

Agrotrópica

Volume 13, número 2, maio a junho de 2001



Centro de Pesquisas do Cacau
Brasil



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

Ministro: Roberto Rodrigues

Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC

Diretor: Gustavo Costa de Moura

Superintendência Regional da Bahia e Espírito Santo (SUBES)

Superintendente: Francisco Carlos Ferreira Leite

Centro de Pesquisas do Cacau - (CEPEC)

Chefe: Raúl René Meléndez Valle

Serviço de Pesquisas

Chefe: Jonas de Souza

Serviço de Suporte Técnico

Chefe: José Marques Pereira

Centro de Extensão - (CENEX)

Chefe: Ebiezal Nascimento Andrade Filho

Superintendência Regional da Amazônia Ocidental (SUPOC)

Superintendente: João Valério da Silva Filho

Superintendência Regional da Amazônia Oriental (SUPOR)

Superintendente: Ademir Conceição Carvalho Teixeira

Agrotrópica, v. 1, n°1 (1989)
Ilhéus, BA, Brasil, CEPLAC/CEPEC, 1989

v.

Quadrimestral

Substitui "Revista Theobroma"

1. Agropecuária - Periódico.

CDD 630.5

AGROTRÓPICA é indexada em

AGRINDEX; THE BRITISH LIBRARY; CAB (i.e. Horticultural Abstracts, Review of Plant Pathology, Forestry Abstracts); AGROBASE; Agricultural and Environment for Developing regions (TROPAG); ULRICH'S INTERNATIONAL PERIODICALS DIRECTORY (Abstract on Tropical Agriculture, Agricultural Engineering Abstracts, Agroforestry Abstracts, Bibliography of Agriculture, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Exerpt Medical, Food Science & Technology Abstracts, Indice Agricola de America Latina y el Caribe, Nutrition Abstracts, Protozool. Abstracts, Review of Applied Entomology, Seed Abstracts, Tropical Oil Seeds Abstracts).

POLÍTICA EDITORIAL

AGROTRÓPICA, publicação quadrimestral destinada a veicular trabalhos que constituem contribuição original e real para o desenvolvimento agroecológico e socioeconômico das regiões tropicais úmidas. Tem por objetivo ser veículo aberto à divulgação de trabalhos científicos inéditos que contribuam para o aprimoramento das culturas tropicais, pastagens e outros produtos de interesse econômico.

Publica artigos científicos, notas científicas, revisões bibliográficas relevantes e de natureza crítica, em português, espanhol e inglês e cartas ao editor sobre trabalhos publicados em Agrotrópica.

O autor é o responsável exclusivo pelo conteúdo do trabalho, todavia, o Editor, com a assistência da assessoria científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações que considere necessárias.

EDITORIAL POLICY

AGROTRÓPICA is a Journal published every four months which goal is to divulge papers containing original and real contributions to agroecological and socioeconomical development of humid tropics. Inedited papers leading to the improvement of tropical crops, pastures and other agricultural commodities are welcome. The Journal will publish scientific articles and notes, critical reviews and letters to the Editor written in Portuguese, Spanish and English.

Authors are exclusively responsible for concepts and opinions given in their articles. However the Editor with the help of the Scientific Committee reserves the right to suggest or ask modifications thought to be necessary.



**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**

**CEPLAC - Comissão Executiva do
Plano da Lavoura Cacaueira**

AGROTRÓPICA. Publicação quadromestral do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)/CEPLAC.

Comissão de Editoração: José Luiz Bezerra, Miguel Moreno Ruiz e Milton Macoto Yamada.

Editor: Miguel Moreno Ruiz

Assistentes de Editoração: Jacqueline C.C. do Amaral e Selenê Cristina Badaró.

Normalização de referências bibliográficas: Maria Christina de Campos Faria.

Editoração eletrônica: Jacqueline C.C. do Amaral e Selenê Cristina Badaró.

Capa: Selenê Cristina Badaró

Assinatura: R\$ 40,00 (Anual); R\$ 15,00 (número avulso). Instituições ou leitores interessados em obter a publicação por intercâmbio ou assinatura poderão contactar: CEPLAC - Setor de Informação Documental, C.P. 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil. sidoc@cepec.gov.br

Endereço para correspondência:
AGROTRÓPICA, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), C.P. 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

Telefone: (73) 214 -3217

Fax: (73) 214 - 3218

E-mail: agrotrop@cepec.gov.br

Tiragem: 650 exemplares

AGROTRÓPICA

V.13

Maio - agosto 2001

N.2

CONTEÚDO

ARTIGOS

- 43 Produção de picles com o xilopódio de *Spondias tuberosa* e teste de aceitação. **N. de B. Cavalcanti, C. A. F. Santos, G. M. Resende e L. T. de L. Brito.**
- 49 Caracterização morfológica do fruto e química da água de coco em cultivares de coqueiro anão. **W. M. Aragão, E. M. de O. Cruz e J. S. Helvécio.**
- 59 Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho na região Meio-Norte do Brasil no ano agrícola de 1999/2000. **M. J. Cardoso, H. W. L. de Carvalho, M. de L. da S. Leal, M. X. dos Santos e A.C. de Oliveira.**
- 67 Comportamento de variedades e híbridos de milho no nordeste brasileiro no ano agrícola de 1999/2000. **H. W. L. de Carvalho, M. de L. da S. Leal, M. J. Cardoso, M. X. dos Santos, J. N. Tabosa, D. M. dos Santos, M. M. de Albuquerque, M. A. Lira e B. C. L. de Carvalho.**
- 79 Caracterização de variedades clonais de *Theobroma cacao* L. com base em marcadores RAPD, AFLP e microssatélites. **F. G. Faleiro, U. V. Lopes, M. M. Yamada, J. L. Pires, R. C. S. Bahia, R. C. Santos, L. M. C. Gomes, I. S. Araújo, A. S. G. Faleiro, K. P. Gramacho, G. R. P. Melo, W. R. Monteiro e R. R. Valle.**

NOTA CIENTÍFICA

- 87 Parâmetros ótimos de PCR para análise de RAPD em coqueiro (em inglês). **A. Upadhyay, K. Prakash, J. Jose e V.A. Parthasarathy.**



MINISTRY OF AGRICULTURE
LIVESTOCK AND FOOD SUPPLY

CEPLAC - Executive Commission of
the Cacao Agriculture Plan

AGROTRÓPICA. Published every four months by the Cacao Research Center (CEPEC)/CEPLAC.

Editorial Committee: José Luiz Bezerra, Miguel Moreno Ruiz and Milton Macoto Yamada.

Editor: Miguel Moreno Ruiz

Editorial assistant: Jacqueline C.C. do Amaral and Selenê Cristina Badaró.

Revision of bibliographical references: Maria Christina de Campos Faria.

Desktop publish: Jacqueline C.C. do Amaral and Selenê Cristina Badaró.

Cover: Selenê Cristina Badaró

Subscription: annual (outside Brasil) - US\$ 60.00 (surface mail); single copy - US\$ 15.00 (surface mail). Institutions or individuals interested in obtaining the publication for exchange or subscription should contact: CEPLAC - Setor de Informação Documental, P.O.Box 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil. E-mail: sidoc@cepec.gov.br

Address for correspondence:

AGROTRÓPICA, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), P.O.Box 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

Telephone: 55 (73) 214 - 3217

Fax: 55 (73) 214-3218

E-mail: agrotrop@cepec.gov.br

Circulation: 650 copies.

AGROTRÓPICA

V.13

May - August 2001

N.2

CONTENTS

ARTICLES

- 43 Production of pickles from the xylopodium of the *Spondias tuberosa* (in Portuguese). N. de B. Cavalcanti, C. A. F. Santos, G. M. Resende and L. T. de L. Brito.
- 49 Morphological characterization of the fruit and chemistry of the coconut water in cultivars of dwarf coconut trees (in Portuguese). W. M. Aragão, E. M. de O. Cruz and J. S. Helvécio.
- 59 Adaptability and stability of corn hybrids in the Middle-North of Brazil in the agricultural year of 1999/2000 (in Portuguese). M. J. Cardoso, H. W. L. de Carvalho, M. de L. da S. Leal, M. X. dos Santos and A.C. de Oliveira.
- 67 Behaviour of corn and hybrids in the Brazilian Northeast in the agricultural year 1999/2000 (in Portuguese). H. W. L. de Carvalho, M. de L. da S. Leal, M. J. Cardoso, M. X. dos Santos, J. N. Tabosa, D. M. dos Santos, M. M. de Albuquerque, M. A. Lira and B. C. L. de Carvalho.
- 79 Characterization of clonal varieties of *Theobroma cacao* L. using RAPD, AFLP and microsatellite markers. F. G. Faleiro, U. V. Lopes, M. M. Yamada, J. L. Pires, R. C. S. Bahia, R. C. Santos, L. M. C. Gomes, I. S. Araújo, A. S. G. Faleiro, K. P. Gramacho, G. R. P. Melo, W. R. Monteiro and R. R. Valle.

SCIENTIFIC NOTE

- 87 Optimal PCR parameters for RAPD analysis in coconut. A. Upadhyay, K. Prakash, J. Jose and V.A. Parthasarathy.

PRODUÇÃO DE PICLES COM O XILOPÓDIO DE *Spondias tuberosa* E TESTE DE ACEITAÇÃO

Nilton de Brito Cavalcanti, Carlos Antônio Fernandes Santos, Geraldo Milanez Resende e Luiza Teixeira de Lima Brito

Embrapa-Semi-Árido. Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido. Caixa Postal 23, 56300-000, Petrolina, Pernambuco, Brasil. E-mail:nbrito@cpatsa.embrapa.br

Este trabalho teve como objetivo produzir e testar a aceitação de três formas de picles feitas com o xilopódio de plantas de umbuzeiro com 120 dias de idade visando a possibilidade do seu aproveitamento como alternativa alimentar e fonte de complementação da renda dos pequenos agricultores da região semi-árida do Nordeste. O trabalho foi realizado no período de janeiro a dezembro de 2000, em uma área sob tela sombrite com redução de luz de 50% e temperatura ambiente na Embrapa Semi-Árido em Petrolina - PE. Utilizou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três tratamentos e quatro repetições. O picles processado com salmoura de 2,5% de sal comum e 0,5% de ácido ascórbico foi o preferido pelos provadores, seguido do picles processado com a salmoura de 2,5% de sal e 0,5% de ácido cítrico. O xilopódio “in natura” não obteve boa aceitação quanto a textura.

Palavras-chave: Fruteira nativa, semi-árido, renda.

Production of pickles from the xylopodium of the *Spondias tuberosa*. The objective of this study was to produce and test acceptance of three types of pickles made with the xylopodium of the umbu tree (*Spondias tuberosa*) of 120-days-of-age, in order to use it as an alternative source of food and income for the small farmers of the semi-arid region of Northeastern Brazil. The work was done from January to December of 2000, in an area under screen shadow with 50% light reduction and field temperature located in Embrapa Semi-arid, Petrolina - PE. The experiment arranged in a randomized complet block design with three treatments and four replications. The pickles processed with 2.5% common salt brine and 0.5% of ascorbic acid was preferred by the testers, followed by the pickles processed with 2.5% common salt brine and 0.5% of citric acid. The xylopodium “in natura” did not obtain good acceptance due to its texture.

Key words: Native fruit trees, semi-arid, income.

Introdução

Na região semi-árida do Nordeste brasileiro, as fontes de renda das quais os pequenos agricultores dependem para sua sobrevivência, são bastantes escassas e fundamentadas, principalmente, no extrativismo vegetal. Entre as plantas que proporcionam esta atividade, o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) é a que mais se destaca.

Mendes (1990) apresenta diversas formas de aproveitamento do umbu (suco, doce, umbuzada, licor, xarope, etc.). O que demonstra a grande capacidade que o fruto desta planta tem para contribuir com o desenvolvimento da região, de forma especial, com a sua industrialização caseira.

Anjos (1999) desenvolveu um método de extração de suco do fruto do umbuzeiro a vapor, onde as sementes dos frutos, podem ser utilizadas para o plantio e posteriormente, seus xilopódios poderão ser consumidos “in natura” e/ou processados.

