

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
CURSO DE AGRONOMIA  
AGR99006 - DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**Paulo Roberto Dall Cortivo  
173267**

*Melhoramento de plantas aplicado: Atividades no programa de melhoramento de milho da  
Dupont Pioneer, estação de pesquisa de Coxilha/RS*

PORTO ALEGRE, 10 de setembro de 2014.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE AGRONOMIA**

*Melhoramento de plantas aplicado: Atividades no programa de melhoramento de milho da  
Dupont Pioneer, estação de pesquisa de Coxilha/RS*

**Paulo Roberto Dall Cortivo**  
**173267**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como  
requisito para obtenção do Grau de Engenheiro  
Agrônomo, Faculdade de Agronomia, Universidade  
Federal do Rio Grande do Sul.

Supervisor de campo do Estágio: Eng. Agr., M.Sc. Martin Fogaça Severo

Orientador Acadêmico do Estágio: Eng. Agr., Ph.D. Carla Andrea Delatorre

**COMISSÃO DE AVALIAÇÃO**

Mari Lourdes Bernardi - Departamento de Zootecnia - Coordenadora

Beatriz Maria Fedrizzi - Departamento de Horticultura e Silvicultura

Elemar Antonino Cassol - Departamento de Solos

Josué Sant'ana - Departamento de Fitossanidade

Lúcia Brandão Franke - Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia

Renata Pereira da Cruz - Departamento de Plantas de Lavouras

PORTO ALEGRE, 10 de setembro de 2014.

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
1. Mapa mostrando a média da quantidade de grãos de milho produzida no estado do Rio grande do Sul entre os anos de 2009 e 2011.....	<b>09</b>
2. Acúmulo de alelos dominantes em híbridos.....	<b>13</b>
3. Método Genealógico com adaptações.....	<b>14</b>
4. Pacotes indicando o número de unidades de calor necessárias para o florescimento da planta de milho.....	<b>19</b>
5. Determinação da altura de inserção da primeira espiga.....	<b>21</b>
6. Processo de colheita e limpeza dos grãos.....	<b>21</b>
7. Processo de inoculação do patógeno( <i>Colletotrichum graminicola</i> ) na planta de milho.....	<b>23</b>
8. Colmos da planta de milho abertos para avaliar a resistência da planta ao ataque de patógeno.....	<b>24</b>

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>8</b>
<b>2. Caracterização do meio físico e socioeconômico da região de Coxilha/RS.....</b>	<b>9</b>
<b>3. Caracterização da Empresa Dupont Pioneer .....</b>	<b>11</b>
<b>4. Referencial Teórico.....</b>	<b>12</b>
<b>4.1 Produção de milho híbrido.....</b>	<b>13</b>
<b>5. Atividades Realizadas.....</b>	<b>18</b>
<b>5.1 Atividades no programa de melhoramento de milho.....</b>	<b>18</b>
<b>5.2 Auxílio nos ensaios de resistência dos híbridos pré-comerciais a doenças do colmo.....</b>	<b>22</b>
<b>6. Discussão.....</b>	<b>25</b>
<b>7. Considerações finais.....</b>	<b>28</b>
<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>29</b>

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à vida, cheia de encontros e (des)encontros, de desafios, de luta, de amor, de coragens, de fé, tudo necessário para que possamos sempre nos (re)visitarmos.

Agradeço a minha família, Vicente (pai), Santina (mãe), Joana (irmã) pelo seu apoio incondicional em todos os momentos. Ao meu pai e a meus tios por terem me incentivado a seguir a carreira de engenheiro agrônomo.

Agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e à Faculdade de Agronomia pela oportunidade de aprendizado.

Agradeço à professora Concepta McManus e ao professor José Braccini Neto por me proporcionarem um novo olhar para o complexo mundo do conhecimento.

Agradeço, em especial, à professora Carla Andrea Delatorre, como orientadora constantemente presente ao longo desta trajetória, sempre com insigne conhecimento do que significa educar.

Agradeço à DuPont Pioneer do Brasil pela oportunidade de estágio.

## **RESUMO**

O presente trabalho tem como objetivo relatar o estágio curricular obrigatório realizado na empresa Dupont Pioneer sementes, localizada no município de Coxilha/RS, no período de 06 de janeiro a 28 de fevereiro de 2014. As atividades realizadas durante o estágio estiveram relacionadas ao acompanhamento dos avanços de geração realizados no programa de melhoramento de milho híbrido adaptado ao sul do Brasil, desenvolvido pela empresa. Além de poder aperfeiçoar os conhecimentos na área de melhoramento de plantas, foi possível vivenciar na prática as teorias aprendidas ao longo do curso de Agronomia, sobre manejo da cultura de milho.

## 1. INTRODUÇÃO

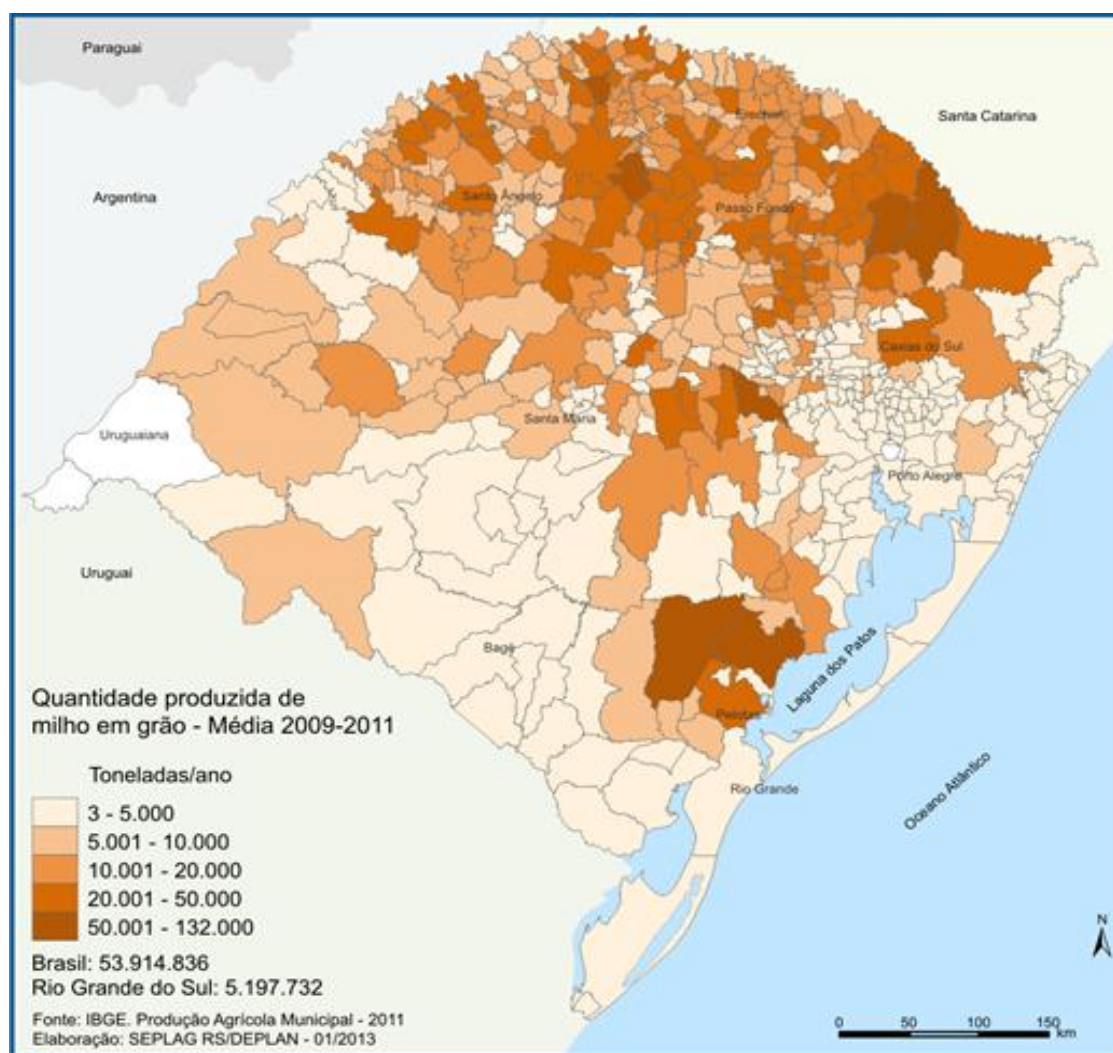
O milho, ao longo da história, é um cereal de destaque na alimentação humana e principalmente na alimentação animal, devido ao seu alto poder energético. Atualmente, mais de 30% dos grãos produzidos no mundo são desta espécie. Provavelmente não exista nenhuma outra espécie de importância econômica que tenha sido alvo de tão intensas pesquisas científicas (BOREM, 2005). A importância do milho na alimentação humana e animal é tão grande que sua produção é fundamental para a existência da humanidade (BOREM, 2005), além de existirem novas tendências mundiais de uso do milho, como para a produção de biocombustível. A curiosidade de como é possível tornar esta planta cada vez mais produtiva foi o principal motivo da escolha do tema do estágio.

