

CARACTERIZAÇÃO DE LINHAGENS DE MILHO E AVALIAÇÃO DO CONTROLE GENÉTICO PARA TOLERÂNCIA AO HERBICIDA MESOTRIONE

Cláudia Maria Prado dos Santos¹, Adilson Ricken Schuelter^{2*}, Kaian Albino Corazza Kaifer¹,
Jonatas Marcolin¹, Mayara Fabiana da Silva³, Edmar Soares de Vasconcelos⁴,
Claudio Yuji Tsutsumi⁴, Cristina Fernanda Schneider⁵

SAP 17786 Data envio: 25/09/2017 Data do aceite: 04/05/2018
Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 17, n. 2, abr./jun., p. 32-41, 2018

RESUMO - o uso de herbicidas para o controle de plantas daninhas na cultura do milho é amplamente empregado no sistema de cultivo convencional brasileiro. Porém, a cultura pode apresentar sintomas de toxicidade, os quais podem comprometer o desenvolvimento das plantas e reduzir a produtividade. Portanto, este trabalho objetivou avaliar a resposta de 55 linhagens de milho à aplicação de mesotrione e estudar o controle genético ligado à tolerância das linhagens ao herbicida. Os experimentos foram conduzidos na unidade experimental da empresa COODETEC no município de Cascavel, na safra agrícola de 2014/15 e na safrinha 2016. O esquema experimental adotado foi o delineamento em blocos casualizados, com três repetições. Os parâmetros avaliados foram: teor de carotenoides, teor de clorofila e leitura em clorofilômetro. As avaliações foram feitas nos estádios de desenvolvimento do milho V3 e V6. No experimento de caracterização foram avaliados os sintomas apresentados pelas plantas e 14 linhagens apresentaram tolerância ao herbicida. Foi observada a existência de variabilidade genética entre linhagens para os índices de SPAD e para teores de carotenoides nos estádios de V3 e V6. As linhagens CD11 e CD33 são indicadas para realização de estudos sobre controle genético. Os fatores genéticos aditivos são mais importantes do que os desvios de dominância, indicando a possibilidade de obtenção de plantas homozigóticas tolerantes ao herbicida. As estimativas de herdabilidade observadas possibilitam a obtenção de ganhos satisfatórios através da seleção.

Palavras-chave: carotenoides, teor de clorofila, variabilidade genética.

CHARACTERIZATION OF LINES THE CORN AND EVALUATION OF GENETIC CONTROL FOR TOLERANCE TO MESOTRIONE HERBICIDE

ABSTRACT - the use of herbicides to control weeds in maize is widely used in the conventional Brazilian cultivation system. However, the crop may present symptoms of toxicity, which may compromise plant development and reduce yield. Therefore, this work aimed to evaluate the response of 55 maize lines to the application of mesotrione and to study the genetic control linked to the tolerance of the lines to the herbicide. The experiments were conducted at the experimental unit of the company COODETEC in the Cascavel, in the agricultural year of 2014/15 and in the 2016. The experimental adopted was a randomized complete block design with three replications. The evaluated traits were carotenoid content, chlorophyll content and chlorophyll meter reading. The evaluations were made at the stages maize of development of V3 and V6. In the characterization experiment the symptoms presented by the plants were evaluated and 14 lines showed tolerance to the herbicide. Was observed genetic variability between strains for SPAD and carotenoid contents in the V3 and V6 stages. The CD11 and CD33 lines are indicated for studies on genetic control. The additive genetic factors are more important than the deviations of dominance, indicating the possibility of obtaining homozygous plants tolerant to the herbicide. The observed herdability estimates allow the achievement of satisfactory gains through selection.

Keywords: carotenoids, chlorophyll content, genetic variability.

¹Pós-Graduação em Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA), Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Campus Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. E-mail: claudiamelprado@gmail.com

²Professor Dr., Faculdade Educacional de Medianeira (UDC Medianeira), Medianeira, Paraná, Brasil. E-mail: adilson_schuelter@yahoo.com.br.

*Autor para correspondência.

³Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Campus Cascavel, Paraná, Brasil.

⁴Professor Dr., Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA), Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Campus Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. E-mail: claudio.tsutsumi@unioeste.br.

⁵Professora, Dr.^a, Pontifícia Universidade Católica (PUC), Toledo, Paraná, Brasil.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie cultivada com alta capacidade de absorção de água e nutrientes, bem como na utilização da radiação solar. No entanto, a capacidade do genótipo em expressar o máximo potencial produtivo pode ser afetada por adversidades climáticas, bem como por fatores bióticos, como as plantas invasoras (ARGENTA et al., 2003).

A ocorrência de invasoras nas lavouras de milho pode limitar o crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como reduzir significativamente a produtividade. As plantas daninhas apresentam elevado grau de adaptação e se perpetuam com maior facilidade, pois têm alta capacidade de germinação, desenvolvimento e reprodução em condições climáticas adversas, como estresse hídrico ou umidade excessiva, temperaturas extremas, baixa fertilidade, elevada salinidade, acidez ou alcalinidade (EMBRAPA, 2017).