Araújo et al. (2000) afirmam que o crescente interesse dos consumidores por frutos tropicais, aliado ao número cada vez maior de pequenas indústrias de processamento de frutas para produção de polpa, poderá tornar os produtos derivados do umbuzeiro um negócio agrícola rentável. No entanto, segundo esses mesmos autores, há necessidade de desenvolver pesquisas para solucionar alguns problemas tecnológicos ligados a essa espécie a fim de cultivá-la em escala comercial. Entre esses problemas, a utilização da grande quantidade de sementes provenientes dessas indústrias poderá ser resolvida com a sua utilização para produção de xilopódios para o processamento de picles.

Nas plântulas de umbuzeiro, aos 30 dias de idade a raiz principal atinge um comprimento em torno de 12 cm e um diâmetro na porção tuberculada de 20 mm (Lima, 1994). A partir desta fase, o xilopódio já pode ser utilizado para o processamento de picles, tornando-se assim, mais uma alternativa de aproveitamento do umbuzeiro, contribuindo para sua preservação e para melhoria das condições de vida dos agricultores, através da renda obtida com esta atividade.

Embora, o mercado para picles seja dominado, principalmente pelo picles da pupunheira (*Bactris gasipaes*) e do açaí (*Euterpe oleracea*), como também o picles do pepino (*Cucurbita sativus*), a baixa qualidade dos produtos comercializados e a falta de controle na industrialização e desuniformidade da matéria prima, têm causado perdas consideráveis para o setor (Miranda et al., 1996; Menezes, 1968).

Neste contexto, o picles do xilopódio do umbuzeiro, poderá ser uma alternativa para o aproveitamento pela

agroindústria processadora de picles e uma forma de utilização mais racional desta planta, visto que, a produção de picles está relacionada diretamente com o aproveitamento das sementes dos frutos utilizados nas indústrias processadoras de polpa.

Segundo Lima et al. (2000) recentemente, tem crescido o interesse pelos frutos e produtos de frutos, principalmente aqueles que apresentam em sua composição substâncias com atividade antioxidante, a exemplo dos carotenóides, vitamina C e flavonóides, que as caracterizam como alimentos funcionais. O fruto do umbuzeiro contém até uma concentração 14,5 mg/mL de ácido ascórbico, além de minerais, como potássio, cálcio, magnésio e fibras solúveis e insolúveis que ajudam na saúde do homem. Por outro lado, o xilopódio do umbuzeiro contém protéina, fibra bruta, extrato etéreo, tanino, amido, enxofre, fósforo, cálcio e magnésio (Lima, 1996).

Este trabalho teve como objetivo avaliar sensorialmente picles de xilopódios de plântulas de umbuzeiro aos 120 dias de crescimento, visando sua utilização pela pequena agroindústria da região semi-árida do Nordeste brasileiro.

Material e Métodos

Para realização do trabalho foram plantadas 310 sementes de umbu em canteiros com área de 3 x 1 m com 30 cm de profundidade com substrato de areia lavada em 5 repetições. Todas as sementes utilizadas para o plantio, num total de 1550, foram provenientes de uma mesma planta, evitando-se assim, possíveis variabilidades genéticas das sementes. O trabalho foi realizado no período de janeiro a dezembro de 2000 em uma área sob tela sombrite com redução de luz de 50%, em temperatura ambiente na Embrapa Semi-Árido em Petrolina - PE, situada a 9° 24' 38"S e 40° 29' 56"W, a uma altitude de 377mm. O local tem as seguintes médias anuais: temperatura 26°C, umidade relativa do ar 60% e precipitação 391,5 mm (Embrapa, 1993). Os canteiros foram irrigados diariamente com uma lâmina de água de 0,75 mm durante o período de desenvolvimento das mudas. Quando as plântulas completaram 120 dias de crescimento, foram colhidas e retirado os xilopódios. Para o processamento do picles foi estabelecido o seguinte fluxograma: colheita das plantas, lavagem em água corrente por 5 minutos, corte do xilopódio, retirada da casca do xilopódio, lavagem do xilopódio em água clorada por 30 minutos, classificação, acondicionamento em vidros, adição da salmoura, branqueamento em água (80°C) por 30 minutos e tratamento térmico por 40 minutos em banho maria a 96°C. Para o processamento do picles, utilizou-se uma salmoura preparada com: a)

50 g de sal comum (NaCl) a 2,5% e 10g de ácido cítrico a 0,5%; e b) 50 g de sal comum (NaCl) a 2,5% e 10 g de ácido ascórbico (0,5%), adicionados cada um a 2000 mL de água. A formulação dessa salmoura está de acordo com as normas para manutenção de um pH abaixo de 4,6 o que evita um dos problemas mais importantes para a indústria de picles que é o pH da salmoura, que na maioria dos casos é superior a 4,6 o que pode favorecer o desenvolvimento de toxinas pelo *Clostridium botulinum*, causando graves danos à saúde pública (Ferreira, 1978; Hale et al., 1978; Quast et al., 1975).

Para o acondicionamento foram utilizados vidros com capacidade de 500 mL, contendo em média 333,3 g de salmoura e 166,7 g de xilopódio. Após o preparo do picles, este foi armazenado em temperatura ambiente por trinta dias, quando foram submetidos à análise sensorial através de testes de degustação por uma equipe de 84 consumidores de picles, para avaliação da aparência, sabor e textura, utilizando-se uma escala hedônica recomendada por Moraes (1985; 1990) com os seguintes atributos: (1- desgostei muitíssimo, 2- desgostei muito, 3 - desgostei regularmente, 4 - desgostei ligeiramente, 5 - indiferente, 6 - gostei ligeiramente, 7- gostei regularmente, 8 - gostei muito, 9 - gostei muitíssimo). Os tratamentos estudados foram três diferentes formas de apertização: 1) picles do xilopódio “in natura”, 2) picles com salmoura de 2,5% de sal comum + 0,5% de ácido cítrico e, 3) picles processado com salmoura de 2,5% de sal comum + 0,5% de ácido ascórbico. Para análise dos dados, utilizou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três tratamentos e quatro repetições, visando a obtenção de uma estimativa mais razoável da variância residual.

Efetuou-se a análise de variância dos dados obtidos e na comparação de médias usou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o SAS (SAS Institute, 1990).

Resultados e Discussão

Na Figura 1 pode-se observar o desenvolvimento das plântulas de umbuzeiro utilizadas para o processamento dos picles aos 120 dias de crescimento. A altura média das plântulas foi de 76,8 cm, com um diâmetro basal do caule de 0,84 cm. Os xilopódios apresentaram um tamanho médio de 15,0 cm, com diâmetro variando entre 2,6 a 3,2 cm. Quanto ao peso, em média, os xilopódios pesaram aproximadamente 43,0 g. Esses valores referentes as dimensões das plântulas são semelhantes aos encontrados por Silva e Silva (1974); Mendes (1990) e Lima (1994). O tamanho dos xilopódios, permitiu o corte de toletes com 9 cm, aproximadamente,



Figura 1. Plântulas de umbuzeiro aos 120 dias de crescimento. Petrolina, PE, 2000.

que é um tamanho adequado para o processamento de picles (Miranda et al., 1996).

Comparando os resultados do desenvolvimento dos xilopódios das plântulas de umbuzeiro aos 120 dias, com o tempo que a pupunheira e o açaí levam para produzir o palmito, aproximadamente de dois anos (Araújo, 1990), pode-se afirmar que o picles processado com o xilopódio do umbuzeiro, poderá trazer vantagens econômicas para a indústria processadora de palmito e picles.

O histograma representando a aceitação dos provadores, em termos de aparência, sabor e textura do xilopódio “in natura” é apresentado na Figura 2. Pode observar-se que 41,7% dos provadores indicaram o atributo “gostei muito” para à aparência e 23,3% foram indiferentes em relação ao sabor. Quanto a textura, o picles do xilopódio “in natura” apresentou uma maior dureza, o que dificultou sua mastigabilidade pelos degustadores, dos quais, 51,7% indicaram o atributo “desgostei

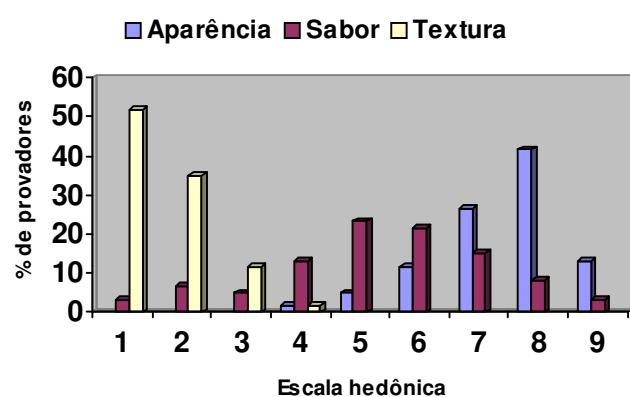


Figura 2. Distribuição da aceitação para aparência, sabor e textura do picles do xilopódio do umbuzeiro “in natura”. Petrolina, PE, 2000.

muitíssimo". Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Isepon et al. (1997) em relação a textura do picles de couve-flor. Essa pouca aceitação do xilopódio "in natura" devido a sua dureza, corrobora a afirmação de Chitarra (1998) de que a textura é um dos atributos de qualidade mais importante para aceitação ou rejeição de um produto.

O picles processado com ácido cítrico (Figura 3), obteve a maior pontuação para a textura, com 50% dos provadores indicando o atributo "gostei regularmente". Quanto a aparência e o sabor, 21,7% dos provadores indicaram o atributo "gostei muito" para essas características. Esses resultados indicam que o processamento do picles, altera de forma positiva as suas características organolépticas, com destaque para a textura, onde o processamento proporcionou uma menor dureza do picles, que possibilitou melhor mastigabilidade pelos degustadores. Esses atributos, também foram encontrados por Amerine et al. (1965), Larmond (1987) e Monteiro (1984) quando avaliaram à aceitação de produtos utilizando a escala hedônica.

O picles do xilopódio processado com ácido ascórbico (Figura 4), obteve a maior pontuação para a textura, com 40% do provadores indicando o atributo "gostei muito". Para à aparência e o sabor, 36,7 e 38,3% dos provadores, respectivamente, indicaram o atributo "gostei regularmente". Outros 6,7% dos degustadores, indicaram o atributo "gostei muitíssimo" para o sabor.

O pH, nos tratamentos 2 e 3, foi de 4,1 e 4,0, respectivamente, portanto ideal, uma vez que estes valores situam-se abaixo de 4,6 que é o valor adequado para eliminar o risco de produção de toxinas pelo *Clostridium botulinum* (Quast et al., 1975).

Os resultados da análise de variância quanto à

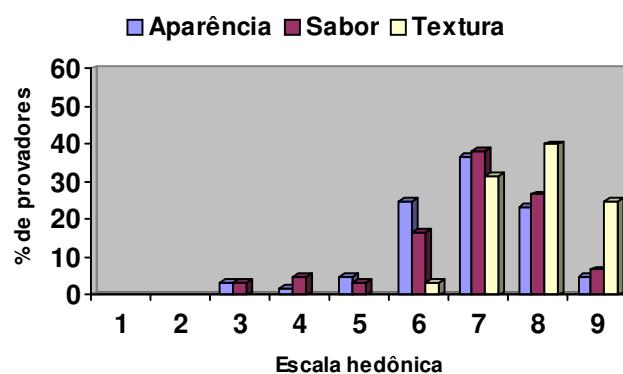


Figura 4. Distribuição da aceitação para aparência, sabor e textura do picles do xilopódio do umbuzeiro processado com ácido ascórbico. Petrolina, PE, 2000.

preferência dos provadores em relação à aparência, ao sabor e textura dos picles, são apresentados na Tabela 1. Observou-se que, em relação à aparência, não houve diferença significativa entre os picles, mesmo que, o picles do xilopódio "in natura" tenha obtido a maior média. Quanto ao sabor, os picles processados com ácido cítrico e ascórbico, obtiveram as maiores médias, sendo o picles processado com ácido ascórbico o mais preferido pelos degustadores. O picles processado com ácido ascórbico, proporcionou um sabor mais salgado, e obteve a maior preferência dos provadores. Já o sabor do picles processado com ácido cítrico, apresentou um sabor ligeiramente salgado. Por outro lado, picles com xilopódio "in natura" apresentou um sabor mais adocicado, para qual os degustadores apresentaram certa indiferença. Em relação à textura, foram detectadas diferenças

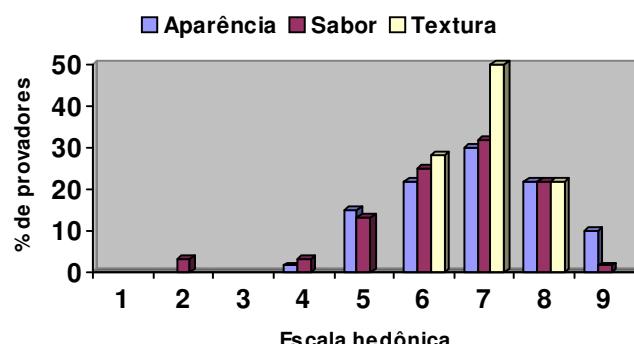


Figura 3. Distribuição da aceitação para aparência, sabor e textura do picles do xilopódio do umbuzeiro processado com ácido cítrico. Petrolina, PE, 2000.