Este relatório tem como objetivo descrever as atividades realizadas durante o estágio curricular obrigatório, que foi realizado na Estação de Pesquisa da empresa DuPont Pioneer sementes, localizada no município de Coxilha no estado do Rio Grande do Sul, mais conhecida como Estação de Pesquisa de Passo Fundo / RS. O período de estágio foi de 6 de janeiro de 2014 a 28 de fevereiro de 2014, totalizando 320 horas. Esta estação conta com 14 funcionários, entre eles dois melhoristas, e os trabalhos são realizados sobre uma área de 19 hectares, sendo a atividade principal o desenvolvimento de híbridos de milho adaptados ao sul do país. As principais atividades do estágio foram auxiliar o desenvolvimento de linhagens para uso no programa de melhoramento de milho superprecoce e hiperprecoce adaptadas à região sul do país e os ensaios de avaliação da resistência de alguns híbridos a doenças.

## 2. CARACTERIZAÇÃO DO MEIO FÍSICO E SOCIOECONÔMICO DA REGIÃO DE COXILHA, RS

O continente Americano é responsável por 52% da produção mundial de milho, com o Brasil como o terceiro maior produtor mundial perdendo para os Estados Unidos e China (USDA, 2014). O Rio Grande do Sul é o quarto estado da federação maior produtor de milho, ficando atrás do Paraná, Mato Grosso e Minas Gerais. O planalto médio é a região do estado do Rio Grande do Sul maior produtora de milho (IBGE, 2012), como pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 – Mapa mostrando a média da quantidade de grãos milho produzida no estado do Rio Grande do Sul entre os anos de 2009 e 2011. (Fonte: IBGE, 2012)





O município de Coxilha, localizado no planalto médio do Rio Grande do Sul, faz divisa com o município de Passo Fundo, considerado “capital agrícola” do estado. Devido ao elevado movimento financeiro do município proveniente da agricultura, várias empresas do ramo agropecuário possuem sedes de suas empresas ou estações de pesquisa localizadas na região, como a Pioneer e a Monsanto, além da Universidade de Passo Fundo que desenvolve inúmeras pesquisas e trabalhos de extensão na área agrícola.

O clima do município é classificado como subtropical úmido (Cfa) pela classificação de Köppen (1948). A temperatura média anual é de 17,5 °C. A precipitação média anual é de 1.787 mm. Os verões caracterizam-se por não serem tão quentes e, também, por na maioria dos anos não apresentarem temperaturas abaixo de 22 °C, o que possibilita o bom desenvolvimento fisiológico das culturas de verão, pois não as expõem a estresses por extremos climáticos. A altitude do município é de em torno de 700 metros acima do nível do mar, grande parte das características climáticas é proveniente desta particularidade. A vegetação característica da região é a de Mata Atlântica (CEMETRS, 2005).

Os solos da região são identificados como Latossolo Vermelho distrófico húmico (LVd3), Latossolo Vermelho aluminoférrico húmico (LVaf), e Nitossolo Vermelho distroférico típico (NVdf1), representados pelos perfis de referência Passo Fundo, Erechim e Estação, respectivamente (STRECK *et al.*, 2008). No geral, estes solos são bem drenados, profundos e muito intemperados. As propriedades químicas destes solos não são favoráveis ao desenvolvimento de culturas, porém como possuem boas propriedades físicas, o uso de fertilizantes e corretivos permite que estes se tornem os mais férteis do estado. Também o relevo plano da região permite que as práticas agrícolas sejam feitas com alto grau de mecanização.

### **3. CARACTERIZAÇÃO DA EMPRESA DUPONT PIONEER**

A Pioneer Hi- Bred, fundada em 1926, é atualmente a maior empresa de sementes do mundo, presente em 90 países. Presente no Brasil há mais de 40 anos, atualmente, a empresa pertence ao grupo DuPont. A sede da empresa no Brasil está localizada no município de Santa Cruz do Sul, no estado do Rio Grande do Sul, sendo o principal ramo da empresa a comercialização de sementes de milho híbrido e de sementes de diversas variedades de soja.

A empresa possui no Brasil sete unidades de beneficiamento localizadas nos municípios de Santa Cruz do Sul /RS, Santa Rosa/RS, Itumbiara/GO, Formosa/GO, Catalão/GO e Brasília/DF e seis estações de pesquisa localizadas em Passo fundo/RS, Toledo/PR, Sorriso/MT, Itumbiara /GO, Brasília/DF e Palmas/TO.

A estação de pesquisa localizada no município de Coxilha/RS, mais conhecida como estação de Passo Fundo/RS, foi o local de realização do estágio. Esta estação foi inaugurada no ano de 2002, e tem como principal objetivo o desenvolvimento de híbridos precoces adaptados ao sul do país com alta produtividade e resistência a doenças. Atualmente, a estação de pesquisa conta com dois programas de melhoramento, um para o desenvolvimento de híbridos superprecoces e outro para o desenvolvimento de híbridos hiperprecoces. Iniciado em 2012, este programa busca o desenvolvimento de híbridos que possam ser plantados nas regiões norte e noroeste do Rio Grande do Sul logo após o inverno, permitindo duas safras até o final do verão.

As demais estações de pesquisa, em geral, buscam o desenvolvimento de híbridos adaptados às diferentes regiões do país. A estação de Palmas/TO é considerada o centro de tecnologia da empresa, realizando pesquisas que buscam o desenvolvimento de tecnologias de duplo haplóides e de eventos transgênicos para uso nas pesquisas no país. A estação também está envolvida no desenvolvimento de híbridos e avanço de geração durante a entressafra das outras estações.