O grau de interferência de plantas daninhas sobre uma determinada cultura depende de diversos fatores, como espécie, densidade, distribuição e, também, do período em que elas competem com a cultura pelos recursos limitados. A competição por recursos do meio, como água, luz e nutrientes, na fase inicial do desenvolvimento da cultura é extremamente prejudicial e pode acarretar perdas na produtividade do milho (RAJCAN; SWANTON, 2001).

O nível tecnológico adotado também influencia sobre a expressão do potencial produtivo das plantas de milho, sendo que o controle de plantas daninhas no cultivo pode ser feito através da rotação de culturas, do controle mecânico ou químico. O controle químico, através do uso de herbicidas, é o mais utilizado em extensas áreas de plantio devido a sua ação rápida e eficaz sobre uma ampla gama de espécies de plantas daninhas (KARAM et al., 2010). No Brasil, existem 215 herbicidas registrados para a cultura do milho no Brasil e a maioria apresenta seletividade às plantas, destacando-se entre aqueles aplicados em pós-emergência os ingredientes ativos atrazine, mesotrione, nicosulfuron e tembotrione (TIMOSSI, 2009).

De maneira geral, os híbridos comerciais de milho são tolerantes aos principais herbicidas registrados para a cultura do milho, incluindo o mesotrione [2-(4-mesy-2-nitrobenzoyl) cyclohexane-1,3-dione] (JOHNSON et al., 2002). No entanto, em trabalhos de melhoramento que visam obter novas linhagens por meio do cruzamento com híbridos comerciais tolerantes, tem sido verificado o aparecimento de sintomas em plantas de populações segregantes, como o branqueamento das folhas, redução do crescimento e até mesmo a interferência no processo reprodutivo, seja pelo

retardamento da floração ou inibição da liberação da flor feminina, denominada de boneca.

O conhecimento do controle genético de determinada característica é essencial para o processo de seleção de genótipos de interesse e para a definição de estratégias de melhoramento, bem como do manejo a ser adotado pelos produtores para o controle das plantas daninhas (ROSO; VIDAL, 2011). Os atributos genéticos de uma espécie normalmente governada por um ou poucos genes quando apresentam classes fenotípicas facilmente distinguidas umas das outras, e quantitativos quando podem ser determinados por vários genes e muito influenciados pelas condições de ambiente. Nesse contexto, o controle genético para tolerância aos diferentes mecanismos de ação dos herbicidas comerciais tem sido caracterizado como sendo conferido por genes com dominância completa ou incompleta (CHRISTOFFOLETI; OVEJERO, 2008).

Nesse contexto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a resposta de linhagens de milho à aplicação de herbicida a base de mesotrione e elucidar o controle genético associado à tolerância visando à seleção de genótipos tolerantes ao agroquímico.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios experimentais foram conduzidos na unidade experimental da Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODETEC), no município de Cascavel (PR), sobre as coordenadas geográficas 53°32' de longitude oeste e 24°53' de latitude sul, com altitude de 678 m. O clima da região segundo a classificação de Köppen é do tipo *Cfa* (subtropical mesotérmico úmido com inverno seco e verões quentes) com temperaturas médias anuais entre 17 e 19°C e precipitação total anual variando de 1200 a 2000 mm (CAVIGLIONE et al., 2000). O solo é classificado como Latossolo Bruno Distrófico, de textura argilosa com boa drenagem (SANTOS et al., 2013).

Na safra de verão 2014/2015, 55 linhagens de milho foram empregadas para determinação dos teores de clorofila e avaliação da resposta à aplicação do herbicida mesotrione. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, com 3 repetições. As parcelas experimentais foram compostas por 2 linhas de 5 m e espaçamento entre linhas de 0,7 m.

A adubação de plantio consistiu na aplicação de 460 kg ha⁻¹ do formulado NPK 10-30-20, tendo sido suplementado em cobertura, 220 kg ha⁻¹ de ureia e 150 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio.

As avaliações dos teores de clorofila foram realizadas nas plantas de milho empregando-se os métodos

¹Pós-Graduação em Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA), Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Campus Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. E-mail: claudiamelprado@gmail.com

²Professor Dr., Faculdade Educacional de Medianeira (UDC Medianeira), Medianeira, Paraná, Brasil. E-mail: adilson_schuelter@yahoo.com.br.

*Autor para correspondência.

³Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Campus Cascavel, Paraná, Brasil.

⁴Professor Dr, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA), Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Campus Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. E-mail: claudio.tsutsumi@unioeste.br.

