais	Repetições por local	Total de Repetições	Total de parcelas
75674	45	5	50	4	2	8	400
75675	45	5	50	4	2	8	400
75676	45	5	50	4	2	8	400
75607	45	5	50	4	2	8	400
75697	45	5	50	4	2	8	400
75698	45	5	50	4	2	8	400
75699	45	5	50	4	2	8	400
<b>Grupo geral</b>	315	5	320	4	2	56	2800

**Tabela 2** – Locais onde cada ensaio foi plantado e Grupo total de parcelas avaliados por local e como um único conjunto.

Ensaio	Chapadão					
	Unai - MG	do Sul - MS	Brasília - DF	Uberlândia - MG	Passos - MG	Uberaba - MG
75674	X	X	X	x		
75675	X	X	X	x		
75676	X	X	X	x		
75607			X	x	X	X
75697			X	x	X	X
75698			X	x	X	X
75699			X	x	X	X
<b>Grupo geral</b>	150	150	350	350	150	150

As parcelas experimentais foram constituídas de duas linhas de 5 metros, distanciadas uma das outras em 80 cm, com uma área de 8 m<sup>2</sup>. O plantio foi realizado por meio de uma plantadeira SLC 710 adaptada para o plantio de parcelas experimentais para o sistema de plantio direto, plantando-se duas parcelas por vez. Foram plantadas 35 sementes por linha e após o desbaste realizado no 20º dia após o plantio, foram deixadas 25 plantas por linha ou 50 plantas por parcela estabelecendo uma densidade de 62500 plantas por hectare. A adubação de plantio utilizada foi de 32 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio, 112 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 72 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e com uma primeira adubação de cobertura aos 25 dias após plantio de 40 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio e 40 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e mais uma adubação em cobertura aos 45 dias após plantio de 40 kg.ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio. Os tratos culturais para controle de ervas daninhas, insetos nocivos e as irrigações foram realizados quando necessário, de modo a manter as plantas em condições ótimas de crescimento e desenvolvimento.

No presente trabalho, a polinização nos ensaios foi aberta, devido ao fato de que em situações em que o desenvolvimento gevetativo das plantas de milho foi normal, ou seja em boas condições hídricas e de fertilidade adequadas, a polinização das plantas dentro de cada parcela é praticamente realizada pelas plantas desta mesma parcela, possuindo pouca interferência das parcelas circunvizinhas.

A colheita foi realizada por uma colheitadeira Hallis Chalmer 5200, adaptada para a colheita de parcelas experimentais e coleta de amostras dos grãos destas parcelas, com capacidade de colheita de uma parcela por vez.

O caráter avaliado foi a porcentagem de óleo no grão obtido por meio de uma amostra de 200g de grãos de cada parcela. No laboratório, as amostras foram submetidas à análise de óleo no equipamento INFRATEC 1200, por meio de transmitância do vermelho próximo (NIRt).

Para a análise dos dados foi utilizado o programa computacional SAS® (SAS 9,1, SAS Institute, Cary, NC, USA). Com base nestas análises, foram estimadas as variâncias genéticas, as correlações entre as estimativas obtidas nas duas metodologias, os coeficientes de herdabilidade considerando o modelo misto.

Esta análise não ficou restrita ao grupo de ensaios que foi conduzido nos mesmos locais (Tabela 2), e sim como um único grupo de ensaios, e, portanto, apenas a metodologia de modelos mistos é aplicável à análise destes dados. Portanto, os dados do teor de óleo nos grãos foram submetidos a duas metodologias: o método de modelos mistos com estrutura e variância residual homogênea e a metodologia de modelos mistos com estrutura de variância residual heterogênea, para fins de comparação de parâmetros genéticos. Para a ordenação e seleções dos trop crosses além das duas metodologias citadas, utilizou-se o índice OILCK, obtido pelo percentual da média do teor de óleo dos Híbridos AO em cada local pela média do teor de óleo das testemunhas nos mesmos locais. Para a obtenção dos parâmetros genéticos, o efeito de tratamentos foi desdobrada em Híbridos AO e testemunhas.