Tabela 1. Valores médios da preferência dos picles do xilopódio do umbuzeiro para os atributos de aparência, sabor e textura. Petrolina, PE, 2001.

Tipo de picles	Parâmetros avaliados		
	aparência	sabor	textura
"in natura"	7,28 a*	4,13 c	5,11 b
Com ácido cítrico	6,38 a	7,23 b	5,48 ab
Com ácido ascórbico	6,95 a	8,33 a	5,66 a
Média	6,87	6,56	5,42
C.V. (%)	7,92	4,46	3,73
Desvio-padrão	0,18	0,63	0,97

* As médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

significativas entre o picles “in natura” e os processados com os ácidos, quanto à dureza e mastigabilidade, embora essas diferenças sejam pequenas estatisticamente, na avaliação sensorial, a textura do xilopódio “in natura” foi determinante para a não aceitação do mesmo pelos degustadores.

Esses resultados demonstraram que a análise sensorial através dos testes de degustação, ajuda a determinar a preferência dos clientes, em relação aos diferentes tipos de picles do xilopódio do umbuzeiro que venham a ser produzidos pelos agricultores.

Conclusões

1. O picles do xilopódio do umbuzeiro obtido de plantas aos 120 dias de crescimento, processado com salmoura de 2,5% de sal comum e 0,5% de ácido ascórbico foi o preferido pelos provadores, seguido do picles processado com a salmoura de 2,5% de sal e 0,5% de ácido cítrico.

2. O xilopódio “in natura” não obteve boa aceitação quanto a textura. Nesta forma de apresentação a consistência do xilopódio não permite uma boa mastigabilidade. No entanto, houve um percentual significativo de provadores que gostaram da aparência e do sabor desta forma de utilização do xilopódio.

Literatura Citada

- ANJOS, J. B. 1999. Extrator de sucos vegetais a vapor. Petrolina, Embrapa-CPATSA. Comunicado Técnico, 85. 3p.
- ARAÚJO, F. P. et al. 2000. Avaliação do índice de pegamento de enxertos de espécies de spondias em plantas adultas de umbuzeiro. Petrolina, Embrapa-CPATSA. Pesquisa em Andamento n° 100. 4p.
- ARAÚJO, I. C. 1990. A agroindústria da pupunha: uma oportunidade econômica para o Estado do Amazonas. Manaus, SUFRAMA. 27p.
- AMERINE, M. A.; PANGBOORN, R. M.; ROESSLER, E. B. 1965. Principles of sensory evaluation of food. New York, Academic Press. 602p.
- CHITARRA, M. I. F. 1998. Processamento mínimo de frutos e hortaliças. Viçosa, Centro de Produções Técnicas. 88p.
- EMBRAPA. CENTRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO TRÓPICO SEMI-ÁRIDO. 1993. Relatório técnico. 1979-1990. Petrolina. 175p.
- FERREIRA, V. L. 1978. Codex Alimentarius - O desenvolvimento do padrão para o palmito em conserva. Campinas, ITAL. Boletim nº 56: 51-63.
- HALE, J. F.; FERREIRA, V. L. P.; MADI, L. F. C. 1978. Determinações dos atributos de qualidade do palmito acondicionado em latas e vidros. Campinas, ITAL. Boletim nº 56: 93-113.
- ISEPON, J. S. et al. 1997. Avaliação sensorial de picles de couve-flor (*Brassica oleracea* var. *Botrytis*): diferentes cultivares. In: Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2, Campinas. Resumos. Campinas, ITAL. p.178.
- LARMOND, E. 1987. Laboratory methods for sensory evaluation of food. Ontario, Agriculture Canada. 74p.
- LIMA, J. L. S. 1996. Plantas forrageiras das caatingas - usos e potencialidades. Petrolina, Embrapa-CPATSA/PNE/RBG-KEW. 44p.
- LIMA, L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, L. S.; NASCIMENTO, P. P. 2000. Caracterização físico-química e sensorial de pitanga roxa. Revista Brasileira de Fruticultura 22(3): 382-385.
- LIMA, R. S. 1994. Estudo Morfo-anatômico do sistema radicular de cinco espécies arbóreas de uma área de Caatinga do município de Alagoinha-PE. Tese Mestrado. Recife, UFRPE. 103 p.
- MENDES, B. V. 1990. Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.): importante fruteira do semi-árido. Mossoró, ESAM. 66p. il. (ESAM. Coleção Mossoroense, Série C - v. 554).
- MENEZES, T. J. B. 1968. Fabricação de picles. Revista Alimentos e Bebidas 1: 12-15.
- MIRANDA, R. M. et al. 1996. Vida de prateleira do palmito de pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K.) processado em três tempos de apertização. Manaus, Embrapa-CPAA. Boletim de Pesquisa nº 1. 17p.
- MONTEIRO, C. L. B. 1984. Técnicas de avaliação sensorial. 2ed. Curitiba, UFPR/CEPPA. 101p.
- MORAES, M. A. C. 1985. Métodos para avaliação sensorial dos alimentos. Campinas, UNICAMP. 89p.
- MORAES, M. A. C. 1990. Métodos para avaliação sensorial dos alimentos. Campinas, UNICAMP. 93p.

- QUAST, D. G.; ZAPATA, M. M.; BERNHARD, L. W. 1975. Estudos preliminares sobre a penetração da acidez no palmito enlatado. Campinas, ITAL. Coletânea, v. 6. pp.341-349.
- SILVA, A. Q.; SILVA, M. A. G. 1974. Observações morfológicas e fisiológicas sobre *Spondias* *tuberosa* Arr. Cam. In: Congresso Nacional de Botânica, 23, Mossoró, RN. pp. 5-15.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. 1990. SAS language guide for personal, computers: release 6.2. ed. Cary, NC. 319p.



CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO FRUTO E QUÍMICA DA ÁGUA DE COCO EM CULTIVARES DE COQUEIRO ANÃO

Wilson Menezes Aragão¹, Elizangela Mércia de Oliveira Cruz² e Jaqueline Santos Helvécio³

¹Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira-Mar, 3250, Caixa Postal 44, 49001-970, Aracaju, Sergipe, Brasil. E-mail: wilson@cpatc.embrapa.br. ²Bolsista CNPq. ³Universidade Tiradentes.

Este trabalho objetivou efetuar a caracterização morfológica dos componentes do fruto e a composição química da água de coco, em cultivares de coqueiro anão. O ensaio foi conduzido no Banco Ativo de Germoplasma de Coco (BAG de coco) – EMBRAPA/CPATC, empregando as seguintes cultivares de anão: Amarelo de Gramame (AAG), Amarelo da Malásia (AAM), Verde de Jiqui (AVeJ), Vermelho de Camarões (AVC), Vermelho de Gramame (AVG) e Vermelho da Malásia (AVM). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 15 repetições e os tratamentos acima citados, para as avaliações de cada componente do fruto, foi estimada a equação de regressão. Para avaliação da composição química da água empregou-se apenas as cultivares AAG, AVC e AVeJ nas idades de 4 a 12 meses. As curvas de crescimento do fruto e de seus componentes caracterizou-se como do segundo grau. Os maiores pesos do fruto e volume da água, e teores mais elevados, principalmente da frutose, glicose e grau Brix, nos frutos de seis meses de idade, são indicativos importantes de que o ponto ideal da colheita do fruto verde para consumo da água, é nessa idade. As cultivares de coqueiro anão produzem baixa quantidade de albúmen sólido. O endocarpo dos anões amarelos e do AVG são os mais finos. O AVC produz menos fibra. AVeJ e os anões vermelhos produzem maiores quantidades de água nos frutos nas idades de 6 e 7 meses. A água de coco é pobre em proteína e rica em minerais, principalmente, em potássio.

Palavras-chave: componentes do fruto, composição química, nutrientes; ponto ideal de colheita, fruto verde.

Morphological characterization of the fruit and chemistry of the coconut water in cultivars of dwarf coconut trees. This work aimed to characterize the morphology of the fruit components and the chemical composition of the coconut water, in cultivars of dwarf coconut trees. The experiment was done in the Active Bank of Germoplasm of Coconut (Coconut BAG) - EMBRAPA/CPATC, using the following types of cultivars: Yellow of Gramame (AAG), Yellow of Malaysia (AAM), Green of Jiqui (AVeJ), Red of Cameroon (AVC), Red of Gramame (AVG) and Red of Malaysia (AVM). The experimental design was entirely randomized with 15 replications and the treatments as above mentioned. For evaluations of each component of the fruit, it was estimated the regression equation. The chemical composition of the water was evaluated only for cultivars AAG, AVC and AVeJ in the ages of 4 to 12 months old. The growth curves of the fruit and of its components was characterized as of the second degree. The highest weights of the fruit and volume of the water, and higher contents of fructose, glucose and the Brix degree, in the fruits six months old, is an important indicative that the ideal point of harvest of the green fruit for consumption of water, is in that age. The dwarf coconut tree cultivars produce low amount of pulp. The shell of the yellow dwarf and AVG are the thinnest. AVC produces less fiber. AVeJ and the red dwarfs produce larger amount of water in the fruits in the ages of 6 and 7 months. The coconut water is poor in protein and rich in minerals, mainly, in potassium.

Key words: components of the fruit, chemical composition, nutrients, ideal point of harvest.

Introdução

O coqueiro é uma espécie diplóide ($2n = 32$), que provavelmente originou - se no sudeste asiático. Segundo evidências históricas, o coqueiro anão, foi introduzido no Brasil, pelos portugueses, por volta de 1553, procedente da ilha de Cabo Verde. Atualmente é cultivado em 86 países, distribuídos entre as latitudes 20° N e 20° S. (Presley, 1992).

Considerada a “árvore da vida” por suas múltiplas aplicações, é fonte de alimento, habitação, energia, cosméticos, etc. Praticamente toda a planta é utilizada: raiz, estipe, folhas, inflorescência e fruto (Cuenca, 1994). Seus principais produtos, entretanto, são provenientes do fruto, o qual é constituído de cinco partes principais: casca, fibras, coque, polpa (álbúmen sólido) e água (álbúmen líquido).

A casca tem diversas utilizações, como a extração de filmes de diamante a partir do seu carvão, que prolonga a vida útil de ferramentas e componentes eletrônicos (Zona Oeste - O Globo, 1994). Além de que uma substância extraída é capaz de reduzir em até mil vezes a quantidade de partículas radioativas no organismo de pessoas contaminadas por radiação nuclear (Adeodato, 1995).

As fibras por terem diferentes tamanhos servem para diferentes fins: vestuário, tapetes, sacaria, colchões, almofadas, pincéis, etc. (Cuenca, 1994). O IPT desenvolveu uma técnica para a construção de casas populares, reforçando as placas de cimento com fibras de coco, cujo custo foi 20% menor e a resistência das paredes três vezes maior que as construídas normalmente. Também é utilizada na confecção de estofamento de carros, cordas e capachos, além de aquecer caldeiras e suas cinzas serem usadas como adubo. Existe uma variação do xaxim, que é o coxim, com duas vantagens: preservação das samambaias gigantes, e sua ação bactericida (Adeodato, 1995).