⁵Professora, Dr^a., Pontifícia Universidade Católica (PUC), Toledo, Paraná, Brasil.

direto e indireto. Os valores foram transformados para teores de clorofilas *a*, *b* e *totais* nas folhas, expressos em unidades de área ($\mu\text{g cm}^{-2}$) e biomassa fresca ($\mu\text{g g}^{-1}$), seguindo as recomendações de Richardson et al. (2002).

O herbicida comercial Callisto[®], princípio ativo mesotrione [2-(4-mesy1-2-nitrobenzoyl) cyclohexane-1,3-dione], foi aplicado com um pulverizador costal na dosagem de 0,4 L ha⁻¹ no estádio de desenvolvimento V3, conforme as recomendações do fabricante.

A avaliação das 55 linhagens em resposta ao herbicida mesotrione foi realizada no 7º dia após a aplicação. A metodologia proposta por Gazziero (1995) foi adaptada para avaliar o efeito da toxicidade, de acordo com os sintomas apresentados pelas plantas.

As populações utilizadas no estudo do controle genético são provenientes de cruzamentos e retrocruzamentos entre linhagens tolerantes e sensíveis. O cruzamento original envolvendo a linhagem CD11 (tolerante) e CD33 (sensível) foi realizado na safrinha de 2015, obtendo-se a população F₁, a qual foi semeada posteriormente. Na F₁ foi realizada a autofecundação, visando obter a população F₂, e os retrocruzamentos com as linhagens CD11 e CD33, para obter o RC₁ e RC₂, respectivamente. As sementes da geração F₂ foram semeadas para produção da população F₃ por autofecundação.

Na safrinha 2016, as linhagens progenitoras e as populações obtidas foram semeadas em esquema experimental de delineamento de blocos casualizados, com 3 repetições. As sementes dos F₁, RC₁ e RC₂ foram dispostas em duas linhas de plantio e os F₃ em apenas uma linha de cinco metros, por repetição.

Para o estudo do controle genético da tolerância ao herbicida mesotrione empregou-se a metodologia descrita por Mather e Jinks (1984), a qual utiliza informações das médias e das variâncias entre as populações genitoras e as populações segregantes e não-segregantes para estimar parâmetros genéticos úteis aos programas de melhoramento genético. Os parâmetros genéticos das gerações P₁, P₂, F₁, F₃, RC₁ e RC₂ foram estimados e interpretados com base nas médias e variâncias obtidas em resposta à aplicação do herbicida mesotrione.

A avaliação das médias das gerações segregantes e não-segregantes permite verificar os efeitos gênicos envolvidos na determinação da tolerância ao herbicida.

Com o intuito de simplificar o modelo, realizou-se uma nova análise testando a adequação do modelo aditivo-dominante com o emprego do coeficiente de determinação (R²), que expressa o grau de similaridade entre os valores estimados e observados. O estudo quantitativo da tolerância ao herbicida mesotrione estimou, com base na variância, os parâmetros genético e ambiental por diferentes expressões conforme as gerações. Todas as análises estatísticas foram realizadas mediante o emprego do software estatístico GENES (CRUZ, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos resultados da análise de variância (Tabela 1), detecta-se diferenças significativas a 1% de probabilidade pelo teste F para SPAD3, SPAD6, CAROT3 e CAROT6, indicando a existência de variabilidade genética entre as linhagens para esses caracteres.

TABELA 1 - Resumo da análise de variância conjunta de 55 linhagens de milho para clorofilômetro em V3 (SPAD3) e V6 (SPAD6), clorofila total em V3 (CT3) e V6 (CT6), e carotenoide em V3 (CAROT3) e V6 (CAROT6), safra 2015/16.

FV	GL	Quadrados médios					
		SPAD3	SPAD6	CT3	CT6	CAROT3	CAROT6
Bloco	2	10,443	2,848	1,572	0,723	0,040	0,003
Tratamento	54	38,81**	31,08**	4,91 ^{ns}	4,19 ^{ns}	0,27**	0,19**
Resíduo	108	3,70	1,40	4,62	3,23	0,16	0,11
<i>h</i> ² (%)		90,46	95,50	5,92	22,92	41,61	42,60
CVg (%)		8,26	6,30	3,32	4,56	24,27	12,35
CVg/CVe		1,78	2,66	0,14	0,31	0,49	0,50
Médias		41,41	49,96	9,38	12,42	0,79	1,34
CV (%)		4,65	2,37	22,91	14,47	49,79	24,82

**significativo a 1%, ^{ns} = não-significativo pelo teste F, FV = fonte de variação, CVg (%) = coeficiente de variação genotípica, CVg/CVe = razão do CVg e CVe e *h*² = herdabilidade.

Em relação aos coeficientes de variação experimentais, constata-se diferenças amplas em termos de magnitude, sendo que para os caracteres SPAD3 e SPAD6, os valores podem ser classificados como baixos, o que indica bons índices de precisão experimental. No entanto, para os demais atributos fenotípicos os valores observados foram altos, indicando alta dispersão dos dados experimentais.