## 2.1. Metodologia de modelos mistos com estrutura residual homogênea

O modelo matemático utilizado foi o seguinte:

$$Y_{i(j)(l)k} = \mu + a_l + s_k + b/a/s_{(j)(l)k} + t_i + ta_{il} + e_{i(j)(l)k}, \text{ onde:}$$

$Y_{i(j)(l)k}$  = observação do tratamento  $i$  na repetição  $j$  no ambiente  $l$ ,

$\mu$  = constante inerente a todas as observações

$a_l$  = efeito aleatório de ambientes,  $a_l \sim NIID(0, \hat{\sigma}_a^2)$

$s_k$  = é o efeito do ensaio  $s_k \sim NIID(0, \hat{\sigma}_s^2)$

$t_i$  = efeito aleatório de tratamentos  $t_i \sim N(0, \hat{\sigma}_t^2)$

$b/a/s_{(j)(l)k}$  = efeito aleatório de blocos(repetições) dentro de ambientes dentro de ensaio

$b/a/s_{(j)(l)k} \sim N(0, \hat{\sigma}_b^2)$

$ta_{ij}$  = efeito da interação genótipo x ambiente  $ta_{ij} \sim N(0, \hat{\sigma}_{ga}^2)$

$e_{i(j)(l)k}$  = erro experimental associado à parcela  $i(j)(l)k$ ,  $e_{i(j)(l)k} \sim N(0, \hat{\sigma}^2)$

O processo de estimação-predição seguiu a metodologia dos modelos mistos (HENDERSON, 1975). Essa metodologia consiste na obtenção de predições dos

valores genotípicos tratados como efeito aleatório, corrigidos para os demais efeitos fixos contidos no modelo. As estimativas dos componentes de variância foram obtidas pelo método da máxima verossimilhança restrita (Restricted Maximum Likelihood - REML) descrito por PATTERSON & THOMPSON (1971) e a predição dos valores genotípicos de cada indivíduo foi obtido pelo melhor preditor linear não viesado (BLUP), (REZENDE & MENDES, 1996).

Modelo misto é matricialmente representado por:  $y = X\beta + Za + e$ , em que:

$y$ : vetor ( $n \times 1$ ) de observações;

$X$ : matriz ( $n \times p$ ) de incidência dos efeitos fixos  $b$ ;

$Z$ : matriz ( $n \times q$ ) de incidência dos efeitos aleatórios  $a$  (genéticos ou ambientais);

$\beta$ : vetor ( $p \times 1$ ) de efeitos fixos a serem estimados;

$a$ : vetor ( $q \times 1$ ) de efeitos aleatórios dos genótipos a serem preditos; e

$e$ : vetor ( $n \times 1$ ) de erros aleatórios associados a cada observação, Assumiu-se que:  $e \sim Nn(0, R)$ , sendo  $R$  a matriz de variâncias e covariâncias residuais, dada por  $R = I\sigma_e^2$  e  $a \sim Nq(0, G)$ , sendo  $G$  a matriz de variâncias e covariâncias genéticas dada por:  $G = I\sigma_g^2$ , onde  $\sigma_g^2$  denota a variância genética, variância da interação genótipo x ambiente ou de locais, dependendo do componente a ser estimado. Para esta análise foi assumido que  $A$  é igual à matriz identidade ( $I$ ) e, portanto:  $G = I\sigma_g^2$ .

No modelo em questão, é assumido, ainda, não existir covariância entre os desvios residuais ( $e$ ) e efeitos genéticos ( $a$ ), ou seja,  $Cov(a, e) = 0$ . Assim, o sistema equações de modelo misto (EMM) que permite obter simultaneamente o preditor para efeitos aleatórios ( $\hat{a}$ ) e o estimador dos efeitos fixos ( $\hat{\beta}$ ), é matricialmente representado por:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\sigma_e^2/\sigma_g^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{a} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix} \quad \text{HENDERSON (1975),}$$

E a melhor predição linear não-viesada (BLUP) é igual:  $BLUP(\hat{a}) = GZV^{-1}(y - X\hat{\beta})$ , sendo:  $GZ = Cov(y, a)$ , conforme HENDERSON (1963).

## 2.2. Metodologia de modelos mistos com estrutura residual heterogênea

As estimativas componentes de variâncias e BLUPs foram obtidas como anteriormente descritos. Porém neste caso adotou-se uma estrutura para a matrix de variância-covariância R - variâncias heterogêneas entre locais (Bloco – diagonal – cada local apresentando uma variância residual diferente),  $R=I\sigma^2_l$ ,

## 2.3. Parâmetros de comparação entre os modelos

A variância fenotípica foi estimada através da expressão:

$$\hat{\sigma}_f^2 = \hat{\sigma}_g^2 + \frac{\hat{\sigma}_{ga}^2}{J} + \frac{\hat{\sigma}^2}{JA}, \text{ onde:}$$