O endocarpo (coque) é utilizado na produção de carvões para gasogênio, desodorante e ativado. O coque metalúrgico, pelo seu alto valor calorífico e baixo teor de cinzas viabiliza seu uso na ourivesaria, metalurgia e indústria artesanal, em substituição ao carvão mineral (Cuenca, 1994).

O álbúmen sólido (polpa) é a parte mais importante do ponto de vista econômico, tendo grande aplicação na culinária, indústria alimentícia (óleo, leite de coco, farinha de coco, doces, caramelos); matéria prima para refinarias de óleos, com um rendimento de ate 60%. Da copra, pode-se extrair ainda: combustíveis, fluidos para freios, resinas sintéticas, agente plastificador de vidros de segurança; na indústria de sabões, por suas características

espumante, bactericida e biodegradável; na fabricação de álcool, por ter alto teor de ácidos láuricos e ácidos saturados de menor peso molecular (Zona Oeste - O Globo, 1994). Os resíduos industriais (torta de coco), que chegam a 40%, são utilizado para ração animal e adubos orgânicos.

A água de coco é o líquido encontrado dentro da cavidade do coco, que começa a se formar em média dois meses depois da abertura natural da inflorescência, e atinge seu volume máximo nos frutos com idades entre 6 e 7 meses (cerca de 300 a 600ml de água, dependendo da variedade). O volume decresce com a formação do álbúmen sólido e a evaporação. A água de coco é mantida no interior do fruto à pressão de 4 a 5 atmosferas (Fremond et al., 1966). É uma bebida leve, refrescante, pouco calórica e possui sais minerais, tendo em média a seguinte composição: 18,1 calorias; 4,7 mg glicose; 0,37 mg proteínas; 32 mg de Na; 144 mg de K. Devido ao seu grande teor em potássio, é indicada para pessoas com grande desgaste físico (Fortes, 1993).

No Brasil, a água de coco é grandemente consumida “in natura”, já em países que processam a copra, a água não é utilizada e torna-se um problema, por ser lançada nos rios, causando grande poluição, pois os sólidos dissolvidos servem de substrato para vários microrganismos, afetando o solo de maneira negativa, prejudicando o desenvolvimento das plantas nestes rios e têm efeitos deletérios sobre as plantas cultivadas (Rosario, 1979).

Atualmente o consumo de água de coco vem aumentando, em áreas como: alimentação, medicina, biotecnologia.

Nunes (1995), conseguiu desenvolver o GPY, na Universidade Estadual do Ceará, que é um diluente e conservante de sêmen, extraído de substancia ativa da água de coco, que não só aumentam a vida útil do sêmen de cabras de 24 para 48 horas a 4°C, mas também a mobilidade dos espermatozoides. A substancia que promove a conservação é um hormônio vegetal: ácido indol-acético. Já em sêmen de abelhas, a conservação passou de 3 horas para 5 meses (Adeodato, 1995).

A água de coco é capaz de manter a longevidade de células, como córneas humanas para transplante, culturas de tecidos, meio de cultura para vírus e bactérias e para a obtenção de vacinas contra febre aftosa, raiva e leishmaniose. Serve de meio de cultura para células vegetais como embriões, raízes, hastes, endospremas e pólens (Marques, 1976). A água do fruto verde, contém substâncias promotoras de crescimento, e cerca de 5% de carboidratos, principalmente açúcares (De Martin, 1980). Foram isoladas e identificadas substâncias como citocininas endógenas e a presença de zeatinaribosídeo,

além do ácido Indol-3-acético, pertencente ao grupo das auxinas, sendo substância com atividade hormonal estimuladora de crescimento de vegetais e que possui ação sobre o metabolismo de espermatozoides, e duas giberelinas (Nunes, 1995).

A densidade da água de coco é semelhante a do plasma sanguíneo, podendo ser usada como infusão intravenosa em casos de desidratação grave ou gastroenterites, devido ao seu pH favorável, presença de aminoácidos essenciais, vitaminas do complexo B, ácido ascórbico e eletrólitos diversos (Marques, 1976). Por isso foi usada durante a Segunda Guerra, como soro fisiológico, para reequilibrar os líquidos do organismo durante as cirurgias de emergência (Adeodato, 1995).

Alguns países onde o déficit nutricional é alto a água de coco é utilizada como substituta de produtos protéicos. Numa análise comparativa entre os aminoácidos do leite e da água de coco, observa-se a semelhança de composição de ambos. Foi notada maior porcentagem de arginina, alanina, cistina e serina na água de coco, e, em menores proporções, outros aminoácidos. O coco tem a vantagem de existir naturalmente em grandes quantidades em países onde a desnutrição é prevalente. Na Índia ocorre o uso da neera (água de coco fermentada), é utilizada como suplemento protéico, na refeição escolar, tendo sido observado um aumento no rendimento escolar e na estatura das crianças (Marques, 1976).

Apesar dessa múltipla importância, tanto do coco verde como do coco seco, praticamente inexistem informações sobre o crescimento do fruto do coqueiro e de seus componentes bem como da composição química da água de coco, desde o momento da abertura natural da inflorescência e da polinização até a sua colheita, o que se constitui no objetivo deste trabalho.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Banco Ativo de Germoplasma de Coco (BAG - Coco) localizado no Campo Experimental Betume da EMBRAPA/CPATC, município de Neópolis/SE, empregando as cultivares de coqueiro anão: Amarelo de Gramame (AAG), Amarelo da Malásia (AAM), Verde de Jiqui (AVeJ), Vermelho de Camarões (AVC), Vermelho de Gramame (AVG) e Vermelho da Malásia (AVM).

O município de Neópolis apresenta clima do tipo As, segundo a classificação de Köepen, com precipitação média anual de 1250 mm, distribuída em torno de 85% e 15% nas épocas chuvosa e seca respectivamente. O solo

da área experimental é areia quartzoza, com baixa fertilidade natural.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 15 repetições (plantas) e 6 tratamentos (cultivares).

Para as avaliações foram coletados três frutos por cacho, nas idades de 1 a 12 meses as quais consistiram na determinação do peso do fruto e da fibra; espessura e peso do coque; espessura e peso do albúmen sólido e volume do albúmen líquido. Para a análise estatística foi utilizada a média das observações de três frutos, nas 15 plantas, a cada mês, para cada caráter avaliado. Além disso foi determinada a curva de regressão (Gomes, 1985), para cada caráter.

Para as análises químicas da água de coco, foram utilizados frutos de uma planta, apenas das cultivares: AAG, AVeJ e AVC, nas idades de 4 a 12 meses. Estas foram realizadas no laboratório da Embrapa/CTAA, com as seguintes determinações: acidez (método titulométrico utilizando hidróxido de sódio e indicador fenolftaleína), pH (leitura direta em pHmetro Metronal E-120, utilizando soluções tampão de referência Merck, pH 4,0 e pH 7,0), sólidos solúveis totais (leitura direta em refratômetro Bellingham + Stanley Limited, com escala em graus Brix), sólidos totais (secagem em estufa a vácuo a 70°C) (Instituto Adolfo Lutz, 1985), sacarose, glicose, frutose (quantificação de glicose, frutose e sacarose por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando-se padrões externos. Condições de análise: coluna: Waters, fase móvel: acetonitrila-água (1:1), detetor por índice de refração, volume: 20mL e fluxo de 1,0 ml/min (MACRAE, 1988), proteína (método de Kjeldahl – processo semimicro) (A. O. A. C., 1970), cálcio, potássio, sódio, fósforo e magnésio.

Resultados e Discussão

O peso do fruto do coqueiro anão (Tabela 1) tem aumento até o sétimo mês de idade, ocorrendo a partir daí um decréscimo, independentemente da cultivar considerada, se constituindo portanto, em regressões do segundo grau (Figura 1). Esta regressão é explicada pelo R^2 alto e significativo estimado para cada equação.

Só os pesos do AVeJ no meses 6, 7 e 12, AVM no meses 7 e 12, AVG no meses 6 e 12 e do AAM no mês 7, foram superiores em relação a média geral do peso do fruto dos anões nessas idades. Os pesos dos frutos dos anões AVC e AAG nessas idades e do AAG nas idades de 6 e 12 meses foram inferiores a essas médias.

O peso do fruto seco, aos 12 meses de idade, representa para os anões AAM (612,74 para 1749,77),

Tabela 1 - Dados de peso de frutos de cultivares de coqueiro anão nas idades de 1 a 12 meses. Aracaju/SE, 2000.

Idades (meses)	AAM	AVC	AAG	AVG	AVM	AVeJ	Médias
1	-	-	15,79	53,08	-	16,59	28,49
2	39,78	-	74,68	64,44	-	52,71	57,90
3	181,51	-	180,90	239,29	214,48	165,03	196,24
4	463,45	121,80	498,74	554,70	635,68	534,18	468,09
5	882,89	735,21	909,67	955,83	1141,50	1192,69	969,63
6	1325,21	1100,43	1285,48	1479,01	1347,10	1616,27	1358,92
7	1749,77	1426,29	1270,44	1483,94	1663,68	1759,70	1558,97
8	1007,38	1392,29	1146,58	1240,82	1532,42	1626,29	1324,30
9	900,19	940,17	889,20	1088,35	1181,88	1306,09	1050,98
10	769,08	820,50	804,18	975,49	1175,00	1004,16	924,73
11	737,02	695,54	796,85	1014,98	932,61	923,03	850,00
12	612,74	652,99	793,52	784,29	948,38	830,10	770,34
Desvio	484,77	402,78	441,03	502,00	424,97	618,98	

AVC (652,99 para 1426,29), AVeJ (830,10 para 1759,70), AVG (784,29 para 1483,94), AVM (941,38 para 1663,68) e AAG (793,52 para 1270,44), apenas 35%, 45,8%, 47,2%, 52,8%, 57% e 62,5%, respectivamente, em relação aos frutos com 7 meses de idade.

Tanto a fibra como o endocarpo do fruto, começam a se formar imediatamente após os fenômenos de polinização, fecundação e fertilização da flor feminina. Entretanto, nesses primeiros momentos, até em torno de cinco meses de idade, tanto a fibra quanto o endocarpo, são formados por tecidos bastante tenros, tornando difícil a sua separação mecânica. Só em torno do sexto mês de

idade, é que isto pode ocorrer, tornando possível as determinações dos pesos da fibra (Tabela 2) e do coque (Tabela 3).

O peso da fibra (Tabela 2), apresenta um comportamento semelhante ao verificado para o peso do fruto (Tabela 1), isto é, os maiores pesos de fibra ocorrem principalmente nos frutos com idades de seis e sete meses, decrescendo a partir do oitavo mês, se constituindo também em uma regressão do segundo grau (Figura 2). Neste caso, no entanto, os R^2 estimados para as equações representativas do AVC e do AAM foram relativamente baixas.

A perda de peso da fibra é ocasionado principalmente pela perda de umidade a medida que o fruto amadurece, sendo também um dos responsáveis pela perda de peso do próprio fruto.

O peso da fibra nos frutos maduros (frutos com doze meses) em relação ao peso dos frutos com sete meses, do AAM, AVC, AVeJ, AAG e AVM, foi de apenas 22,2%, 32,7%, 34,2%, 34,3%, 39,5% e 43,5%, sendo considerada uma redução muito grande de peso, inclusive, bem maior fica a perda de peso do fruto. Observa-se ainda na Tabela 2, que o menor peso da fibra tanto a sete meses quanto a doze meses ocorreram principalmente no AVC.