Com a avaliação do caractere SPAD3 pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, foi possível agrupar as linhagens em quatro classes, com índices SPAD médios variando entre 34,8 a 49 (Tabela 2). As linhagens CD03, CD19, CD24, CD28, CD30, CD36, CD46, CD51, CD52 e CD55 foram agrupadas na classe 1 e diferem estatisticamente das demais, sendo superiores para o índice de clorofila. A classe 4, composta pelas linhagens CD14,

CD20, CD31, CD32, CD37, CD40, CD42, CD48 e CD49, apresentou valores médios inferiores para o índice SPAD.

Na avaliação realizada com o clorofilômetro no estádio fenológico V6 (SPAD6) observa-se que houve um rearranjo das linhagens entre as classes e, também, houve o

incremento de uma classe (Tabela 3). A classe 5, nova classe formada, apresentou média de 44,55 e foi composta pelas linhagens CD06, CD17, CD23, CD42 e CD49, que no estádio V3 faziam parte das classes 3 e 4.

TABELA 2 - Comparação entre 55 linhagens elite de milho da COODETEC para o caráter SPAD3.

Classes	Linhagens elite	SPAD3	
		Intervalos	Médias
1	CD03, CD19, CD24, CD28, CD30, CD36, CD46, CD51, CD52 e CD55	49 - 45	47,10 a*
2	CD02, CD04, CD05, CD09, CD18, CD21, CD25, CD29, CD39, CD47 e CD53	44 - 42	43,56 b
3	CD01, CD06, CD07, CD08, CD10, CD11, CD12, CD13, CD15, CD16, CD17, CD22, CD23, CD26, CD27, CD33, CD34, CD35, CD38, CD41, CD43, CD44, CD45, CD50 e CD54	42 - 38	39,79 c
4	CD14, CD20, CD31, CD32, CD37, CD40, CD42, CD48 e CD49	37 - 34	36,95 d
CV (%)			4,65

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

TABELA 3 - Agrupamento das 55 linhagens elite de milho da COODETEC para o caráter SPAD6.

Classes	Linhagens elite	SPAD3	
		Intervalos	Médias
1	CD04, CD11, CD16, CD18, CD19, CD24, CD28, CD36, CD43, CD46, CD47, CD52, CD53, CD54 e CD55	60 - 52	53,62 a*
2	CD03, CD05, CD07, CD08, CD09, CD15, CD21, CD22, CD25, CD27, CD29, CD30, CD31, CD32, CD33, CD38, CD45, CD50 e CD51	51 - 49	50,72 b
3	CD02, CD10, CD12, CD13, CD20, CD26, CD34 e CD41	48 - 47	48,41 c
4	CD01, CD14, CD35, CD37, CD39, CD40, CD44 e CD48	46 - 45	46,25 d
5	CD06, CD17, CD23, CD42 e CD49	44 - 44	44,56 e
CV (%)			2,37

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

As linhagens CD19, CD24, CD28, CD36, CD46, CD52 e CD55 já demonstravam bom desempenho e mantiveram o mesmo comportamento no estádio V6, permanecendo agrupadas na classe 1 (Tabela 3). Enquanto que as linhagens CD03, CD30 e CD51 passaram da classe 1 para a classe 2, decrescendo os valores médios observados para essa característica.

A classe 3 passou de 25 linhagens no estádio V3 para 7 linhagens no V6 (CD02, CD10, CD12, CD13, CD20, CD26, CD34 e CD48), sendo que as demais linhagens foram redistribuídas nas demais classes.

O rearranjo das linhagens entre as classes pode estar relacionado à constituição genética dos materiais, capazes de apresentar particularidades na adaptação a condições edafoclimáticas com o avanço no desenvolvimento das plantas e, consequentemente, na produção de metabólitos e formação dos cloroplastos (ARAÚJO; NASS, 2002). A resposta ao aporte de nitrogênio disponibilizado devido a menor eficiência no aproveitamento nutricional, a qual

influencia diretamente sobre a síntese de clorofila (LESCHWITZ et al., 2012), pode ter influenciado essa reorganização das linhagens.

Os resultados obtidos para teor de clorofila total pelo método destrutivo (CT3 e CT6) demonstram que não houve efeito significativo entre as linhagens nos estádios de desenvolvimento V3 e V6. As 55 linhagens de milho foram agrupadas em uma única classe, pois obtiveram o mesmo desempenho em ambas as avaliações, e as médias observadas foram de 9,14 e 12,42 em V3 e V6 com coeficientes de variação de 22,91 e 14,47%, respectivamente.

Observa-se na Tabela 4 que as linhagens agrupadas em duas classes para o caráter CAROT3, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Na Classe 1 estão as 18 linhagens (CD03, CD06, CD08, CD18, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD32, CD34, CD36, CD37, CD42, CD43, CD45, CD46 e CD49) com média de 1,14. Contudo, a maioria, 37 linhagens, foram agrupadas na classe 2 com média de 0,618.