J = Observações

A = Ambientes

O coeficiente de herdabilidade foi estimado utilizando-se a seguinte expressão:

$$\hat{h}^2 = \hat{\sigma}_g^2 / \hat{\sigma}_f^2, \text{ onde:}$$

$\hat{\sigma}_g^2$  = Variância Genética

$\hat{\sigma}_f^2$  = Variância Fenotípica

O coeficiente de variação genético foi estimado da seguinte maneira:

$$CV_g = \left( \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}}{\bar{x}} \right) 100$$

$$\text{Correlação posicional de Sperman} = \sqrt{\frac{\sum_1^{kn_i} (i - \bar{\mu})^2}{n-1}}$$

$$\text{Erro Padrão: } \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_e^2}}{\sqrt{n}}$$

Os parâmetros adotados para a comparação entre as metodologias foram a variância genética, a variância do erro, a variância da interação genótipo por ambiente e herdabilidade. Para a ordenação dos genótipos e posterior seleção utilizou-se comparações através do índice de correlação,

#### 2.4. Índice OILCK

Para tornar de alguma forma possível a comparação das médias do teor de óleo nos grãos de milho foi obtido o índice OILCK:

$$\text{OILCK} = \left( \frac{\bar{X}_{il}}{\bar{Y}_{tl}} \right) 100, \quad \text{onde:}$$

$\bar{X}_{il}$  = média do tratamento i no local l,

$\bar{Y}_{tl}$  = média das testemunhas t no local l

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 315 Híbridos AO utilizados mais as cinco testemunhas, foram testados em dois grupos de ambientes, como pode ser observado na Tabela 2. O modelo adotado para a análise destes dados é um modelo fatorial (interação cruzada), sendo um dos principais componentes deste modelo a interação genótipo x ambiente. Uma vez que os genótipos estão subdivididos em grupos, os quais não foram distribuídos em todos os locais, há um grande desbalanceamento, desta. Desta maneira, os efeitos de genótipos estão confundidos com a interação genótipo x ambientes, portanto as médias genotípicas ajustadas tornam-se não estimáveis inviabilizando o uso de modelos fixos para a análise destes dados. Para contornar este problema, é de prática comum entre os melhoristas construir um índice (OILCK) para a comparação entre os genótipos que é a relação da média da progênie dividida pela média dos híbridos testemunhas dentro de cada local, e, posteriormente, a média destes índices entre os locais. Desta maneira elimina-se parte da variação ambiental associada a estas médias, tornando este índice uma estimativa mais confiável para comparação de médias entre locais. Portanto



métodos que possibilitem uma análise estatística destes genótipos independentemente de estarem balanceados ou não e que permitem melhor controle ambiental podem ser de grande utilidade para a análise de dados em plantas anuais (BERNARDO, 2002). Os 315 genótipos mais as testemunhas foram avaliados pelas metodologias de REML/BLUP com variância homogênea (BLUP Homo) e REML/BLUP com variâncias Heterogêneas (BLUP Hetero).

A estimativa da variância genética obtida pela metodologia BLUP Homo de 0,091 e a variância genética estimada pela metodologia BLUP Hetero de 0,129, obtida para os Híbridos AO (Tabela 3), portanto houve um aumento na estimativa da variância genética, quando utilizado o BLUP Hetero, devido a melhor estimativa do erro e interações conferidos pela metodologia BLUP Hetero. Verifica-se também que a variância do erro foi maior no BLUP Hetero, porém com menor variância da interação genótipo x ambiente. O coeficiente de variação genético e as estimativas de variância fenotípica e a herdabilidade foram também maiores para a metodologia BLUP Hetero. A maior estimativa da variância genética, menor variância da interação gxa, maior herdabilidade, obtidas pelo BLUP Hetero permite inferir que as estimativas dos parâmetros genéticos obtidos pela metodologia do BLUP Hetero serão as mais exatas para o uso no programa de melhoramento para o aumento de óleo nos grãos das progênes utilizadas neste trabalho.

Verificou-se que efeitos genéticos de dominância ou heterose não têm sido detectados em cruzamentos de linhagens para a característica alto óleo, e também não foi detectada depressão por endogamia, portanto, foi presumido que o caráter alto óleo em milho está sob controle genético aditivo (DUDLEY,1977; SILVELA et al.,1989), portanto, pode-se inferir que a estimativa da variância genética é de natureza aditiva e a herdabilidade será, portanto, no sentido restrito.