#### 4. REFERENCIAL TEÓRICO

O berço de origem do milho é o continente americano, sendo cultivado pelos índios americanos desde o Canadá até a Argentina. (PATERNIANI, 1990) No continente americano, além do milho, existem seus parentes selvagens mais próximos: teosinto e tripsacum (BOREM, 1999; PATERNIANI & GOODMAN, 1977). O milho somente se disseminou para os demais continentes com a chegada dos espanhóis à América. É uma gramínea da família Poaceae, da tribo *Andropogoneae* do gênero *Zea* e da espécie may (*Zea mays*). A característica principal da tribo é o fato de as flores serem unissexuadas, inflorescência masculina e feminina na mesma planta, porém separadas espacialmente, sendo que 100% da fecundação é cruzada. O gênero *Zea*, que compreende o milho, possui 20 cromossomos ( $2n=2x=20$ ).

Entre as teorias, a mais aceita sobre a origem do milho é a de que o milho originou-se da seleção direta do teosinto (ANDRADE *et al.*, 2011). Supõe-se que a domesticação do milho iniciou entre 7.500 e 12.000 anos atrás (DOEBLEY, 2004). A cultura tem um grau de domesticação tão elevado que não sobrevive mais de forma natural, sem a interferência do homem (BOREM & GIUDICE, 2004).

A espécie milho apresenta grande diversidade de variedades. Paterniani e Goodman (1977) afirmam que essa grande diversidade encontrada na espécie é um exemplo de evolução, uma vez que a evolução corresponde à mudança nas frequências gênicas ao longo das gerações. Isso possibilita a grande diversidade de germoplasma disponível aos programas de melhoramento que permite vários tipos de cruzamentos.

Em 1932, teve início, no Instituto Agrônomo de Campinas, o programa de melhoramento de milho híbrido e, em 1939, foi lançado o primeiro híbrido de milho brasileiro (BOREM, 2005). Atualmente, além de diversos híbridos de milho já lançados por diversas instituições, foram desenvolvidas várias variedades de polinização livre e variedades sintéticas, porém estas são pouco usadas pelos agricultores apesar de possibilitar ao agricultor a produção de suas próprias sementes, pois elas têm uma produtividade menor que os híbridos, além de em muitos casos serem suscetíveis a doenças (BOREM, 2001).

As variedades de polinização aberta são obtidas da seguinte maneira. Inicialmente ocorre o cruzamento entre dois genitores conforme objetivo do programa, depois na geração  $F_1$  é buscada a produção de o maior número de sementes possíveis, pois a geração  $F_2$  será testada nos diferentes ambientes de plantio, com condições edafoclimáticas específicas dos

locais. As variedades sintéticas são obtidas da seguinte maneira: obtenção de linhagens  $F_1$  (uma geração de autofecundação); avaliação dessas linhagens em top cross para produtividade, e caracteres de interesse e intercruzamento das melhores linhagens (BOREM, 2001).

#### 4.1 Produção de milho híbrido

O milho é a espécie que consagrou o sucesso de uso da heterose em melhoramento de plantas (PATERNIANI & LONNQUIST, 1963). A diferença entre a variedade híbrida e variedade de polinização livre, observada por ocasião dos trabalhos pioneiros, permitiu vislumbrar o potencial da heterose no aumento da produtividade do cereal (BOREM, 2005). O uso de milho híbrido, com características selecionadas pelos programas de melhoramento, possibilitou o plantio em áreas que não eram tão apropriadas e a realização de safra e safrinha no mesmo ano, devido ao ciclo mais curto da cultura e a possibilidade de antecipação da semeadura da primeira safra, ainda no final do inverno. Apesar de o mecanismo de heterose não estar totalmente explicado, existem várias hipóteses para o mesmo. A teoria de dominância proposta por vários autores é a mais aceita. Nela, a concentração de alelos dominantes do híbrido (Figura 2), proveniente do cruzamento específico de linhagens endogâmicas é que seria responsável pelo vigor (BOREM & MIRANDA, 2013).

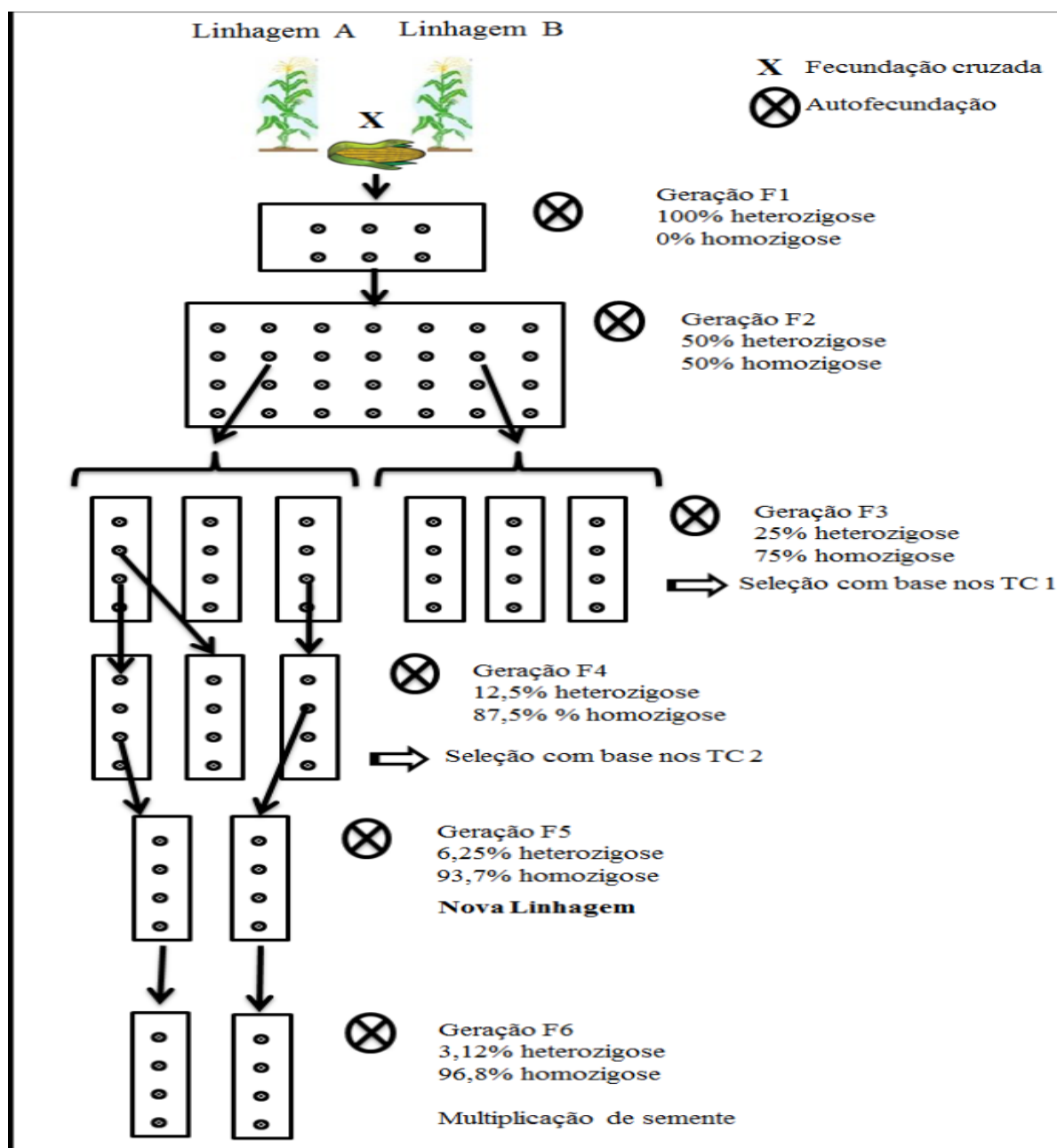
Figura 2 - Acúmulo de alelos dominantes em híbridos.