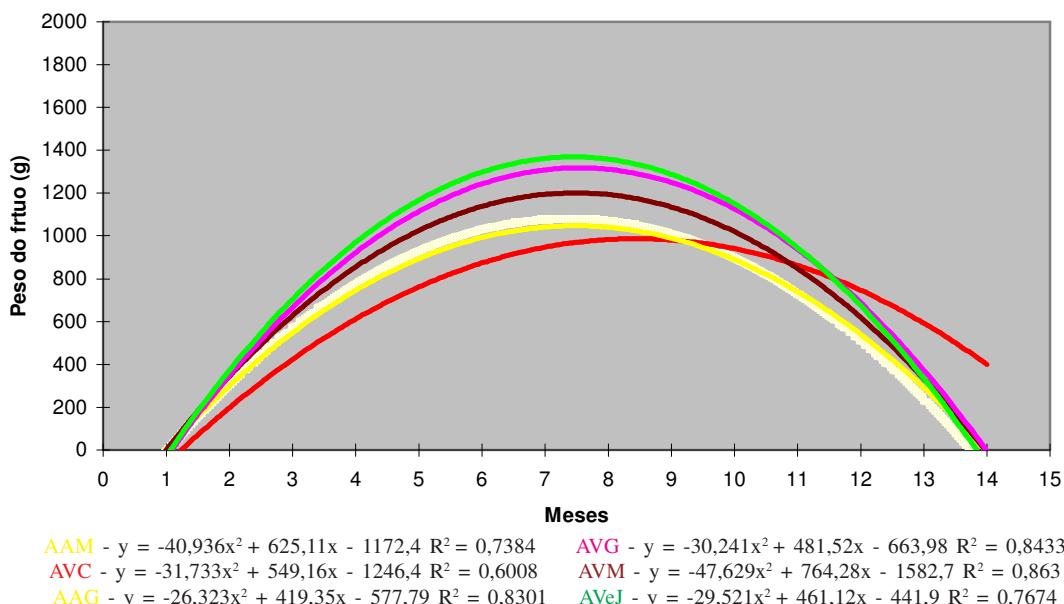


Figura 1 - Curva de regressão do peso do fruto de coqueiro anão. Aracaju/SE, 2000.

Tabela 2 – Dados de peso de fibra de frutos de cultivares de coqueiro anão nas idades de 6 a 12 meses. Aracaju/SE, 2000.

Idade (meses)	AAM	AVC	AAG	AVG	AVM	AVeJ	Médias
1	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-
6	862,14	-	894,07	907,37	769,91	1046,27	895,95
7	1285,22	770,4	798,6	934,2	1100,67	1169,79	1009,81
8	632,27	820,95	698,26	793,11	978,18	1044,66	827,90
9	527,51	403,71	478,45	613,14	700,70	849,18	595,45
10	394,60	384,49	428,00	525,33	711,91	615,14	509,91
11	363,09	313,32	406,03	527,00	501,58	518,35	438,23
12	285,05	263,74	318,78	299,00	479,23	408,70	342,42
Desvio	350,91	240,46	220,65	231,80	228,89	296,06	

A relação de peso do coque (Tabela 3) nas idades iniciais em relação ao coque seco, com doze meses, foi pequeno, principalmente quando comparado as perdas de peso do fruto e da fibra, sendo de 0,8%, 2,6%, 6,9%, 16,3%, 29,4% e 35,7%, respectivamente, para o AAM, AAG, AVM, AVG, AVC, e AVeJ. Apesar disto, a curva de regressão foi caracterizada como do segundo grau. E com altos valores para R^2 , independentemente da cultivar (Figura 3).

Já sobre a espessura do coque (Tabela 4) ocorre uma ligeira elevação da mesma entre as idades iniciais e o estágio de fruto seco, independentemente da cultivar, caracterizando normalmente uma equação do segundo grau, o que é comprovada pelo R^2 altos,

estimados para cada equação de regressão de cada cultivar (Figura 4).

Observa-se ainda na Tabela 4, que as menores espessuras do coque ocorreram nos anões amarelos e no AVG, sendo isto provavelmente, responsável pela grande quebra de frutos dos híbridos obtidos de cruzamentos envolvendo o anão amarelo, durante o seu transporte.

A noz do coqueiro é formada por um tegumento marrom de pequena espessura, é rico em óleo, situado logo abaixo do endocarpo, que envolve o albúmen sólido (polpa ou carne do coqueiro) e o albúmen líquido ou água de coco.

Tabela 3 – Dados do peso do coque de frutos de cultivares de coqueiro anão nas idades de 6 e 12 meses. Aracaju/SE, 2000.

Idade (meses)	AAM	AVC	AAG	AVG	AVM	AVeJ	Médias
1	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-
6	87,10	-	146,73	126,38	83,85	92,90	107,39
7	80,91	132,41	87,30	123,02	108,81	149,24	113,62
8	85,49	130,92	101,17	103,75	127,70	133,80	113,80
9	80,18	124,51	86,80	116,22	103,14	111,67	103,75
10	92,80	106,16	77,61	103,84	110,53	101,02	98,66
11	89,38	95,88	74,65	104,56	113,40	100,86	96,45
12	80,30	93,56	85,00	102,96	101,31	96,02	93,19
Desvio	4,94	17,57	24,67	10,13	13,34	21,32	

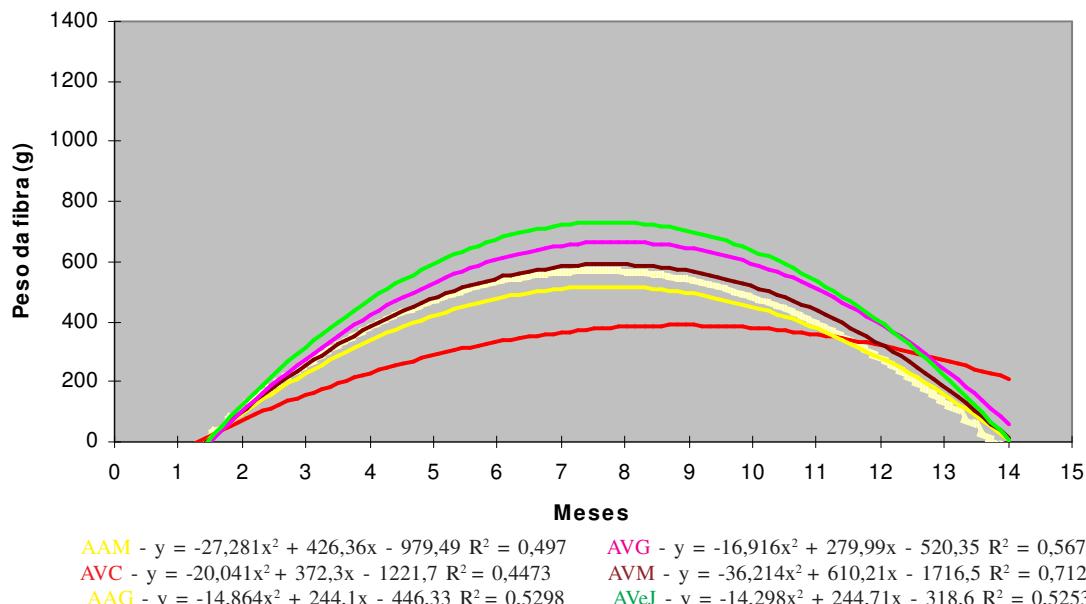
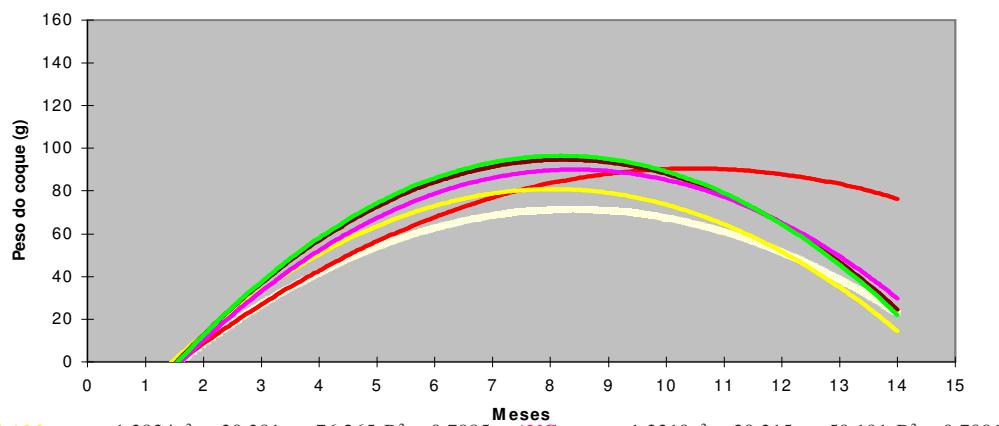


Figura 2 - Curva de regressão do peso da fibra de frutos de coqueiro anão. Aracaju/SE, 2000.

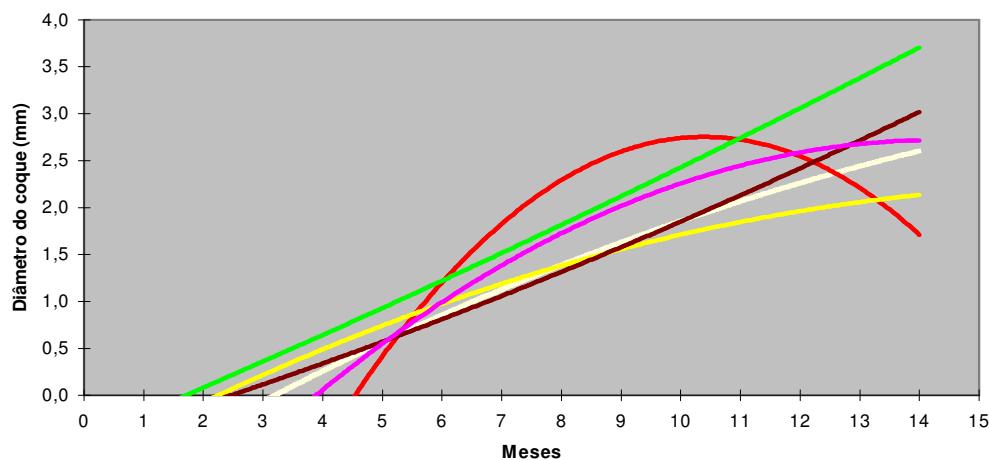


AAM - $y = -1,3934x^2 + 30,381x - 76,265 R^2 = 0,7885$ **AVG** - $y = -1,3319x^2 + 30,215x - 59,191 R^2 = 0,7091$
AVC - $y = -4,3548x^2 + 84,872x - 294,31 R^2 = 0,7298$ **AVM** - $y = -2,9655x^2 + 58,633x - 173,6 R^2 = 0,8434$
AAG - $y = -1,4939x^2 + 29,31x - 54,655 R^2 = 0,5746$ **AVeJ** - $y = -0,8557x^2 + 22,556x - 32,128 R^2 = 0,6668$

Figura 3 - Curva de regressão do peso do coque de frutos de coqueiro anão. Aracaju/SE, 2000.

Tabela 4 – Dados da espessura de coque de frutos de cultivares de coqueiro anão nas idades de 6 a 12 meses. Aracaju/SE, 2000.

Idade (meses)	AAM	AVC	AAG	AVG	AVM	AVeJ	Médias
1	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-
6	0,30	-	1,50	0,61	0,33	1,06	0,76
7	1,33	2,67	1,32	1,53	1,48	2,47	1,80
8	2,01	2,74	1,97	1,59	2,33	2,63	2,21
9	1,92	2,78	1,61	1,91	2,40	2,53	2,19
10	2,02	2,67	1,70	2,00	2,25	2,32	2,16
11	2,05	2,51	1,73	2,01	2,35	2,72	2,23
12	1,90	2,18	1,80	2,14	2,40	2,53	2,16
Desvio	0,64	0,22	0,21	0,52	0,78	0,57	



AAM - $y = -0,008x^2 + 0,3779x - 1,1275 R^2 = 0,8373$ **AVG** - $y = 0,004x^2 + 0,1951x - 0,5047 R^2 = 0,8866$
AVC - $y = -0,0803x^2 + 1,6688x - 5,9213 R^2 = 0,7819$ **AVM** - $y = -0,0251x^2 + 0,718x - 2,4104 R^2 = 0,8654$
AAG - $y = -0,0098x^2 + 0,3404x - 0,7147 R^2 = 0,7985$ **AVeJ** - $y = 0,0021x^2 + 0,2677x - 0,4621 R^2 = 0,8081$

Figura 4 - Curva de regressão da espessura do coque de frutos de coqueiro anão. Aracaju/SE, 2000.

A polpa começa a se formar entre o quinto e o sexto mês (Tabela 5), sendo nesse período de aspecto gelatinoso e bastante apreciada para consumo “in natura”. A partir de um mês após a sua formação começa a solidificar, aumento normalmente, tanto em peso (Tabela 5), como em espessura (Tabela 6) até a completa maturação do fruto.