**Tabela 3** - Comparação entre a estimativa da variância genética  $V_g$  ( $\hat{\sigma}_g^2$ ), da variância da interação genótipo x ambiente  $V_{ga}$  ( $\hat{\sigma}_{ga}^2$ ), da variância do erro  $V_e$  ( $\hat{\sigma}^2$ ), da variância fenotípica  $V_f$  ( $\hat{\sigma}_f^2$ ) herdabilidade  $h^2$  ( $\hat{h}^2$ ) e coeficiente de variação genético  $CV_g$ , entre as metodologias BLUP com variâncias homogêneas e BLUP com variâncias heterogêneas.

Parâmetros Genéticos		
Parâmetros	BLUP Homo	BLUP Hetero
<b>Vg</b>	<b>0,091</b>	<b>0,129</b>
<b>Vga</b>	<b>0,127</b>	<b>0,071</b>
<b>Ve</b>	<b>0,164</b>	<b>0,185</b>
<b>Vf</b>	<b>0,175</b>	<b>0,188</b>
<b>h<sup>2</sup></b>	<b>0,519</b>	<b>0,687</b>
<b>CVg</b>	<b>0,043</b>	<b>0,052</b>
<b>Média Híbridos AO</b>	<b>6,940</b>	<b>6,940</b>

A estimativa do índice OILCK, as estimativas do BLUP Homo e BLUP Hetero podem ser observadas na Tabela 4. A ordenação dos genótipos foi diferente entre as três metodologias, porém entre o índice OILCK e BLUP Homo houve a maior correlação entre o posicionamento. Entre as duas metodologias BLUP's, a correlação para a ordenação dos genótipos foi a menor encontrada, evidenciando que a ponderação do erro por local altera as estimativas BLUP.

Para a comparação das metodologias, foram ordenados e selecionados 32 genótipos pelo índice OILCK e comparados pela ordenação obtida pela metodologia BLUP Homo e BLUP Hetero. Observa-se que a metodologia BLUP Homo selecionou 62,5%, ou seja 20 dos 32 genótipos selecionados pelo índice OILCK, ou seja, 12 genótipos diferiram na seleção. A seleção realizada com a metodologia BLUP Hetero selecionou 71,8%, ou seja, 23 dos 32 dos mesmos genótipos obtidos na seleção via OILCK. Comparando-se as duas metodologias BLUP, verifica-se que 78,1% dos mesmos genótipos foram selecionados por elas, quatro genótipos foram selecionados pela metodologia BLUP Homo e não foram selecionados pelo BLUP Hetero e apenas um foi selecionado pelo BLUP Hetero e não foi selecionado pelo BLUP Homo, como pode ser observado na Tabela 4, em relação ao índice OILCK.

**Tabela 4** - Comparação da seleção para porcentagem de óleo no grão com índice de 10% de intensidade, levando-se em conta a ordenação dos genótipos utilizando-se o índice OILCK, BLUP com variância homogênea e BLUP com variância heterogênea, levando-se em consideração todos os 315 Híbridos AO em um único grupo.

Índice OILCK			BLUP Var Homo			BLUP Var Hetero		
Genótipos	OILCK	Ordem	Genótipos	Estimativas	Ordem	Genótipos	Estimativas	Ordem
74016%	144,9	1	74016%	1,173	1	75359%	1,424	2
75359%	140,4	2	75359%	1,148	2	74016%	1,381	1
74188%	140,2	3	75293%	0,962	9	74191%	1,237	4
74191%	140	4	7119%	0,956	20	74188%	1,19	3
74068%	137,9	5	74188%	0,941	3	7058%	1,153	18
74168%	137,8	6	74191%	0,934	4	7119%	1,142	20
74077%	137,4	7	7058%	0,932	18	74077%	1,117	7
74120%	137,3	8	75362%	0,842	13	75293%	1,077	9
75293%	136,5	9	74168%	0,825	6	75362%	1,076	13
74185%	136,2	10	74068%	0,824	5	74120%	1,043	8
74006%	134,7	11	74077%	0,813	7	74168%	1,039	6
74162%	134,5	12	74120%	0,797	8	74068%	1,034	5
75362%	134,1	13	99076%	0,789	39*	99083%	0,965	43*
74009	133,6	14	99083%	0,75	43*	75206%	0,931	34*
74007	133,4	15	74185%	0,737	10	75270%	0,923	29
74026%	133,4	16	7155%	0,73	28	7270%	0,893	61*
74108%	133,4	17	75215%	0,709	26	74185%	0,892	10
7058%	133,3	18	75270%	0,694	29	75215%	0,85	26
74061%	132,9	19	99096%	0,684	51**	74164%	0,85	23
7119%	132,6	20	75206%	0,665	34*	7155%	0,843	28
74078%	132,4	21	74006%	0,662	11	74078%	0,839	21
74130%	132,1	22	74162%	0,658	12	99050%	0,828	53*
74164%	131,9	23	99050%	0,656	53*	74026%	0,823	16
74183%	131,9	24	75252%	0,65	35**	74059%	0,823	25
74059%	131,6	25	7293%	0,646	57*	7293%	0,818	57*
75215%	131,4	26	99061%	0,645	54*	74162%	0,813	12
74021%	131,3	27	991084%	0,633	55*	99076%	0,779	39*
7155%	131,2	28	7270%	0,624	61*	75315%	0,759	45***
75270%	131,1	29	74026%	0,616	16	74009	0,755	14
74035%	131	30	99046%	0,615	56**	74030%	0,749	31
74030%	130,9	31	74009	0,611	14	99061%	0,748	54*
74204%	130,6	32	991051%	0,602	58**	991084%	0,747	55*