Linhagem 1	X	Linhagem 2	=	Híbrido 1x2
AabbccDDee		aaBBCCddee		AaBbCcDdee

Para a obtenção de híbridos de milho são requeridas duas fases, na primeira, ocorre o desenvolvimento de linhagens com alto grau de homozigose.

A estação de pesquisa da Pioneer de Passo Fundo usa o método genealógico, com algumas adaptações (Figura 3) para a obtenção de linhagens homozigotas necessárias para a obtenção de híbridos. Neste método, é preciso obter um cruzamento inicial entre duas linhagens fixas do mesmo grupo heterótico, com objetivo de desenvolver linhagens com maior divergência genética. Após este processo, é necessário autofecundar as plantas por sucessivas gerações para obter genótipos com elevado grau de homozigose; no decorrer deste processo são realizadas diversas avaliações e seleções (BORÉM & MIRANDA, 2013).

Figura 3 - Método genealógico com adaptações. (Fonte: Pioneer)



As sementes F<sub>1</sub> obtidas deste cruzamento são colhidas sem nenhum tipo de seleção, pois possuem 100% de heterozigose. Plantando as sementes da geração F<sub>1</sub>, obtêm-se plantas F<sub>2</sub>, essas, sim, apresentam alta variabilidade genética. É neste estágio que os programas de melhoramento mais sofisticados usam a técnica de *Kernel Chipping* para avaliar o potencial genético das sementes. Essa técnica consiste em retirar um pequeno fragmento do endosperma das sementes, de tamanho que não prejudique seu desenvolvimento, para a extração e avaliação do DNA e, a partir daí, mapear genes de interesse. Através deste método é possível

selecionar as sementes sem a necessidade de plantá-las (PINTO, 2009). Só são plantadas sementes  $F_2$  que apresentam características de interesse. Esta técnica é uma adição ao método genealógico usada nos Programas de Melhoramento da Pioneer para aumentar a eficiência de seleção.

Também é realizada uma seleção com base no fenótipo buscando a seleção de características agronômicas. A seleção em  $F_2$  é importante, pois é a geração onde há maior variabilidade genética, portanto, deve ser avaliado o maior número de plantas (PATERNIANI & VIEGA, 1987; PINTO, 2009). Cada uma das espigas selecionadas em  $F_2$  vai se tornar uma linha em  $F_3$ .

Em  $F_3$ , com 75% de homozigose, a colheita é feita somente das melhores linhas e dentro de cada uma delas seleciona-se as melhores espigas, levando em conta características como sanidade, adaptação e produtividade.

Em  $F_3$ , no programa de melhoramento de milho da Pioneer, é realizado o teste Cross I para avaliar a produtividade, pelo qual as linhas em  $F_3$  são cruzadas com outra linhagem conhecida, esta com alta capacidade combinatória (testador) (BOREM & FRITSCHÉ-NETO, 2013). Este teste demonstra qual linha de  $F_3$  é mais produtiva. Existem vários métodos a considerar na escolha de um testador (LOCATELLI *et al.*, 2002). No geral, o testador ideal é aquele que discrimina os genótipos avaliados com um número mínimo de avaliações (BOREM, 2001).

A partir das seleções realizadas em  $F_3$  será cultivada a geração  $F_4$ , esta com 87,5% de homozigose, dentro da mesma linha. Em  $F_4$ , o programa de melhoramento de milho da Pioneer utiliza a técnica de top Cross, no qual as linhas são cruzadas geralmente com mais de um testador e cada progênie é semeada em locais diferentes para testar a resposta à variação ambiental (BORÉM & MIRANDA, 2013). Nesta etapa, as avaliações não são baseadas mais em plantas individuais, mas sim no comportamento da progênie, pois a seleção individual já não é mais eficiente (BORÉM & MIRANDA, 2013; DESTRO & MONTALVAN, 1999). As gerações  $F_5$  e  $F_6$  já possuem mais de 90% de homozigose, as linhagens já podem ser consideradas fixas (BORÉM & MIRANDA, 2013).

Entre as vantagens do método genealógico, estão a possibilidade de descartar tipos inferiores cedo dentro do processo, o conhecimento do parentesco das linhagens, o que permite que a variabilidade entre linhagens mantidas possa ser maximizada, e a elevada exposição a diferentes ambientes, uma vez que cada geração é cultivada em um ano diferente (PINTO, 2009). Por outro lado, requer significativo controle das gerações, intensivo uso de

terra e trabalho, pessoal capacitado para seleção e não pode ser usado em ambientes onde a variabilidade das características de interesse não se expressa (PATERNIANI & VIEGAS, 1987).

É possível obter linhagens totalmente homozigotas a partir da técnica do duplo haploide (DH), a qual permite uma economia de tempo, pois é possível obter uma linhagem pura em apenas dois anos, o que pelos métodos tradicionais levaria de cinco a dez anos. Este método funciona da seguinte maneira: uma planta da geração  $F_1$  ou  $F_2$  é cruzada com um indutor. O indutor é uma linhagem de poder público que ao polinizar a planta  $F_2$ , não transmite seu material genético(n) para seus descendentes, possibilitando a formação de um grão haploide (n). O grão haplóide possui coloração rocha do endosperma e embrião com coloração amarela. Se plantado, deste grão nascerá uma planta infértil, então por meios laboratoriais duplica-se o número de cromossomos com o uso de colchicina. Este grão, então, é plantado e se obtém uma planta homozigota (PINTO, 2009). Este método é usado em todas as estações de pesquisa da Pioneer no Brasil em materiais que se deseja avançar as gerações mais rapidamente. Na segunda fase do processo de desenvolvimento de híbridos, as linhagens endogâmicas de diferentes grupos heteróticos são cruzadas buscando a obtenção de máxima heterose (PATERNIANI & VIEGAS, 1987). Os novos híbridos precisam ser cultivados em vários locais para verificar suas respostas ao ambiente. Esta etapa é chamada de R1. Se os híbridos em R1 forem produtivos, passam para uma segunda avaliação que será na próxima safra, quando um mesmo híbrido é semeado em mais de 20 locais. Os que passarem nesta etapa são avançados para R4, e são semeados em estação de pesquisa e avaliados; os selecionados seguem para R5, já podendo ser definida a marca para o híbrido (BUENO *et al.*, 2006).

Existem vários tipos de híbrido que podem ser produzidos, sendo descritos a seguir.

Híbridos intervarietais – são obtidos pelo cruzamento entre duas variedades, foram os primeiros híbridos a serem desenvolvidos.