A característica carotenoide no estágio de desenvolvimento V6 apresentou uma única classe na qual todas as linhagens foram agrupadas no intervalo de 1,3 - 1,2, com média de 1,34.

Pela análise dos coeficientes de variância para os diferentes caracteres avaliados, constata-se que, tanto os teores de clorofila quanto de carotenoides, são altamente influenciados pelo ambiente, o que pode comprometer o diagnóstico de plantas sensíveis ao herbicida. Nesse contexto, o emprego de uma característica correlacionada

pode ser uma alternativa eficiente na identificação de plantas de interesse.

O coeficiente de correlação de Pearson varia de -1 a 1. O sinal indica uma relação positiva ou negativa entre as variáveis, e o valor sugere a força da relação entre elas. Uma correlação perfeita (-1 ou 1) permite que o escore de uma variável seja determinado pelo escore da outra. Enquanto que uma correlação de valor zero demonstra que não há relação linear entre as variáveis (FIGUEIREDO FILHO; SILVA JUNIOR, 2010).

TABELA 4 - Comparação entre 55 linhagens elite de milho da COODETEC para o caráter CAROT3.

Classes	Linhagens elite	CAROT3	
		Intervalos	Médias
1	CD03, CD06, CD08, CD18, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD32, CD34, CD36, CD37, CD42, CD43, CD45, CD46 e CD49	1,6 - 0,9	1,07 a*
2	CD01, CD02, CD04, CD05, CD07, CD09, CD10, CD11, CD12, CD13, CD14, CD15, CD16, CD17, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD29, CD30, CD31, CD33, CD35, CD38, CD39, CD40, CD41, CD44, CD47, CD48, CD50, CD51, CD52, CD53, CD54 e CD55	0,9 - 0,3	0,40 b
CV (%)		49,79	

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

Na Tabela 5, verifica-se que a variáveis SPAD3 e SPAD6 apresentaram coeficiente de correlação 0,62, sendo considerado intermediário. Para os teores de clorofila total em V3 e V6 (CT3 e CT6) foram baixas (0,30), podendo indicar que as avaliações pelo método direto em ambos os estádios de desenvolvimento apresentam baixa dependência entre si.

Os coeficientes de correlação para as variáveis SPAD3 e SPAD6 com CAROT3 e CAROT6 não foram significativas, para as avaliações realizadas em V3 e V6, indicando independência entre os dois métodos de avaliação e os estádios de desenvolvimento das plantas de milho.

As correlações do teor de clorofila total (método destrutivo) com o clorofilômetro SPAD-502 foram sempre positivas e moderadamente associadas nos estádios de desenvolvimento do milho V3 (0,65) e V6 (0,59) (Tabela 5). Tais resultados são concordantes com os obtidos por Argenta et al. (2003), que ao avaliarem a relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível concluíram que nos três estádios avaliados (V6, V10 e R1) as leituras do clorofilômetro correlacionaram-se positivamente e moderadamente com os teores de clorofila total, com valores de 0,58, 0,76 e 0,61, respectivamente.

TABELA 5 - Coeficientes de correlação simples de Pearson para as características avaliadas.

Características	SPAD3	SPAD6	CT3	CT6	CAROT3	CAROT6
SPAD3	1	0,62*	0,65*	0,27*	- 0,21 ^{ns}	- 0,25*
SPAD6		1	0,51*	0,59*	- 0,24 ^{ns}	- 0,24 ^{ns}
CT3			1	0,30*	0,73*	- 0,18 ^{ns}
CT6				1	0,72*	- 0,28*
CAROT3					1	- 0,24 ^{ns}
CAROT6						1

*significativo a 5% de probabilidade de erro, ^{ns} = não-significativo, pelo teste t.

Na literatura também são observadas correlações positivas entre a leitura do clorofilômetro e teor de clorofila extraível de folhas para outras culturas, como tomateiro, cafeeiro e espécies frutíferas (FERREIRA et al., 2006; REIS et al., 2006; JESUS; MARENCO, 2008). Segundo Argenta et al. (2003), se as correlações observadas entre a leitura com o clorofilômetro e o teor de clorofila total obtido pelo método destrutivo forem significativas e moderadamente

positivas, o medidor portátil pode ser utilizado para estimar de forma adequada o teor relativo de clorofila na folha.

A avaliação das 55 linhagens em resposta ao herbicida mesotrione foi realizada no 7º dia após a aplicação (DAA), no estágio fenológico V3, adotando a adaptação da metodologia proposta por Gazziero (1995) para avaliar o grau de toxicidade observado. As linhagens foram

classificadas em ordem decrescente conforme o grau de tolerância apresentado.