A curva de regressão tanto do peso quanto da espessura são de segundo grau, conforme estimativa do R^2 para cada equação (Figuras 5 e 6).

O peso da polpa dos anões na idade de doze meses, em média 209,8g é muito baixa, por isso é rejeitada pelas agroindústrias de alimentos. Estas exigem um rendimento mínimo de 400g de polpa/fruto.

A água de coco começa a se formar em torno de dois meses após a polinização, fecundação e fertilização da flor feminina, aumentando a partir daí até os seis e sete meses e decrescendo em seguida a medida que o fruto vai amadurecendo (Tabela 7), caracterizando uma equação de regressão do segundo grau, conforme se pode observar na Figura 7, no R^2 estimado para as equações de cada cultivar.

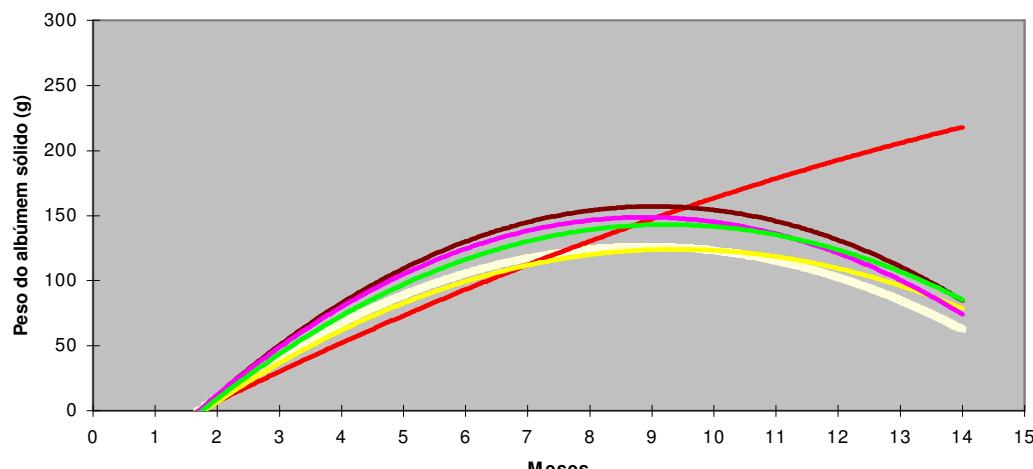
Nas idades iniciais existem traços de água, o contrário ocorrendo nos frutos de seis e sete meses, nos quais os frutos atingem seus volumes máximos, independentemente da cultivar. Os anões AVeJ (394,65ml) e AVM (388,41ml) apresentam os maiores volumes de água no sexto mês, enquanto o AVC (361,71ml) no sétimo mês. Talvez o volume ideal de água em um fruto de coqueiro anão para consumo “in natura”, seja de 300ml, para se equivaler a uma garrafa de refrigerante.

Tabela 5 – Dados de peso do albúmen sólido de frutos de cultivares de coqueiro anão nas idades de 5 a 12 meses. Aracaju/SE, 2000.

Idade (meses)	AAM	AVC	AAG	AVG	AVM	AVeJ	Médias
1	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	4,63	4,63
6	80,74	-	49,17	114,18	104,91	82,54	86,31
7	130,64	161,77	117,79	149,89	142,69	122,02	137,47
8	144,28	190,12	156,51	171,61	195,9	167,31	170,95
9	166,86	218,77	162,1	206,94	191,37	179,16	187,53
10	188,18	210,1	168,76	219,5	203,07	187,82	196,24
11	189,39	196,26	186,91	245,14	203,08	274,42	215,87
12	175,76	148,13	236,57	245,75	231,13	221,79	209,85
Desvio	38,87	27,51	58,44	49,88	42,95	84,08	

Após o sétimo mês, a quantidade de água do fruto decresce acentuadamente até o décimo segundo mês, representando nessa idade em relação ao volume de água dos frutos no sétimo mês, volume de apenas 26,4%, 28,3%, 30,4%, 43,4%, 49,3% e até 57,3% para o AVC, AAM, AVeJ, AVM, AVG, e AAG, respectivamente. A perda da água de coco no fruto seco é ocasionado tanto pela evaporação como pela sua absorção pelo albúmen sólido, sendo também um dos principais fatores da perda de peso do fruto seco.

Os resultados acima estão de acordo com o trabalho de Jayalekshmy et al. (1986) que observaram no coqueiro gigante do Oeste Africano (GOA) maiores produções de água nas idades iniciais, decrescendo acentuadamente nos



AAM - $y = -0,872x^2 + 35,828x - 101,54$ $R^2 = 0,8963$ AVC - $y = -4,6932x^2 + 105,25x - 382,41$ $R^2 = 0,8075$ AAG - $y = 1,1775x^2 + 8,519x - 29,338$ $R^2 = 0,9263$	AVG - $y = 0,5313x^2 + 21,175x - 53,663$ $R^2 = 0,9132$ AVM - $y = -2,4747x^2 + 66,392x - 211,1$ $R^2 = 0,919$ AVeJ - $y = 1,4498x^2 + 7,0172x - 19,235$ $R^2 = 0,9135$
--	--

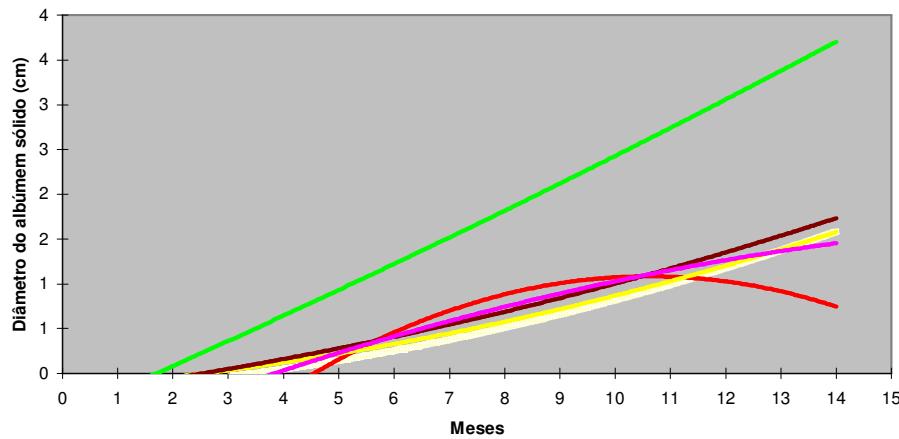
Figura 5 - Curva de regressão do peso do albúmen sólido de frutos de coqueiro anão. Aracaju/SE, 2000.

Tabela 6 – Dados da espessura do albúmen sólido de frutos de cultivares de coqueiro anão nas idades de 6 a 12 meses. Aracaju/SE, 2000.

Idade (meses)	AAM	AVC	AAG	AVG	AVM	AVeJ	Médias
1	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	0,32	0,39	0,30	1,06	0,52
7	0,36	1,03	0,42	0,55	0,55	2,47	0,90
8	0,69	1,04	0,78	0,8	0,93	2,63	1,15
9	0,87	1,02	0,82	1,08	0,95	2,53	1,21
10	0,86	1,05	0,96	1,16	1,12	2,32	1,25
11	1,04	1,02	1,05	1,20	1,17	2,72	1,37
12	1,00	0,93	1,03	1,09	1,15	2,53	1,29
Desvio	0,25	0,04	0,29	0,32	0,33	0,57	

Tabela 7 – Dados do volume de albúmen líquido de frutos de cultivares de coqueiro anão nas idades de 1 a 12 meses. Aracaju/SE, 2000.

Idade (meses)	AAM	AVC	AAG	AVG	AVM	AVeJ	Médias
1	-	-	-	0,8	-	0,09	0,45
2	0,29	-	9,06	4,33	-	3,88	4,39
3	20,71	-	27,36	48,16	34,33	25,78	31,27
4	97,4	-	115,01	156,17	178,58	124,54	134,34
5	221,64	294,33	237,92	291,69	300,43	326,52	278,76
6	316,65	322,5	195,49	331,07	388,41	394,65	324,8
7	252,99	361,71	266,74	276,81	311,49	264,38	289,02
8	144,28	250,29	190,63	172,34	230,63	192,49	196,78
9	125,71	193,18	161,65	152,05	186,66	133,21	158,74
10	93,48	119,76	129,81	126,83	149,47	97,35	119,45
11	95,14	90,07	129,27	138,27	114,56	89,17	109,41
12	71,62	97,57	153,18	136,58	136,7	80,33	112,66
Desvio	97,14	106,6	78,8	106,21	105,83	126,86	



AAM - $y = 0,0062x^2 + 0,0415x - 0,2204$ $R^2 = 0,8972$ **AVG** - $y = 0,0042x^2 + 0,0817x - 0,2346$ $R^2 = 0,9015$
AVC - $y = -0,0295x^2 + 0,6263x - 2,2392$ $R^2 = 0,8005$ **AVM** - $y = -0,006x^2 + 0,2494x - 0,8701$ $R^2 = 0,9316$
AAG - $y = 0,0053x^2 + 0,0501x - 0,1641$ $R^2 = 0,9248$ **AVeJ** - $y = 0,0021x^2 + 0,2677x - 0,4621$ $R^2 = 0,8081$

Figura 6 - Curva de regressão da espessura do albúmen sólido de frutos de coqueiro anão. Aracaju/SE, 2000.

frutos de estágio de maturação avançados.

Além do volume, foi determinado também a composição química da água de coco em uma planta de cada uma das cultivares AAG, AVC e AVEJ, cuja composição média esta representada na Tabela 8.

De acordo com a Tabela 8, observa-se que a acidez decresce com a idade do fruto, variando de 1,54 (fruto na idade de cinco meses) a 0,65 (fruto na idade de doze meses).

O pH varia de 4,9 nas idades de quatro a seis meses e de 5,35 e 5,82 nas idades de sete e doze meses.

Os maiores valores de sólidos solúveis – Brix (6,16 e 6,13), sólidos totais (5,85 e 5,72), glicose (2,96 e 1,95) e frutose (3,25 e 2,09), ocorreram na água de coco de frutos nas idades de seis e sete meses. Essas substâncias e principalmente os açucares redutores, são os

responsáveis pelo melhor sabor da água de coco verde.

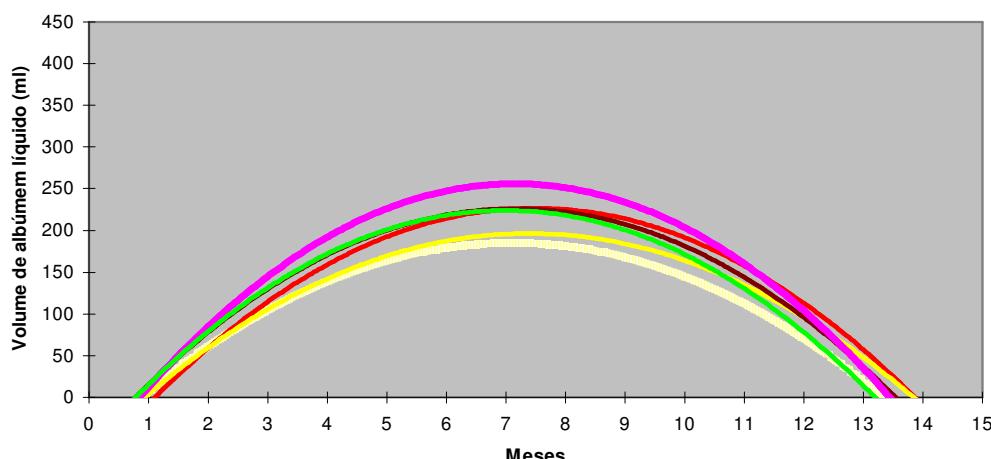
As produções de sacarose e de proteína, ao contrário da acidez, aumenta com a idade do fruto. Essas produções variam de 0,02 (cinco meses) a 1,94 (dez meses) e 0,12 (quatro e cinco meses) a 0,30 (oito meses), respectivamente. Esta produção de proteína é baixa.

No tocante aos minerais, o Ca e Mg decrescem com a idade do fruto, enquanto o P e principalmente a Na aumentam entre o quatro e doze meses. A quantidade de potássio na água de coco, além de ser alta é constante entre as idades, cujos valores variam de 159,11 na água com doze meses a 211,99 na água com dez meses.