\*Híbridos AO substituídos da seleção pelo OILCK, quando utilizadas as metodologias BLUP Homo e Hetero,

\*\* Híbrido AO somente selecionado pela metodologia BLUP Homo,

\*\*\* Híbrido AO somente selecionado pelo BLUP Hetero.

As correlações para posicionamento e seleção entre as metodologias utilizadas para a seleção dos 10% genótipos superiores para porcentagem de óleo no grão estão sumarizadas na Tabela 5. Observa-se que as correlações entre o índice OILCK e o BLUP Homo foi maior na ordenação dos genótipos e menor na seleção dos genótipos do que quando se utilizou o BLUP Hetero.

Verifica-se, portanto, que a seleção praticada, levando-se em consideração o índice OILCK ficou mais próxima da seleção, quando se utilizou a metodologia BLUP com variância heterogênea, cuja correlação foi de 0,781, (Tabela 5), e, portanto, em função destes resultados pode-se verificar que o índice OILCK é construído dentro de cada ambiente e, portanto, tem como principal característica diminuir a variação ambiental entre locais, assemelhando-se das estimativas do BLUP com variância heterogênea que da mesma forma se utiliza da variância de cada ambiente para a construção das estimativas, diminuindo desta maneira a variação ambiental. A diferença na ordenação e consequente seleção, quando se comparou as metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero se deve ao maior controle do erro e interações genótipo x ambiente obtidos pelo BLUP Hetero.

**Tabela 5** – Correlação entre o índice OILCK, BLUP com variâncias homogêneas e BLUP com variâncias heterogênea com a ordenação e seleção dos genótipos.

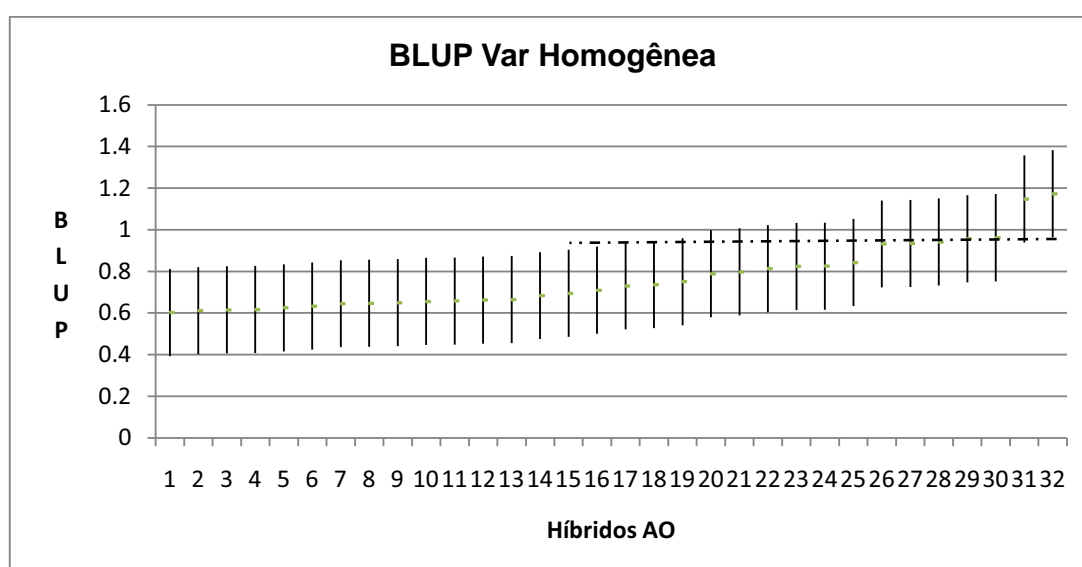
Metodologias	Ordenamento	Seleção
OILCK vs BLUP Homo	0,700	0,625
OILCK vs BLUP Hetero	0,643	0,718
BLUP Homo vs BLUP Hetero	0,520	0,781

A utilização das metodologias BLUP Homo e Hetero tem como grande vantagem sobre o índice OILCK, a possibilidade da estimativa do desvio padrão de cada média, fornecendo uma idéia da diferença mínima significativa entre elas, conferindo um grande poder de discriminação entre os genótipos para efeito de seleção.