Receberam o conceito A as 14 linhagens (CD03, CD06, CD07, CD11, CD13, CD14, CD19, CD24, CD25, CD28, CD37, CD43, CD44 e CD52) que não apresentaram injúrias ou sinais de toxicidade, indício de que essas linhagens são tolerantes ao herbicida mesotrione. As 22 linhagens (CD04, CD05, CD08, CD09, CD10, CD15, CD16, CD18, CD20, CD27, CD29, CD38, CD39, CD42, CD45, CD46, CD47, CD48, CD50, CD51, CD54 e CD55) listadas na classe B, cerca de 40%, apresentaram injúrias leves, cujos efeitos são insuficientes para ocasionar quedas no rendimento. Pouco menos de 30% das linhagens receberam o conceito C (CD01, CD12, CD17, CD21, CD22, CD23, CD30, CD31, CD32, CD34, CD35, CD36, CD40, CD41, CD49 e CD53), pois apresentaram injúrias moderadas com efeitos capazes de reduzir a produtividade do milho. Foram

observadas injúrias severas em 3 linhagens (CD02, CD26 e CD33), as quais foi atribuído o conceito D, pois os danos apresentados pelas plantas em resposta à aplicação são suficientes para diminuir significativamente os níveis de produtividade, indicando que essas linhagens são mais suscetíveis ao mesotrione.

As plantas das gerações P_1 e P_2 , F_1 , F_3 e os retrocruzamentos foram avaliadas visualmente (sintomas foliares) e o teor de clorofila determinado pelo método indireto (clorofilômetro SPAD-502), para estudo do controle genético sobre a tolerância ao mesotrione.

As médias e variâncias obtidas através da escala de Gazziero (1995) e do clorofilômetro SPAD-502 são apresentadas nas Tabelas 6 e 7. Não foram encontrados efeitos significativos entre as gerações avaliadas pelo teste t, a 5% de probabilidade de erro.

TABELA 6 - 1Emprego da adaptação da escala de Gazziero (1995) para número de plantas, média e variância da sensibilidade ao mesotrione.

Linhagens	Geração	Nº de plantas	Médias	Variâncias (σ^2)
CD11	P_1	12	1,42	0,265
CD33	P_2	12	2,83	0,333
CD11 x CD33	F_1	12	2,08	0,265
CD11 x CD33	F_3	347	2,16	0,393
CD33 x F_1	RC_1	108	1,84	0,358
CD11 x F_1	RC_2	132	2,02	0,342

TABELA 7 - Determinação indireta dos teores de clorofila pelo SPAD-502 para número de plantas, média e variância da sensibilidade ao mesotrione.

Linhagens	Geração	Nº de plantas	Médias	Variâncias (σ^2)
CD11	P_1	12	1.046,24	200,695
CD33	P_2	10	1.041,69	385,187
CD11 x CD33	F_1	12	1.065,98	1.139,794
CD11 x CD33	F_3	116	1.028,73	3.445,419
CD33 x F_1	RC_1	48	1.099,87	1.047,038
CD11 x F_1	RC_2	48	1.052,28	1.609,809

Pela estimação do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo (Tabela 8), constata-se que 79,21% e 28,35% da variação total da população F_3 são atribuídas às causas genéticas com a avaliação pelo índice SPAD e visual, respectivamente. Para os coeficientes de herdabilidade no sentido restrito, a magnitude foi de 75,56% para variação anotada pelo SPAD-502 e 24,77% para avaliação visual. Esses resultados indicam que as anotações realizadas com SPAD são menos influenciadas pelo ambiente e que os efeitos gênicos aditivos, detectados pela análise das variâncias, são mais importantes que os desvios de dominância.

A heterose, que pode ser definida como a superioridade dos filhos em relação à média dos pais, foi também estimada por essa metodologia. Pela análise do SPAD a heterose observada foi positiva (22,01) enquanto que a avaliação visual apresentou valor negativo (-0,42). Esse resultado negativo pode estar relacionado ao erro

experimental e aos fatores ambientais, os quais podem influenciar a expressão das características estudadas, dificultando a análise e interpretação dos fatores genéticos que controlam tais caracteres. Entretanto, ao superestimar a variância ambiental, obtida a partir da média ponderada das variâncias das gerações segregantes, a heterose também pode apresentar valores negativos (FARIA, 2012).

A heterobeltiose na geração F_3 apresentou valores positivos para ambos os caracteres, com exceção do P_2 para a análise visual.

A variância genotípica foi composta na maior parte pelo componente genético aditivo, enquanto que os desvios de dominância apresentaram uma menor significância, permitindo a transferência do caráter para as gerações seguintes devido à variância aditiva (Tabela 8). Os valores observados para herdabilidade permitem inferir a ocorrência de variabilidade genética, permitindo a obtenção de ganhos genéticos mediante a seleção fenotípica de linhagens

homozigóticas tolerantes ao herbicida mesotrione em gerações segregantes.