Em geral todos os resultados acima estão de acordo com os obtidos por Tavares et al. (1988), trabalhando com seis cultivares de coqueiro anão, também na água de coco obtida de frutos nas idades de quatro a doze

Tabela 8. Composição química média da água de coco de diversas cultivares de coqueiro anão nas idades de 4 a 12 meses. Aracaju/Se, 2000.

Idade (meses)	Acidez (N%)	pH	Sólidos		Sólidos		Sacarose (g/100g)	Glicose (g/100g)	Frutose (g/100g)	Proteína (g/100g)	Ca (mg/100g)	P (mg/100g)	Na (mg/100g)	Mg (mg/100g)	K (mg/100g)
			sólíveis (ºBrix)	Totais (%)											
4	1,19	4,92	3,60	3,23	0,05	1,79	3,28	0,12	23,29	3,08	0,10	10,70	202,97		
5	1,54	4,90	4,43	4,60	0,02	1,81	1,84	0,12	18,37	4,58	0,10	8,09	193,59		
6	1,28	4,93	6,16	5,85	0,36	2,96	3,25	0,14	14,91	4,25	0,10	5,38	179,20		
7	0,81	5,49	6,13	5,72	0,78	1,95	2,09	0,19	10,30	5,44	2,06	5,77	195,81		
8	0,53	5,82	5,06	4,87	1,01	1,61	1,34	0,30	-	-	-	-	-		
9	1,12	5,35	4,96	5,27	1,47	0,56	0,87	0,16	14,36	6,77	12,26	5,20	196,60		
10	1,02	5,48	2,55	2,34	1,94	0,86	1,24	0,16	14,32	6,58	5,09	4,94	211,99		
11	0,69	5,68	2,86	2,53	1,56	0,24	0,51	0,17	16,38	7,27	14,31	5,53	207,63		
12	0,65	5,75	4,05	3,98	1,27	0,04	0,13	0,23	12,22	5,79	33,94	-	-		
Desvio	0,33	0,37	1,29	1,32	0,69	0,95	1,11	0,06	3,97	1,43	11,71	2,12	10,74		



AAM - $y = -8,3677x^2 + 119,68x - 213,16 R^2 = 0,6441$ AVG - $y = -7,162x^2 + 102,95x - 128,34 R^2 = 0,6635$
AVC - $y = -6,8913x^2 + 104,62x - 148,77 R^2 = 0,5222$ AVM - $y = -10,345x^2 + 149,31x - 249,45 R^2 = 0,5888$
AAG - $y = -5,3119x^2 + 81,806x - 109,33 R^2 = 0,7439$ AVEJ - $y = -7,1032x^2 + 94,564x - 78,961 R^2 = 0,5953$

Figura 7 - Curva de regressão do volume do albúmen líquido de frutos de coqueiro anão. Aracaju/SE, 2000.

meses e por Jayalekshmy et al. (1986) trabalhando com a água de coco do GOA, de frutos de diferentes idades. Entretanto neste trabalho e no de Tavares et al. (1988) o teor de potássio é mais ou menos constante, enquanto no de Jayalekshmy et al. (1986), o teor de K é decrescente com a idade da água.

Conclusões

Nas condições em que esse trabalho foi conduzido, se conclui que:

- As curvas de crescimento do fruto de coqueiro anão e de seus componentes são de segundo grau.

- Os maiores pesos do fruto e volume de água, e teores mais elevados, principalmente da frutose, glicose e grau Brix, nos frutos de seis meses de idade, são indicativos importantes de que o ponto ideal da colheita do fruto verde para consumo da água, é nessa idade.

- Entre as cultivares de coqueiro anão, o endocarpo dos anões amarelos e do anão vermelho de Gramame são mais finos.

- O AVC apresenta menor produção de fibra.

- As cultivares de coqueiro anão produzem baixa quantidade de albúmen sólido.

- Os anões verde e vermelhos apresentam maiores produções de água nos frutos nas idades de seis e sete meses.

- A água de coco é pobre em proteína e rica em minerais, principalmente em potássio.

Literatura Citada

- ADEODATO, S. 1995. O versátil coco. Globo Ciência. Maio.30-35.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (USA). 1970. Determinação de proteína bruta. New York, pp.40-52.
- CUENCA, M.A.G.1994. Importância econômica do coqueiro. In Ferreira, J.M.S.; Warwick, D.R.N.;

- Siqueira, L. A. A cultura do coqueiro no Brasil. Brasília, Embrapa-SPI/Aracaju, Embrapa-CPATC. 292p.
- DE MARTIN, Z.J. 1980. Processamento: produtos , características e utilização. Frutos Tropicais 5- Coco. ITAL. pp. 183-254.
- FREMOND, Y. et al.1966. The coconut palm. Berue/ Switzerland, International Postash Institute, 227p.
- FORTES, L. 1993. Jornal da família. Rio de Janeiro, O Globo. 12p.
- GOMES, F.P.1985. Curso de estatística experimental. Piracicaba, Nobel. 403p.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 1985. Normas Analíticas: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. São Paulo. 206p.
- JAYALEKSHMY, A. et al. 1986. Changes in the chemical composition of coconut water during maturation. Journal of Food Science and Technology 23 (4): 203-207.
- MACRAE, R. 1988. HPLC in Food Analysis 2nd. London. Academic Press. 150p.
- MARQUES, A.L.V. 1976. Água de coco – um produto tropical de mil e uma utilidades. Revista Alternativa (Brasil) 1 (1): 9-10.
- NUNES, J.F.; COMBARNOUS, Y. 1995. Utilização da água de coco e suas frações ativas como diluidor de sêmen dos mamíferos domésticos. In: Simpósio Nacional de Biotecnologia da Reprodução de Mamíferos Domésticos. Fortaleza, 1995. Anais. Fortaleza, SBPMD. pp.84.
- PERSLEY, G.J. 1992. Replating the tree of life: towards an internacional agenda for coconut palm research. Wallinggard, CAB/ACCAR. 156p.
- ROSARIO, R.R. del. 1979. Formulation of coco beverage from mature coconut water. The Philippine Journal of Coconut Studies. 4 (3): 1-5.
- TAVARES, M. et al. 1988. Estudo da composição química da água de coco anão verde em diferentes estágios de maturação. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro, SBCTA, v.2, pp.1262-1265.
- ZONA OESTE - 1994. O GLOBO. Setembro. pp. 15-20.

ADAPTABILIDADE E ESTABILIDADE DE HÍBRIDOS DE MILHO NA REGIÃO MEIO-NORTE DO BRASIL NO ANO AGRÍCOLA DE 1999/2000*

*Pesquisa financiada pela Embrapa e Banco do Nordeste

**Milton José Cardoso¹, Hélio Wilson Lemos de Carvalho², Maria de Lourdes da Silva Leal²,
Manoel Xavier dos Santos³ e Antonio Carlos de Oliveira³**

¹Embrapa Meio-Norte, Caixa Postal 01, 64.006-220, Teresina, Piauí, Brasil, e-mail: milton@cpamn.embrapa.br. ²Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, 49.025-040, Aracaju, Sergipe, Brasil, e-mail: helio@cpatc.embrapa.br. ³Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, 35701-970, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil, e-mail: xavier@cnpms.embrapa.br; oliveira@cnpms.embrapa.br.

No ano agrícola de 1999/2000, foram avaliados 41 híbridos de milho em treze ambientes da Região Meio- Norte do Brasil, visando conhecer a adaptabilidade e a estabilidade de comportamento destes genótipos para fins de recomendação. Foi utilizado o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições. Na análise de variância conjunta foram encontradas diferenças entre os ambientes e os híbridos e detectado comportamento inconsistente dos híbridos frente as oscilações ambientais. A produtividade média alcançada (8.056 kg.ha^{-1}) evidencia tanto a potencialidade da região para o desenvolvimento da cultura do milho, quanto o potencial dos híbridos avaliados, colocando a região em condições de competir com as áreas tradicionais de cultivo do milho no país. Não foi encontrado o híbrido ideal preconizado pelo modelo, nem qualquer híbrido que atendesse todos os requisitos para adaptação nos ambientes desfavoráveis. Para os ambientes favoráveis, destacou-se o híbrido Cargill 333 B.

Palavras-chave: interação genótipos x ambientes, Nordeste brasileiro, *Zea mays*.

Adaptability and stability of corn hybrids in the Middle-North of Brazil in the agricultural year of 1999/2000. In the 1999/2000 cropping year, 41 hybrid corn materials were evaluated under thirteen different environmental conditions of the Middle-North Region of Brazil, to test their adaptability and stability, aiming their recommendation as cropping materials. A randomized blocks experimental design, with three replications was used. In the jointed analysis of variance differences among environments and hybrids were found, as well as an inconsistent hybrid behavior under the environmental condicions. The average productivity ($8,056 \text{ kg.ha}^{-1}$) indicates the good potential of the tested hybrids and the suitability of the tested region for the corn culture, being as good as the traditional areas of corn cultivation in the country. The ideal hybrid searched in the model, was not found, nor any hybrid with all the requirements for adaptation to the unfavorable environments. For the favorable environments Cargill 333 B hybrid stood out

Key words: genotype x environment interaction, Brazil Northeast, *Zea mays*.

Introdução

O milho é cultivado em toda a extensão do Meio-Norte do Brasil, predominando, os sistemas de cultivos dos pequenos e médios produtores rurais, onde a produtividade média é baixa (700 kg.ha^{-1}). Entretanto, a Região apresenta grande potencial para o desenvolvimento da cultura do milho, conforme se tem constatado em trabalhos de competição de cultivares executados nas messoregiões do Norte Piauiense, Centro Norte Piauiense e Sudoeste Piauiense nos municípios de Teresina, Parnaíba, Itaueira, Rio Grande do Piauí e Uruçuí no Estado do Piauí (Cardoso et al., 1997 e 2000a), bem como o potencial da cultura verificado nas regiões Sul e Leste do Maranhão (Pioneer, 1999). Nessas áreas foram registradas produtividades médias acima de 8.000 kg.ha^{-1} , ficando também registrada a superioridade dos híbridos em relação às variedades.

O desenvolvimento, nessa Região, de um programa de melhoramento voltado para a avaliação de híbridos visando à seleção de materiais adaptados e dotados de atributos agronômicos consistentes frente às variações ambientais, torna-se de extrema importância para subsidiar os produtores na escolha de melhores híbridos. Por essa razão, anualmente, vem-se desenvolvendo uma rede de avaliação de híbridos procedentes de diversas empresas e de órgãos oficiais produtoras de sementes híbridas, incluindo genótipos disponíveis no mercado e em fase de pré-lançamento, com o propósito de avaliar o desempenho destes no que tange a adaptação e a atributos agronômicos desejáveis.

Carneiro (1998) ressalta que a recomendação generalizada de cultivares, sem considerar a ocorrência de ambientes favoráveis e desfavoráveis, pode beneficiar ou prejudicar os materiais com adaptações específicas a estes dois tipos de ambientes. O mesmo autor salienta ainda que é possível que a melhor cultivar em um determinado ambiente, não seja em outro, gerando uma inconsistência de comportamento das cultivares nos diversos ambientes. Essa inconsistência no comportamento de materiais em face das variações ambientais denomina-se interação cultivar x ambientes e, exerce importância expressiva na recomendação de cultivares. Diversos trabalhos na literatura ressaltam a importância e a influência dessa interação conforme reportado por Arias (1995). Diversos autores têm registrado no Nordeste brasileiro a presença dessa interação (Lira et al., 1993; Cardoso et al., 1997, 2000 a e 2000 b; Carvalho et al., 1999 a, 2000 a e 2000 b), sendo que em todos esses casos, tem-se procurado amenizar o efeito dessa interação através da recomendação de material de melhor estabilidade fenotípica.

Considerando esses aspectos, desenvolveu-se este trabalho visando conhecer a adaptabilidade e a estabilidade de comportamento de híbridos de milho para posterior recomendação e exploração na Região Meio-Norte do Brasil.