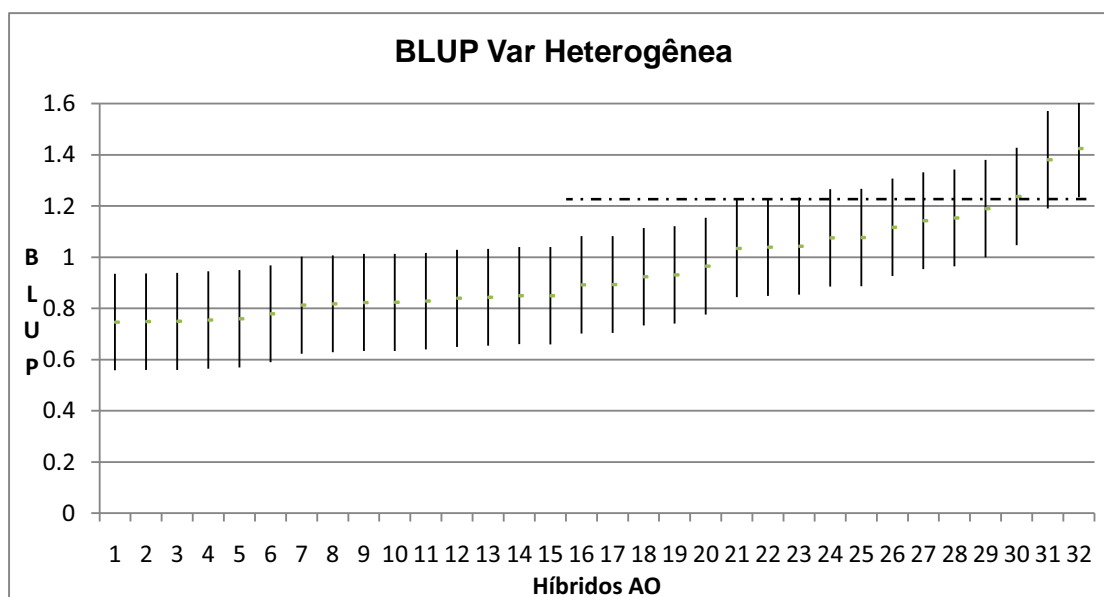
A Figura1 apresenta a média e a amplitude das estimativas obtidas na metodologia BLUP Homo para o teor de óleo nos grãos dos genótipos selecionados e a Figura 2 as estimativas obtidas através da metodologia BLUP Hetero. Observa-se, pela linha

tracejada, que a metodologia BLUP Hetero discriminou com mais exatidão os genótipos com maior teor de óleo nos grãos do que a metodologia BLUP Homo.

As médias dos erros padrão das estimativas obtidas pelas metodologias BLUP Homo e BLUP Hetero estão sumarizadas na Tabela 6, onde pode-se verificar o menor erro padrão obtido na metodologia BLUP Hetero, conferindo à esta metodologia melhor discriminação entre as médias.



**Figura 1** - Médias e erros padrão das estimativas de teor de óleo no grão obtidas pela metodologia BLUP com variância homogênea.