Os graus médios de dominância obtidos foram de 0,44 para SPAD e 0,76 para VISUAL, evidenciando a importância dos efeitos poligênicos na expressão da tolerância das linhagens de milho ao mesotrione. A estimativa do número de genes envolvidos foi de 5,86 e 17,29 para SPAD e VISUAL, respectivamente, indicando que o controle dessas características é poligênico.

Pela decomposição não-ortogonal da soma de quadrados de parâmetros (Tabela 9), verificou-se que os parâmetros média e efeito gênico aditivo explicam 94,83% e 98,90% sobre a variabilidade disponível para os caracteres Visual e SPAD-502, respectivamente. Portanto, tais resultados permitem inferir que é possível obter genótipos homozigóticos superiores na geração F_3 por meio da seleção e de ganhos satisfatórios nos ciclos de seleção, pois o efeito aditivo possui elevada magnitude. Logo, os resultados sugerem que o modelo aditivo-dominante pode ser usado para melhor explicar as variações do caráter em razão da baixa contribuição das interações epistáticas.

Os efeitos genéticos mais importantes na determinação do caráter foram m e a , enquanto que o efeito d apresentou menor grau de importância, indicando que há a possibilidade de obter materiais homozigóticos superiores a partir da seleção nas populações derivadas F_3 , assim como os ganhos nos ciclos de seleção serão satisfatórios, uma vez que o componente de natureza aditiva é um dos mais importantes.

TABELA 8 - 2Estimativas das avaliações com SPAD-502 e análise visual para a tolerância ao mesotriene para a geração F₃.

Parâmetros genéticos	SPAD	VISUAL
Variância Fenotípica	3445,42	0,39
Variância Ambiental	716,37	0,28
Variância Genotípica	2.729,05	0,11
Variância Aditiva	2.603,25	0,98
Variância Dominância	125,80	0,14
Herdabilidade Ampla (%)	79,21	28,35
Herdabilidade Restrita (%)	75,56	24,77
Heterose	22,01	-0,42
Heterobeltiose P ₁	19,73	0,67
Heterobeltiose P ₂	24,29	-0,75
Grau Médio da Dominância (baseado em variâncias)	0,44	0,76
Grau Médio da Dominância (baseado em médias)	9,67	0,59
Número de Genes (baseado em variâncias)	5,86	17,29

TABELA 9 - Estimativas de efeitos gênicos, obtidos pela análise das médias de seis gerações de plantas de milho avaliados pelo índice SPAD e Visual.

Parâmetros*	SPAD-502			VISUAL		
	Estimativas	Variâncias	t	Estimativas	Variâncias	t
<i>m</i>	978,95	123,379	88,133	2,43	0,007	28,075
<i>a</i>	2,27	13,810	0,612	-0,70	0,012	-6,343
<i>d</i>	236,44	618,178	9,509	-1,34	0,095	-4,334
<i>aa</i>	65,01	129,301	5,717	-0,31	0,012	-2,706
<i>ad</i>	90,64	276,647	5,449	1,06	0,073	3,895
<i>dd</i>	-149,42	981,083	-4,770	0,99	0,176	2,360

**m* = médias das linhagens homozigóticas derivadas de F₃, *a* = medida do efeito gênico aditivo, *d* = medida dos desvios da dominância, *aa* = medida das interações aditivo x dominante x dominante.

Analisando os dados originais pelo modelo reduzido (Tabela 10), *m* foi o parâmetro que apresentou maior estimativa, sendo os parâmetros *a* e *d* obtiveram valores negativos no modelo completo (Tabela 11). Essas estimativas negativas podem ser advindas da superestimação

da variância ambiental, a qual foi estimada a partir da média ponderada na variância de gerações segregantes, podendo subestimar a variância genotípica dos caracteres quantitativos (SCHUELTER, 1999).

TABELA 10 - Decomposição não-ortogonal da soma de quadrados de parâmetros pelo método de eliminação de Gauss para tolerância ao mesotriene.

Fontes de variação	SPAD-502		VISUAL	
	SQ	R ² (%)	SQ	R ² (%)
<i>m/ a, d, aa, ad, dd</i>	7685,369	98,32	680,265	89,54
<i>a/ m, d, aa, ad, dd</i>	0,375	0,58	40,240	5,30
<i>d/ m, a, aa, ad, dd</i>	45,562	0,01	11,186	1,47
<i>aa/ m, a, d, ad, dd</i>	32,687	0,42	7,323	0,96
<i>ad/ m, a, d, aa, dd</i>	29,699	0,38	15,176	1,99
<i>dd/ m, a, d, aa, dd</i>	22,758	0,29	5,570	0,73
Total	7816,452	100,00	759,762	100,00

TABELA 11 - Teste de nulidade de modelos não parametrizados com SPAD-502 e análise visual em seis gerações de milho para a tolerância ao mesotrione.