Híbridos duplos – são obtidos da seguinte forma: duas variedades são cruzadas, o produto resultante é cruzado com outro híbrido, também obtido pelo cruzamento entre duas variedades. Este mecanismo foi o que possibilitou a generalização do uso de híbridos, pois são mais produtivos e possuem baixo custo de produção.

Híbrido triplo – consiste no cruzamento de uma linhagem como um genitor masculino e um híbrido simples como um genitor feminino. Possuem um custo de produção mais baixo,

pois o genitor masculino tem a função de polinizador, a proporção entre machos e fêmeas a campo é de 1:3.

Híbrido simples— é o melhor quanto à uniformidade e produtividade. Consiste no cruzamento entre duas linhagens com 100% de endogamia. Possui um custo elevado de produção, devido à baixa produção das plantas endogâmicas, e sua estabilidade deve ser testada antes da semente ser comercializada (BUENO *et al.*, 2006).

Atualmente, os programas de melhoramento de plantas, no geral, buscam o desenvolvimento de híbridos produtivos, com possibilidade de semeadura a partir de agosto, mesmo nas regiões frias do país, plantas com folhas eretas para otimizar a densidade de semeadura, plantas com porte baixo e com maior espessura de colmo para evitar o acamamento (MUNDSTOCK, 2004).

As doenças de colmo, caso venham atacar híbridos de milho, são as que provocam maior redução de produtividade, uma vez que podem provocar morte prematura da planta, redução da estatura, efeito negativo no tamanho e peso do grão (REIS *et al.*, 2004). Se a planta for atacada após a maturação do grão, perdas na produção se devem ao tombamento das plantas, o que dificulta a colheita mecânica e expõe as espigas à ação de roedores e ao apodrecimento pelo contato com o solo. Estas doenças são de ocorrência cada vez maior no Brasil devido aos plantios sucessivos, à ampla adoção do sistema de plantio direto sem rotação de culturas e à utilização de genótipos suscetíveis, favorecendo a ocorrência da doença em função da elevada capacidade dos patógenos de sobreviverem no solo e em restos de cultura, resultando no rápido acúmulo de inóculo nas áreas de cultivo. As principais doenças que atacam o colmo são antracnose (*C. graminicola*) e fusarium (*F. verticillioides*), sendo que a maioria dos programas de melhoramento visa testar resistência dos materiais comercializados a essas doenças (REIS *et al.*, 2004).



## 5. ATIVIDADES REALIZADAS

Durante o estágio foram realizados basicamente dois tipos de atividades: auxílio no programa de melhoramento de milho para a obtenção de híbridos superprecoces e hiperprecoces adaptados ao sul do Brasil (Atividade 1) e auxílio nos ensaios de resistência de híbridos a moléstias (Atividade 2).

### 5.1 Atividades nos programas de melhoramento de milho

#### 5.1.1 Classificação dos genótipos quanto à soma térmica

O milho é uma planta que responde à soma térmica (requer determinada quantidade de graus dias para passar da fase vegetativa para fase reprodutiva). Pela soma térmica (HU) a sigla vem do inglês heat units, os híbridos são classificados em precoces, intermediários e tardios conforme o requerimento para o florescimento (SANGOI *et al.*, 2010). A soma térmica é calculada em Fahrenheit (padronização mundial). A empresa conta com estação meteorológica em parceria com o sistema Irriga (UFSM). A estação coleta temperatura a cada 15 minutos e o sistema calcula automaticamente quantos HUs a planta acumulou naqueles 15 minutos. Ao final do dia o sistema soma todos os acúmulos registrados a cada 15 minutos e, com isso, tem-se o acúmulo diário.

A determinação da soma térmica é importante, pois quando a polinização é realizada no campo, o pacote utilizado na proteção da espiga possui uma numeração que indica quantos graus de temperatura Fahrenheit foram necessários para atingir o florescimento (Figura 4). Com isso, são determinadas as linhagens mais precoces e as mais tardias para posteriormente escalonar o período de semeadura em blocos de cruzamento. Todos os pacotes utilizados na atividade de polinização possuíam número, por isso, antes de ir ao campo era necessário selecionar os números dos pacotes corretos.

Figura 4 - Pacotes indicando o número de unidades de calor necessárias para o florescimento das plantas de milho.



### 5.1.2 Polinização manual das linhagens

Esta atividade foi realizada principalmente na primeira semana de estágio. Como as flores masculinas e femininas do milho são separadas, a polinização artificial é um processo relativamente fácil de ser realizado. No início do período reprodutivo ocorre a liberação de pólen e a receptibilidade do estigma (parte feminina) é máxima. Este período é ideal para realização de polinização artificial, que é um processo que exige máximo cuidado para que o pólen de plantas de milho indesejadas não chegue ao estigma. É necessário proteger antes da emissão do primeiro estilo-estigma, a “boneca”, inflorescência feminina, por um saco plástico transparente. Somente a primeira espiga da planta no sentido do pendão para a base é protegida, pois devido à dominância apical é a mais bem nutrida por fotoassimilados durante o enchimento do grão.

Ao iniciar o processo de polinização propriamente dito, o primeiro passo era a coleta de pólen de pendão que possuía no mínimo 1/3 das anteras expostas. É preciso proteger o pendão com um saco de papel impermeável e esperar no mínimo 18 horas, para que o grão de pólen oriundo de outras plantas torne-se inviável e apenas o grão de pólen do pendão da planta protegida permaneça ativo. O pendão protegido deve ser curvado levemente para bater o saco de papel causando o desprendimento dos grãos de pólen. Depois, o saco de papel é retirado com cuidado do pendão, é retirado o plástico que protege a espiga e é colocado sobre ela o saco contendo o pólen. Este saco é grampeado em cima da espiga junto com uma ficha de identificação, ficando desta maneira até a colheita. Após o desenvolvimento da espiga eram aplicados fungicida e inseticida com pulverizador costal para prevenir o ataque de pragas e doenças.

Neste procedimento era retirado o pólen de indivíduos das linhagens macho e colocado em indivíduos das linhagens fêmeas, conforme lista de polinização elaborada pelo melhorista responsável pelo programa.

### 5.1.3 - Avaliação geral da aparência da planta de milho

Foram avaliados vários aspectos da planta de milho. No campo, foi usado um Ipad com programa específico para gravar estas informações com escala elaborada pela empresa de 1 a 9, sendo 1 a nota mais insatisfatória e 9 a mais satisfatória. As plantas avaliadas pertenciam às gerações F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub>. Nesta etapa, houve apenas o assessoramento aos melhoristas que eram os responsáveis pela avaliação das plantas.

Dentre as avaliações, houve a avaliação fenotípica das plantas em F<sub>3</sub> considerando uniformidade de plantas, inserção e tamanho da espiga, distância entre espiga e pendão, planta com chicote (pendão envolvido na folha) ou com perfilho. Estas características eram avaliadas pelos melhoristas para caracterizar os genótipos e eliminar plantas indesejadas.

A aparência do pendão também é uma característica fenotípica importante para decidir qual planta será usada como genitor masculino. Em campos de produção de sementes é importante que as linhagens macho possuam boa capacidade de polinização, pois o número elevado de linhagens macho diminui a possibilidade de produção de sementes uma vez que reduz o número de linhagens fêmeas. É considerado o número de ramificações do pendão, formato e presença de pólen e outras características consideradas pelo melhorista. As linhagens que apresentavam pendão envolvido pelas folhas eram eliminadas, pois não possuem boas características reprodutivas.