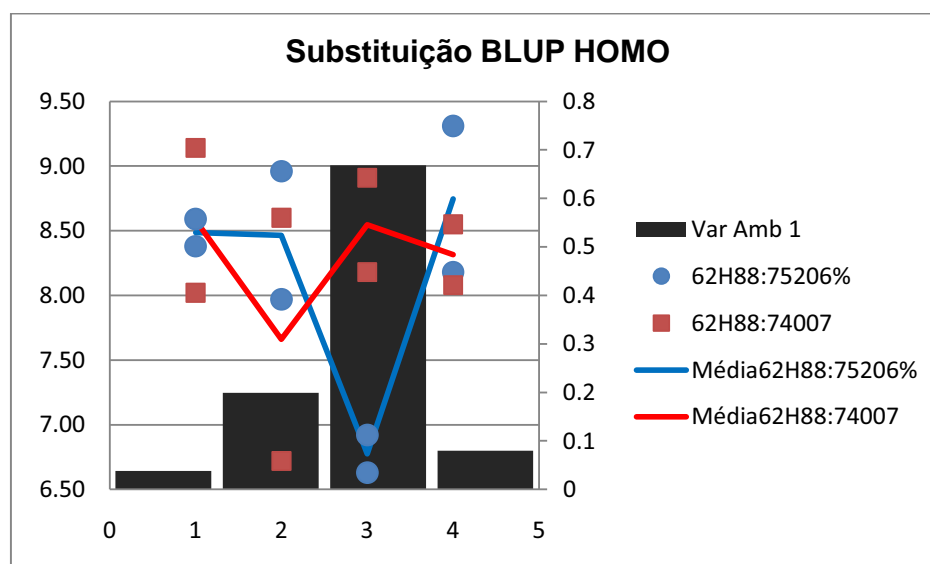
**Figura 2** - Médias e erros padrão das estimativas de teor de óleo no grão obtidas pela metodologia BLUP com variância heterogênea.

**Tabela 6**- Erro Padrão médio das estimativas de BLUP obtidas pelas metodologias OILCK, BLUP Homo e BLUP Hetero.

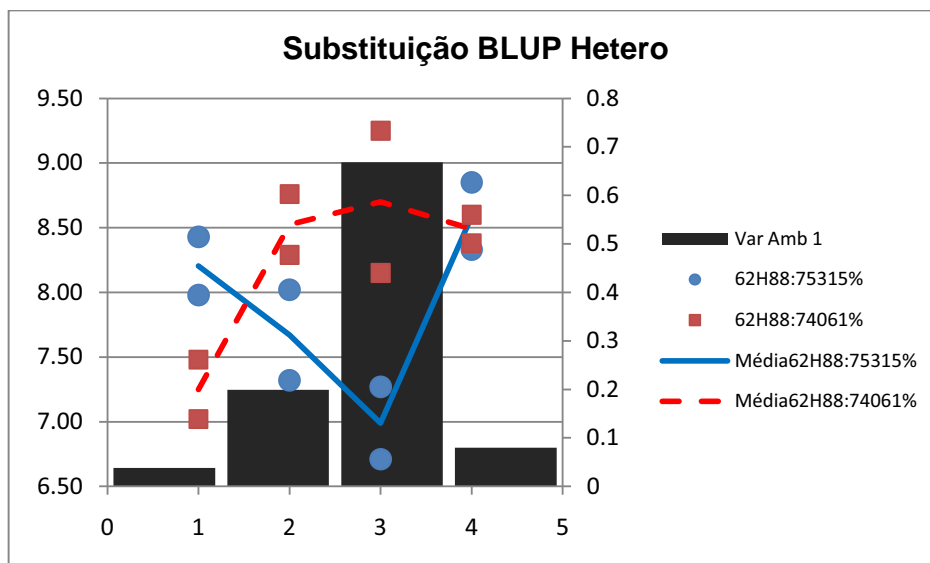
Erro Padrão da Média			
	Índice	BLUP	BLUP
Análise	OILCK	Homo	Hetero
GERAL	-	0,208	0,189

A substituição dos genótipos selecionados pelo índice OILCK por outros selecionados pelas duas metodologias BLUP, pode ser explicada pela variância dos valores obtidos da porcentagem de óleo nos grãos de cada genótipo em cada ambiente e repetição. Percebe-se que os genótipos que tiveram maiores amplitudes entre e dentro de cada ambiente são os que foram substituídos, como exemplifica as Figura 3 no caso do BLUP Homo e Figura 4 no caso do BLUP Hetero. Nestas figuras os

genótipos com pontos quadrados e linhas tracejadas foram selecionados pelo índice OILCK e substituídos na seleção realizada através das metodologias BLUP Homo ou Hetero, genótipo representado pelos pontos circulares e linhas cheias. Verifica-se nas duas figuras que os genótipos selecionados pelo índice OILCK e substituídos pelos BLUP Homo, Figura 3, e BLUP Hetero Figura 4, tiveram uma grande estimativa de óleo nos grãos no ambiente três, onde existiu a maior estimativa da variância do erro ambiental.



**Figura 3** - Comparação entre os Híbridos AO 62H88:74007 selecionado pelo índice OILCK, e 62H88:75206% selecionado pela Metodologia BLUP com Variância Homogênea, pelos valores de óleo por repetição por local, médias destes valores e a variância ambiental dentro de cada local testado.