Parâmetros	SPAD-502			Visual		
	Estimativa	Variância	t	Estimativa	Variância	t
<i>m</i>	1038,579	10,879	314,874	2,211	0,003	40,194
<i>a</i>	12,938	10,803	3,936	-0,342	0,003	-5,420
<i>d</i>	55,877	65,455	6,906	-0,427	0,018	-3,108

A sensibilidade das plantas ao herbicida pode estar relacionada ao local de aplicação do produto e as particularidades do material genético. A partir dos resultados obtidos é possível inferir que o genótipo influenciou diretamente sobre os sintomas visuais observados e na alteração do teor de clorofila com a aplicação do mesotrione e, também, que o ambiente interfere nos resultados, sendo que as condições ambientais podem contribuir significativamente para o aparecimento de sintomas foliares.

CONCLUSÕES

Existe variabilidade genética entre linhagens para os índices de SPAD e de teores de carotenoides para avaliações realizadas nos estádios de V3 e V6. O controle genético para tolerância ao mesotrione é poligênico, sendo que os efeitos gênicos aditivos são mais importantes do que os desvios de dominância, indicando a possibilidade de obtenção de plantas homozigóticas tolerantes ao herbicida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, P.M.; NASS, L.L. Caracterização e avaliação de populações de milho crioulo. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v.59, n.3, p.589-593, 2002.

ARGENTA, G.; SANGOLI, L.; SILVA, P.R.F. Potencial de rendimento de grãos de milho em dois ambientes e cinco sistemas de produção. *Scientia Agraria*, Curitiba v.4, n.1-2, p.27-34, 2003.

CAVIGLIONE, J.H.; KIIHL, L.R.B.; CARAMORO, P.H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000. 1 CD-ROM.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Ed.) **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**, v.3, Piracicaba: Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas - HRAC-BR, p.9-34, 2008.

CRUZ, C.D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Maringá, v.35, n.3, p.271-276, 2013.

EMBRAPA/MS. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA/MILHO E SORGO. **Sistema de Produção**. Versão eletrônica. 2.ed. Disponível em:

<http://www.sistemaproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHT/ML/Milho/CultivodoMilho_2ed/plantasdaninhas.htm>.

Acesso em: 10 jun. 2018.

FARIA, G.M.P. **Controle genético do teor de óleo em sementes de algodão (*Gossypium spp.*)**. Viçosa, 2012. 87p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

FERREIRA, M.M.M.; FERREIRA, G.B.; FONTES, P.C.R.; DANTAS, J.P. Índice SPAD e teor de clorofila no limbo foliar do tomateiro em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica, em duas épocas de cultivo. *Revista Ceres*, Viçosa, v.305, n.305, p.83-92, 2006.

FIGUEIREDO FILHO, D.B.; SILVA JUNIOR, J.A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (*r*). *Revista Política Hoje*, Recife, v.18, n.1, p.115-146, 2010.

GAZZIERO, D.L.P. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: Sociedade Brasileira da Ciência de Plantas Daninhas, 1995. 42p.

JESUS, S.V.; MARENCO, R.A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. *Acta Amazônica*, Manaus, v.38, n.4, p.815-818, 2008.

JOHNSON, W.G.; WAIT, J.D.; HOLMAN, C.S. Mesotrione programs. *Research Report*, Westminster, v.55, p.225-226, 2002.

LESCHEWITZ, R.; SOUZA, V.Q.; CARON, B.O.; BORELLA, J.; CARVALHO, I.R.; BUSANELLO, C.; NARDINO, M.; FERRARI, M.; BELLÉ, R. Determinação do índice de clorofila em populações de milho crioulo em diferentes partes da folha. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012. *Anais...Águas de Lindóia*, 2012.

MATHER, K.; JINKS, J.L. **Introdução à genética biométrica**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1984, 242p.

RAJCAN, I.; SWANTON, C.J. Understanding maize-weed competition: resource competition, light quality and the whole plant. *Field Crops Research*, Amsterdam, v.71, n.2, p.139-150, 2001.

REIS, A.R.; JUNIOR, E.F.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M. Diagnóstico da exigência do cafeeiro em nitrogênio pela utilização do medidor portátil de clorofila. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.1, p.163-171, 2006.

RICHARDSON, A.D.; DUGAN, S.P.; BERLYN, G.P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist**, Lancaster, v.153, n.1, p.185-194, 2002.

ROSO, A.C.; VIDAL, R.A. Culturas resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.21, n.1, p.13-24, 2011.

SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIRA, J.A.; CUNHA, T.J.F; OLIVEIRA, J.B. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA, 342p. 2013.

SCHUELTER, A.R. **Análise genética e da pós-colheita de um mutante de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**. 1999. 135p.. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

TIMOSSI, P.C. Manejo de rebrotes de *Digitaria insularis* no plantio direto de milho. **Planta Daninha**, Viçosa, v.27, n.1, p.175-179, 2009.