Como a aparência do pendão, o empalhamento da espiga é uma característica importante a ser avaliada. Um bom empalhamento está relacionado com diminuição na entrada de água, proteção contra a radiação solar e menor ataque de doenças e pragas. Esta característica é repassada ao híbrido produzido. A avaliação é realizada na fase de maturação fisiológica do grão, usando a escala de zero a 9 (zero= insatisfeito, 9 = satisfeito), sendo que espigas com grão exposto ao ambiente recebiam notas baixas.

A estatura da planta (Figura 5) e altura de inserção da espiga são variáveis consideradas na seleção devido à possibilidade de acamamento dos genótipos. Esta medição é realizada a partir de F<sub>4</sub> e é feita com auxílio de uma régua que é encostada na planta, verificando a altura da mesma e altura da inserção da espiga. Esta atividade é realizada pelos trabalhadores do campo ou estagiários que são treinados anteriormente pelos melhoristas.

Figura 5 – Determinação da altura de inserção da primeira espiga.



#### 5.1.4 – Colheita

Quando as plantas de milho atingem a maturidade de colheita, as operações de colheita são iniciadas. Na estação de pesquisa existem diversos materiais de campo a serem colhidos: duplo haploides, cruzamento entre linhagens, autopolinizações e gerações segregantes  $F_2$ ,  $F_3$ ,  $F_4$ ,  $F_5$ , e  $F_6$ . Cada material possui um esquema diferente de colheita, também são anotadas características pertinentes quanto a cor da espiga e do sabugo, tipo de grão e ocorrência de doenças. Os grãos doentes (geralmente contendo fusarium) eram retirados da espiga (figura 6).

Durante a colheita eram utilizados sacos identificados com as respectivas etiquetas da parcela, estes eram levados para varais de secagem e depois para forno a gás para a posterior debulha. O teor de umidade após a secagem era de 13%.

Figura 6 – Processo de colheita e limpeza dos grãos.



### 5.1.5- Atividades no banco de germoplasma

A unidade de pesquisa da empresa em Coxilha – RS possui o maior banco de germoplasma da empresa no país. O banco de germoplasma é a base de todo o trabalho de melhoramento, pois é através dele que se obtém variabilidade genética e com isso o melhorista pode identificar possíveis cruzamentos que resultem em híbridos superiores. Também é possível melhorar geneticamente a população base (NASS, 2001).

O banco de germoplasma de Passo Fundo é dividido em dois grupos, com base na dureza do colmo, sendo que o grupo heterótico dos machos possui colmo não duro e o das fêmeas possui colmo duro. Além disso, existem subgrupos heteróticos divididos conforme a similaridade genética.

Durante a realização do estágio foi realizada separação de sementes do banco de germoplasma para ser enviado para Palmas (TO). Foi conferida a disponibilidade de material genético para cruzamentos na próxima safra e introdução de novos materiais genéticos colhidos na safra.

## 5.2 Auxílio nos ensaios de resistência dos híbridos pré-comerciais à doenças do colmo

O ataque por doenças é um grande limitador da produtividade dos híbridos de milho. O plantio direto, a alta densidade de semeadura, as chuvas durante o florescimento são condições comuns na maioria das lavouras de milho no estado que favorecem o aparecimento de doenças. (CHRISTENSEN *et al.*, 2013) A Pioneer sementes busca constantemente a produção de híbridos resistentes a doenças, dentre elas, doenças de podridão de colmo – antracnose e fusarium. Para isso, faz ensaios de resistência a essas doenças com híbridos pré-comerciais. Além destes, são cultivados os híbridos “checks”, que são parcelas de híbridos comerciais com resistência já conhecida, que servem para ter uma base de referência quanto ao desenvolvimento do fungo.

### 5.2.1 – Ensaio de inoculação de *Colletotrichum graminicola*

Para esse ensaio foi isolado *C. graminicola* coletado no Rio Grande do Sul que, posteriormente, foi para a estação de pesquisa da empresa no município de Itumbiara (GO), onde foi isolado, cultivado e enviado novamente para a estação de pesquisa de Coxilha (RS), onde foi preparada a suspensão com conídio para ser inoculada na planta. No preparo da solução é necessário contar o inóculo em cada mL da solução para preparar a diluição. Foi preparada uma solução com dois milhões de esporos por mL.

A doença causada pelo fungo, popularmente chamada de antracnose do colmo, é favorecida por condições de alta umidade, temperatura moderada e condição de monocultura

(OLIVEIRA *et al.*,2004). Na parte externa do colmo, os sintomas se manifestam pelo aparecimento de placas escuras, o tecido externo torna-se escuro e encharcado com processo de desintegração dos tecidos. A doença é controlada com rotação de cultura em conjunto com o uso de híbridos resistentes (REIS *et al.*, 2004).

Após o início do florescimento, é realizada a inoculação, com um aplicador desenvolvido pela empresa (Figura 7), o qual possui uma agulha para injetar a solução do inóculo no colmo da planta, no primeiro nó acima do solo. A dose aplicada foi de 0,5 mL em cada planta.

A avaliação foi realizada cerca de 30 dias após a inoculação, na maturação fisiológica da planta. Retiram-se todas as espigas da planta e, em seguida, é cortado o colmo no ponto da inserção da espiga, deixando 5 entrenós acima do ponto de inoculação. Estes colmos são abertos no sentido longitudinal com auxílio de uma faca, expondo assim o interior do colmo.

Após abertos os colmos, o fitopatologista da empresa passava na lavoura avaliando as linhagens (10 plantas aleatoriamente dentro da linha) e dando notas, segundo a seguinte escala: 1-3 eram as plantas suscetíveis; 4-6 plantas mediantemente tolerantes, e 7-9 plantas tolerantes. A atividade neste período foi de acompanhamento do fitopatologista na avaliação e assessoramento na abertura dos materiais.

Figura 7 – Processo de inoculação do patógeno (*Colletotrichum graminicola*) na planta de milho.



### 5.2.2 Ensaio de inoculação de *Fusarium verticillioides*

A doença conhecida como *fusarium* é encontrada praticamente em todas as lavouras do Brasil, pois o fungo possui muitos hospedeiros e vive a maior parte do ciclo como saprofítico no solo( EMBRAPA , 2009). O fungo ataca todas as partes da planta, na espiga o

grão fica com aparência de rajado ou podre, ocorrendo desenvolvimento de micotoxinas no colmo, causa podridão que se inicia desde a raiz.( OLIVEIRA *et al.*, 2004) Os danos do fungo na planta aumentam com a maturação fisiológica ( DEL PONTE *et al.*, 2010).

Para a realização deste ensaio utilizou-se uma dose de 0,5 mL por planta com concentração de esporos de 1 milhão por mL, sendo que o fungo foi cultivado no meio BDA (batata, dextrose e agar). A aplicação foi feita da mesma forma que a aplicação de *C. graminicola* com os aplicadores desenvolvidos pela empresa. Para avaliação do ensaio os colmos também foram abertos da mesma maneira (Figura 8).