**Figura 4** - Comparação entre os Híbridos AO 62H88:74061% selecionado pelo índice OILCK, e do 62H88:75315% selecionado pela Metodologia BLUP com Variância Heterogênea, pelos valores de óleo por repetição por local, médias destes valores e a variância ambiental dentro de cada local testado.

Sumarizando-se as observações acima citadas pode-se considerar que a metodologia REML/BLUP com variância heterogênea estimou com maior precisão os parâmetros genéticos. A metodologia REML/BLUP tem a vantagem de conferir às estimativas um maior poder de discriminação do que o Índice OILCK, devido à estimativa do desvio padrão de cada média. A metodologia BLUP Hetero mostrou ter um maior poder de discriminação do que a metodologia BLUP Homo, devido ao menor erro padrão estimado. As três metodologias usadas na seleção dos genótipos diferiram na ordenação e nos genótipos selecionados.

#### 4 - CONCLUSÃO

A metodologia BLUP Hetero mostrou-se mais precisa na estimação dos parâmetros genéticos, ordenação e seleção dos genótipos devido ao maior controle ambiental utilizado quando se pondera as estimativas pelo erro ambiental em cada local.



## 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, D. E. Corn as an oil crop. In: ANNUAL HYBRID CORN INDUSTRY RESEARCH CONFERENCE, 17., 1963, Washington. **Proceedings...** Washington: American Seed Trade Association, 1963.

BERNARDO, R. **Quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma Press, 2002. p. 291.

DUARTE, J. B.; VENCOVSKY, R. Estimaco e predico por modelo linear misto com ênfase na ordenaco de médias de tratamentos genéticos. **Scientia Agricola**. v. 58. n.1. p. 109-117. 2001.

DUDLEY, J. W.; LAMBERT, R. J.; ALEXANDER, D.E. Seventy generations of selection for oil and protein concentration in the maize kernel. In: DUDLEY, J. W. (Ed.). **Seventy generations of selection for oil and protein in *maize***. Madison: CSSA, 1974. p. 181-212.

DUDLEY, J. W. Seventy-six generation of selection for oil and protein percentage in maize. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON QUANTITATIVE GENETICS, 1977, Ames. **Proceedings...** Ames: Iowa State University Press, 1977. p. 459-473.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HENDERSON, C. R. Selection index and expected genetic advance. In: NRC. National Research Council. **Statistical genetics and plant breeding**. Washington: National Academy Science, 1963. p. 141-163. (Publications, 982).

HENDERSON, C. H. Best linear estimation and prediction under a selection model. **Biometrics**, Washington, v. 31, n. 2, p. 423-447, 1975.

LAMBERT, R. J. High-oil corn hybrids. In: HALLAUER, A. R. (Ed.). **Specialty corns**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 123-145.

MADE, J. M.; LAMBERT, R. J. Selection response for increase grain yield in two high oil maize synthetics. **Indonesian Journal Science**, Bogor, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2007.

PATTERSON, H. D.; THOMPSON, R. Recovery of inter-block information when blocks sizes are unequal. **Biometrika**, Washington, v. 58. p. 545-554. 1971.

RESENDE, M. D. V. de. **Análise estatística de modelos mistos via REML/BLUP na experimentação em melhoramento de plantas perenes**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. p. 1-101. (Documentos, 47).

RESENDE, M. D. V. de. Procedimentos ótimos de seleção com dados balanceados e desbalanceados. In:\_\_\_\_\_. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. cap. 7, p. 209-347.

RESENDE, M. D. V.; MENDES, S. Estimção de componentes de variância e predição de valores genéticos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e melhor predição não viciada (BLUP) em *Pinus*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 32/33, p. 23-42, 1996.

SPRAGUE, G. F.; MILLER, P. A.; BRIMHALL, B. Additional studies of relative effectiveness of two systems of selection for oil content of the corn kernel. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, p. 329-331, 1952.

SILVELA, L.; RODGERS, R.; BARRERA, A.; ALEXANDER, D. E. Effect of selection intensity and population size on percent oil in maize. *Zea mays*. L. **Teoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 78, p. 298-304, 1989.

WASSON, J. J.; WONG, J. C.; MARTINEZ, E.; KING, J. J.; DeBAENE, J.; HOTCHKISS, J.; MIKKILINENI, V.; BOHN, M. O.; ROCHEFORT, T. R. QTL associated with maize kernel oil, protein, and starch concentrations; kernel mass; and grain yield in illinois high oil x b73 backcross-derived lines. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 243-253, 2008.