Na avaliação do ensaio foram observadas três informações: escala de severidade, utilizando a escala usada pela empresa de zero a nove; o número total de plantas infectadas, e a quantidade total de linhas com infecção. A participação nesta etapa do estágio foi auxiliar na inoculação e, posteriormente, assessorar os fitopatologistas na avaliação das plantas.

Figura 8 - Colmos da planta de milho abertos para avaliar a resistência da planta ao ataque de patógeno *C. graminicola*.



## 6. DISCUSSÃO

Durante o desenvolvimento do estágio foi possível observar o funcionamento de um programa de melhoramento que dispõe de recursos financeiros para custear o uso de tecnologias avançadas.

Sendo o milho uma espécie alógama, é possível o desenvolvimento de variedades híbridas, variedades sintéticas e variedades de polinização aberta. A Pioneer concentra-se, principalmente, no desenvolvimento de variedades híbridas. A grande desvantagem para o produtor, em relação ao uso de sementes de milho híbrido, é o fato de o produtor ter que adquirir novas sementes todo ano. Neste sentido, no passado, foi tentado o desenvolvimento de inúmeras variedades melhoradas de polinização livre e variedades sintéticas, cruzamento entre linhagens selecionadas com alta capacidade de combinação. Ambas têm sido consideradas entidades estáticas (BOREM, 2001), pois dependendo da combinação entre plantas não se obtém mudanças significativas, e nunca foi obtida produtividade superior a um híbrido simples. Isto pode ser explicado pelo fato de características como produtividade serem controladas por um número infinitamente elevado de genes. Por isso, a possibilidade de ocorrer em um indivíduo de polinização livre a combinação de genes desejada é limitada, ao contrário do híbrido simples, no qual o vigor é decorrente da heterose proveniente da combinação de duas linhagens endogâmicas. Por isso, a comercialização de sementes de milho híbrido é tão grande no mundo, sendo que, no Brasil, 45 % da semente de milho comercializada são de híbridos simples, já nos Estados Unidos este número é de 95 % (BOREM & MIRANDA, 2013).

A pureza genética de populações alógamas é praticamente inexistente, devido ao grau elevado de polinização cruzada entre as plantas. Nesta população geneticamente heterogênea, para o desenvolvimento de híbridos, é necessário tornar as linhagens puras por sucessivo processo de autofecundação. Estas linhagens devem ser de grupos heteróticos diferentes, ou seja, que sejam aparentados o mínimo possível e quando obtidas linhagens praticamente puras cruzá-las para dar origem ao híbrido. A melhor maneira de realizar este processo é através do método genealógico, pois possibilita avaliar cada progênie separadamente fazendo seleções com base no genótipo (BOREM, 2001; ALLARD, 1960).

A partir deste método clássico foram desenvolvidas inúmeras modificações, desde seu desenvolvimento inicial na década de 70, no intuito de tornar o método mais adequado para cada situação e contornar as possíveis desvantagens (BUENO *et al.*, 2006). Dentre as



desvantagens, a grande exigência de mão obra no campo é uma dificuldade enfrentada pela empresa. O método exige muito trabalho de campo e necessidade de pessoas qualificadas e treinadas para assessorar os melhoristas na seleção. Por isso, todas as estações de pesquisa da Pioneer contam com engenheiros agrônomos, a maioria mestres em melhoramento de plantas, para assessorar os melhoristas doutores que são responsáveis pelos diferentes programas de produção de híbridos. O fato de o método exigir seleção visual, o que muitos autores chamam de “olho clínico”, requer considerável treinamento, pois, como afirma Borém (2001), em F<sub>2</sub> o nível de heterose ainda é alto, fazendo com que muitos indivíduos expressem o vigor híbrido, o que pode induzir à seleção de tipos mais heterozigóticos, com problemas posteriores. Há necessidade, portanto, de treinar os melhoristas jovens para que estes possam desenvolver sua capacidade de seleção (“olho clínico”). Também, para facilitar as seleções de linhagens, deve-se ter em mente um padrão de planta ou planta modelo que definirá os índices fenotípicos de seleção, que refletem o mérito geral de cada progênie. Esta estratégia é amplamente usada no programa de melhoramento da Pioneer, que desenvolveu a escala de zero a nove, pela qual é atribuído zero à planta com todas as características desprezadas pelos melhoristas e nove à planta possuidora de todas as características desejadas. A escala é a mesma em todas as estações de pesquisa, porém os padrões de planta variam conforme os diferentes programas de melhoramento.

Outra desvantagem do método genealógico é só permitir o avanço de uma geração por ano, nas condições do Sul do Brasil, tornando o método muito oneroso e demorado. Esta desvantagem é minimizada nas estações de pesquisa da Pioneer pela possibilidade de avanço de geração na estação de pesquisa de Palmas/TO, que apresenta clima tropical e permite o desenvolvimento de várias gerações no mesmo ano. Também o uso da tecnologia do duplo haplóide permite obtenção de linhagens homozigotas mais rapidamente, apesar de ser um processo de custo elevado. O seu uso diminuiu grandemente o tempo necessário para a obtenção de linhagens endogâmicas, o que é muito importante para o programa de melhoramento, pois é possível avaliar rapidamente se aquela linhagem realmente dará origem a um híbrido de qualidade. O aumento da precisão de seleção também é possível pelo método de *Kernel Chipping*, pelo qual se extrai um segmento do endosperma da semente, e são realizadas análises de DNA para verificar se há genes de interesse na linhagem (BUENO *et al.*, 2006), permitindo eliminar precocemente linhagens que não tenham alelos de interesse. Estas duas técnicas são amplamente utilizadas na empresa.

Uma das grandes vantagens do uso do método genealógico é a possibilidade de excluir plantas inferiores em gerações precoces, o que impede que se avancem as gerações com plantas com características indesejáveis (BUENO *et. al.*, 2006; DESTRO & MONTALVÁN, 1999). Também é possível descobrir o grau de parentesco entre as linhagens, o que permite maximizar a eficiência de seleção (BOREM, 2009), pois após atingirem elevado grau de homozigose, aquelas que apresentarem ancestral comum são consideradas geneticamente semelhantes e apenas uma delas é levada a frente. Também no método genealógico, a seleção de plantas se baseia na progênie, esta é baseada no genótipo do indivíduo e não apenas no fenótipo da planta como em outros métodos (BOREM, 2001). Essas vantagens essas amplamente são exploradas nos programas de melhoramento da Pioneer.

Estimar a perda da produção por pragas e doenças é relativamente difícil devido às plantas geralmente serem atacadas por vários agentes etiológicos ao mesmo tempo (PEREIRA *et al.*, 2005). Por isso, é necessário avaliar os híbridos antes de serem comercializados para garantir ao produtor que não são suscetíveis a doenças. Estes ensaios são realizados em todas as estações de pesquisas da Pioneer, sendo importantes, pois segundo Borem & Fritsch-neto (2013), a seleção de cultivares altamente produtivas, avaliadas em experimentos com alta incidência de doenças, para serem utilizadas como genitores, não é garantia que estão sendo selecionadas as portadoras de resistência do tipo horizontal (resistência contra todas as raças do patógeno), uma vez que esta só pode ser avaliada quando o germoplasma perder sua resistência vertical (resistência contra raças específicas de patógenos).

Após a obtenção do híbrido, a Dupont Pioneer realiza vários testes que visam confirmar a estabilidade, adaptação às diferentes regiões edafoclimáticas de cultivo, e resistência a doenças. Estes testes exigidos pelo ministério da agricultura para o lançamento comercial da semente visam garantir ao produtor qualidade de produção da semente adquirida. A Dupont Pioneer, além destes testes, realiza outros comparando os híbridos produzidos com outros já disponíveis comercialmente. Muitos dos testes são feitos em propriedades particulares de produtores que, no final da avaliação, ficam com os grãos produzidos.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A área de melhoramento de plantas e produção de sementes é um campo de trabalho muito promissor para engenheiros agrônomos, grande parte devido a grande movimentação financeira do mercado e a necessidade de melhoristas talentosos com capacidade “artística” para realizar combinações que gerem genótipos superiores. Segundo Borem & Miranda (2013) atualmente, questões como a globalização, a conscientização ecológica e os problemas sociais estão causando modificações no foco dos programas de melhoramento vegetal). Futuramente não somente as questões relacionadas à produtividade serão levadas em conta para o desenvolvimento de cultivares, mas também características como associação com bactérias fixadoras de nitrogênio, alta capacidade de competição com plantas daninhas, maior resistência a insetos e doenças, melhor utilização das doses de nitrogênio e desenvolvimento de cultivares com múltiplas qualidades (BOREM & MIRANDA, 2013), tudo isso para melhor utilizar os recursos ambientais. Também, com o aumento da utilização da biotecnologia será possível desenvolver cultivares com novas utilidades, tanto na produção de alimentos como na produção de insumos e bens duráveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLARD, R. W.; Principle of Plant Breeding. University of California, Davis, CA: Ed John Wiley & Sons, Inc. 1960.

ANDRADE, G. S.; ALMEIDA, G. D.; BORÉM, A. Histórico das Plantas Geneticamente Modificadas. In: BORÉM, A.; ALMEIDA, G. (Ed.) Plantas Geneticamente Modificadas: Desafios e oportunidades para regiões tropicais. Visconde de Rio Branco: Suprema, 2011. p. 13 – 27.

BORÉM, A. Hibridação artificial de plantas. Viçosa: Ed. UFV. 1999, 529 p.

BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. 2 ed, Viçosa : UFV, 2005, 969 p.

BORÉM, A. Melhoramento de Plantas. 3ed, Viçosa : UFV, 2001, 452 p.

BORÉM, A.; GIÚDICE, M. P. Cultivares Transgênicos. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. Tecnologia e Produção de Milho: Economia, Cultivares, Biotecnologia, Safrinha, Adubação, Quimigação, Doenças, Plantas Daninhas e Pragas. Viçosa: UFV, 2004. p. 85-102.

BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. Melhoramento de plantas. 6ª ed., Viçosa, Ed. UFV, 2013, 523p.

BORÉM, A ; FRITSCHÉ-NETO, R. Biotecnologia aplicada ao melhoramento de plantas. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2013. p. 229-266.p.

BUENO, L. C. S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. Melhoramento Genético de Plantas: Princípios e Procedimentos. 2ª ed. Lavras: UFLA, 2006. 319

CEMETRS, Atlas Climático do Rio Grande do Sul, 2005. Atlas Climático do Rio Grande do Sul. Disponível em [www.cemet.rs.gov.br](http://www.cemet.rs.gov.br). Acesso em : 2 de julho de 2014.

CHRISTENSEN, J.J. & WILCOXSON, R.D. COTA, L. V.; COSTA, R. V.; SABATO, E. O.; SILVA, G. D. Histórico e perspectivas das doenças na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 2013. 7p. (Embrapa-CNPMS. Circular técnica 193

DEL PONTE, E. M. et al. Variabilidade populacional de *Fusarium graminearum* – implicações na epidemiologia e manejo de risco. In: WORKSHOP DE EPIDEMIOLOGIA DE DOENÇAS DE PLANTAS, 3., 2010, Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: [S.n.], 2010

DESTRO, D.; MONTALVÁN, R. Melhoramento genético de plantas. Londrina :Ed. UEL, 1999, 818p

DOEBLEY, J. The genetics of maize evolution. Annual Review of Genetics, v.38, p. 37-59. 2004.

EMBRAPA. Cultivo do Milho. Sistemas de Produção. 4. ed. 2009. Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho\\_6ed/index.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_6ed/index.htm)>. Acesso em: 23 agosto 2014.

IBGE. Produção Agrícola Municipal. 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1> Acesso em: 6 de julho de 2014

KOEPPEN, W. Climatologia: Un estudio de los climas de la Tierra. México: Fondo de Cultura Economica.1948, 478 p

LOCATELLI, A. B.; FEDERIZZI, L. C.; NASPOLINI FILHO, V. Capacidade combinatória de nove linhagens endogâmicas de milho (*Zea mays* L.) em dois ambientes. Ciências Rural , vol. 32, n. 3, Santa Maria, 2002.

MUNDSTOCK, C. M. A evolução da genética e da tecnologia de cultivo de milho no Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS: Evangraf, 2004.

NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADRES-INGLIS, M.C. Recursos genéticos e melhoramento de plantas. Rondonópolis : Fundação MT, 2001. 1183 p.

OLIVEIRA, E.; FERNANDES, F. T.; CASELA, C. R.; PINTO, N. F. J. de A.; FERREIRA, A. da S. Diagnose e controle de doenças na cultura do milho. In: GALVÃO e MIRANDA. Tecnologias de produção do milho. Viçosa: UFV, 2004. Pg. 227-267.

PATERNIANI, E. Maize breeding in the tropics. CRC Critical Review in Plant Science, v.9, 1990.p.125-154.

PATERNIANI, E.; GOODMAN, M.M. Races of maize in Brazil and adjacent areas. Mexico: CIMMYT, 1977

PATERNIANI, E.; LONNQUIST, J.H. Heterosis in interracial crosses of corn (*Zea mays* L.). Crop Science, v.3, 1963. p.504-507.

PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. Melhoramento e produção de milho. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 2 795p.

PEREIRA, O.A.P.; CARVALHO, R.V.; CAMARGO, A.L.E. Doenças do milho (*Zea mays*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, M.J.A.; BERGAMIN, F.A.; CAMARGO, A.L.E. (Ed.). Manual de fitopatologia. Piracicaba: Ceres, 2005. cap. 55, p. 477–488.

PINTO, R.J.B.. Introdução ao melhoramento genético de plantas. Maringá: Eduem UEM, 2ª ed, 2009.351 p.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A. C. R. Manual de diagnose e controle de doenças do milho. 2 ed., Lages: editora Graphel , 2004. 144 p.

SANGOI, L.; SILVA, P. R.; ARGENTA, G. ; RAMBO, L. Ecofisiologia da Cultura do Milho para Altos Rendimentos. Lages /SC: Graphel, 2010.64p.

STRECK, E. V.; KAMPF, N.; DALMOLIN, R. S. D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P. C.; SCHNEIDER, P.; GIASSON, E.; PINTO, L. F. S. Solos do Rio Grande do Sul. 2 ed , Editora EMATER-RS, Porto Alegre, EMATER; UFRGS, 2008. 222 p.

USDA, United State Department of Agriculture. Disponível em: <http://www.ers.usda.gov/topics/crops/corn.aspx#UWGxH5OfhKY>. Acesso em: 2 de julho de 2014