Material e Métodos

Na Tabela 1 constam os índices pluviométricos (mm) registrados no decorrer do período experimental, com uma variação de 1.010,1 mm (Teresina – PI) a 1.661,7 mm (São Raimundo Mangabeira – MA). As coordenadas geográficas de cada município, os quais estão compreendidos entre os paralelos $2^{\circ} 53'$ e $9^{\circ} 04'$ S são apresentadas na Tabela 2.

As instalações dos ensaios, sob regime de sequeiro, ocorreram, em novembro de 1999, nos municípios de Palmeiras do Piauí e Bom Jesus, no Piauí, em dezembro de 1999, nos municípios de Baixa Grande do Ribeiro, no Piauí e, São Raimundo Mangabeira, Sambaíba e Barra do Corda, no Maranhão, em janeiro de 2000, em Teresina, Parnaíba, Guadalupe e Rio Grande do Piauí, no Piauí e, Anapurus, no Maranhão. Em junho de 2000 foram instalados os ensaios, sob regime de irrigação, nos municípios de Teresina e Parnaíba.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com três repetições. Os tratamentos constaram de 41 híbridos. Cada parcela constou de quatro fileiras de 5,00 m de comprimento, espaçadas de 0,90 m e 0,50 m entre covas. Foram colocadas três sementes por cova, deixando-se após desbaste, duas plantas por cova. Foram colhidas as duas fileiras centrais de forma integral, correspondendo a uma área útil de $9,0 \text{ m}^2$. As adubações de fundações e coberturas foram feitas de acordo com a recomendação das análises químicas do solo e da exigência da cultura.

Os pesos dos grãos, após serem ajustados para 15 % de umidade, foram submetidos a análise de variância, obedecendo ao modelo em blocos ao acaso. Após a análise de cada ensaio, efetuou-se a análise de variância conjunta, obedecendo ao critério de homogeneidade dos quadrados médios residuais. As referidas análises foram efetuadas utilizando-se o Statistical Analysis System (SAS Institute, 1996) para dados balanceados (PROC ANOVA).

Os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade foram estimados utilizando-se o método de Cruz et al. (1989), o qual baseia-se na análise de regressão bissegmentada, tendo como parâmetros de adaptabilidade a média (b_0), e a resposta linear aos ambientes desfavoráveis (b_1), e aos

ambientes favoráveis ($b_1 + b_2$). A estabilidade dos materiais é avaliada pelos desvios da regressão s_{ij}^2 de cada material, de acordo com as variações ambientais.

Foi utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = b_{0i} + b_{1i} I_i + b_{2i} T(I_i) + \delta_{ij} + \bar{\epsilon}_{ijk} \text{ tal que :}$$

Y_{ij} : média da cultivar i no ambiente j ; I_j : índice ambiental; $T(I_j) = 0$ se $I_j < 0$; $T(I_j) = I_j - \bar{I}_+$ se $I_j > 0$, sendo \bar{I}_+ , a média dos ambientes (I_j) positivos; b_{0i} : média geral da cultivar i ; b_{1i} : coeficiente de regressão linear associado à variável I_j ; b_{2i} : coeficiente da regressão linear associado à variável $T(I_j)$; δ_{ij} : desvio da regressão linear; e_{ijk} : erro experimental médio.

Resultados e Discussão

As produtividades médias de grãos e os resultados das análises de variância de cada local estão relacionados na Tabela 3, onde se constatam efeitos significativos entre os híbridos em doze dos treze ensaios, o que evidencia variações entre os híbridos em vários ambientes. Os coeficientes de variação obtidos oscilaram de 7 % a 14 %, conferindo boa precisão aos ensaios (Scapim et al., 1995). A média de produtividade nos ensaios variou de 5.014 kg.ha⁻¹ (Guadalupe - PI) a 10.498 kg.ha⁻¹ (Baixa Grande do Ribeiro – PI) o que expressa uma ampla faixa de variação nas condições ambientais em que foram realizados os ensaios, indispensável para o estudo da

Tabela 1. Índices pluviométricos (mm), registrados nas áreas experimentais, durante o período de novembro de 1999 a maio de 2000. Região Meio-Norte do Brasil, ano agrícola de 1999/2000.

Locais	1999			2000			Total
	Nov.	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	
Teresina	-	-	306,8*	329,8	298,4	68,4	6,7 1010,1
Parnaíba	-	-	166,5*	233,9	157,5	391,5	201,1 1150,1
Guadalupe	-	-	173,0*	312,0	369,5	147,0	64,6 1066,1
R. G. do Piauí	-	-	185,0*	310,0	390,4	128,2	50,1 1063,7
Palmeiras	345,0*	236,5	224,0	265,0	135,5	102,0	31,2 1339,2
Bom Jesus	266,0*	365,0	149,5	172,0	179,0	200,0	35,0 1366,5
B. G. do Ribeiro	-	277,5	173,0	364,5	367,0	91,5	9,0 1282,5
S. R. Mangabeira	-	351,3*	366,4	401,6	364,5	159,8	18,1 1661,7
Sambaíba	-	347,0*	231,0	399,0	245,0	93,0	18,0 1333,0
Barra do Corda	-	235,8*	139,0	212,6	266,0	214,4	89,7 1157,5
Anapurus	-	-	207,0*	254,0	321,0	426,0	245,0 1453,0

* Mês de plantio.

Tabela 2. Coordenadas geográficas dos municípios. Região Meio-Norte do Brasil, 1999/2000.

Estados	Municípios	Latititude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)
Piauí	Teresina	5° 05'	42° 49'	72
	Parnaíba	2° 41'	41° 41'	15
	Guadalupe	6° 56'	43° 50'	180
	Rio Grande do Piauí	7° 56'	43° 13'	270
	Palmeiras do Piauí	8° 43'	44° 14'	270
	Bom Jesus	9° 04'	44° 21'	277
	Baixa G. do Ribeiro	7° 21'	45° 14'	325
Maranhão	S. R. Mangabeira	7° 32'	45° 36'	225
	Sambaíba	7° 08'	45° 20'	212
	Barra do Corda	5° 43'	45° 18'	84
	Anapurus	3° 55'	43° 30'	83

Fonte: IBGE, Cadastro de cidades e vilas do Brasil 1999 e malha municipal digital do Brasil. (www.ibge.gov.br)

Tabela 3. Produtividade média de grãos (kg.ha^{-1}) dos híbridos nos treze ambientes e resumo das análises de variância por local. Região Meio-Norte do Brasil, ano agrícola de 1999/2000.

Híbridos	Maranhão			Piauí								
	Sambava	Anapurus	S. Raimundo Mangabeira	Palmeiras do Piauí	Teresina Sequeiro	Teresina irrigado	Baixa Grande do Rioibeiro	Bom Jesus	Guadalupe	Rio Grande do Piauí	Parnaíba Sequeiro	Parnaíba irrigado
AG 105 ³	9583	8729	9504	5667	10979	11354	9942	11312	8541	4500	8454	8414
Dina 1000 ¹	9250	7396	8916	6165	10079	11083	8824	10856	8842	5126	8312	9306
DK 440 ¹	9000	7437	8083	5896	9354	10564	8521	12229	8484	6333	8666	8579
Cargill 333 B ¹	7792	7333	8604	5673	10633	11958	8598	11583	8342	5021	8125	8129
Zeneca 8550 ¹	8625	6271	9062	6104	8583	12437	8469	11229	8627	5333	9312	7883
Dina 800 E ¹	8667	7729	8916	5375	10208	11229	9394	10771	8103	4937	7708	8175
Zeneca 8420 ¹	8843	6958	9896	5479	8333	9529	9716	11812	7936	4625	8896	8379
AG 9090 ¹	8104	7979	8396	4979	9021	9667	8639	12033	8675	5083	9167	9171
Pioneer 30 F 33 ¹	9000	7166	9437	5958	9104	9146	7636	11935	8327	4958	8396	8556
DK 350 ²	8583	7312	8562	5625	10166	9187	9231	11500	7507	5604	8333	8271
Zeneca 84 E 90 ¹	7583	7458	7980	5479	9312	11541	8998	11333	7722	5708	7562	7437
AG8080 ²	7812	7512	8146	5958	10417	10229	9598	10833	8508	5687	8250	7721
Pioneer 30 F 45 ¹	8475	6417	8250	7187	9729	9062	8917	11250	7746	5646	8008	8316
Zeneca 8392 ¹	8167	7854	9270	6190	8875	9646	7566	10500	8341	5708	9146	8169
Dina 500 ³	8225	7771	8500	4792	9104	11708	7636	10625	7102	5292	8416	8634
AG 8020 ¹	8959	7771	8750	4812	9062	9479	8935	10291	8437	5354	8250	7352
Pioneer 30 k 75 ¹	8042	7041	9291	5521	8645	8542	8343	11500	7722	4792	9354	8691
Zeneca 8330 ²	8025	6858	8437	5479	9708	9646	7918	10729	8198	5250	8229	7704
BRS 3101 ²	6854	8521	8375	5425	8917	10742	8029	9604	7526	5500	8167	8552
BR 3123 ²	8083	6725	7962	4979	10266	9283	9194	9562	8217	5496	8604	7458
Braskalb XL 360 ²	6667	8021	7604	5529	8833	10458	8917	9854	7269	4687	8291	7673
SHS 5050 ²	8125	6958	7000	5187	9146	9542	8432	10333	8294	5458	8292	7979
Colorado 9560 ¹	8250	8687	7979	5187	9479	6979	8251	108333	8675	5283	7437	7277
Colorado 32 ²	7979	7479	7625	5541	9646	9625	8073	11039	8187	5104	7602	8571
Cargill 909 ¹	7800	6729	7646	4637	8104	9416	8639	11271	7674	5000	8000	7715
Agromen 2014 ²	7867	7437	7062	5562	10079	7718	8562	10833	8079	5479	8275	7608
Colorado 34 ²	7479	6575	7437	5958	9374	9562	8687	11021	7293	4292	7729	6712
Cargill747 ³	8417	6854	8166	5483	10304	9156	7478	10104	7460	5291	8083	7158
Zeneca 8410 ¹	8417	7396	9896	4750	8396	10958	7192	9479	6602	4812	8708	7898
BRS 3060 ²	8667	7896	8208	4937	8779	9679	8266	9292	7478	4352	8437	6096
HT 1 ²	7625	6487	6896	5137	8145	11042	8606	9208	7469	4750	8396	7025
Pioneer 30 F 88 ¹	7229	7125	8854	4958	8312	9125	8251	9917	6649	5646	7479	90004
Colorado 9743 ²	7417	6416	7729	4729	9021	8729	9342	9625	8094	6466	7150	9654
Pioneer 30 F80 ¹	8396	7021	8039	5312	8146	8854	7074	9375	6721	4062	8687	7769
HT 10 ²	7542	5875	6250	4550	8875	9875	8025	10872	7526	4854	7375	7000
HT 9 ²	6979	6708	7916	4312	7812	9896	7193	9500	7493	4562	8062	6417
AG 9010 ¹	7708	6250	7416	4246	7479	7979	7381	10521	7650	4771	8000	7404
HT 5 ²	8187	6833	7408	5000	8875	7547	7540	9500	6840	3833	6846	7374
SHS 4040 ³	7542	6125	6958	5146	8667	9504	6034	8208	7317	4562	7583	7021
95 HT 74 ²	7354	6479	7333	4521	7896	8041	8276	9625	5744	3896	7250	6427
96 HT 91 ²	7896	5729	7004	5300	6646	8458	6975	8479	6888	4271	7730	6606
Média	8078	7156	8164	5335	9085	9714	8332	10498	7762	5014	8167	7741
C. V. (%)	10	9	8	9	9	14	7	7	8	11	10	9
F (H)	*	**	***	***	*	***	***	***	***	ns	***	***
D. M. S. (%)	2639	2245	2290	1674	2624	4577	2071	2342	2070	1756	-	2194

^{a, **} significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste f, ns= não significativo¹ Híbrido simples; ² híbrido triplo e ³ híbrido duplo.

performance dos materiais. A média geral detectada nos treze ambientes foi de 8.056 kg.ha^{-1} , mostrando a potencialidade da região para o desenvolvimento da cultura do milho, sobressaindo os municípios de Sambaíba e São Raimundo Mangabeira, no Maranhão e, Palmeiras do Piauí, Teresina, Baixa Grande do Ribeiro, Rio Grande do Piauí e Parnaíba, no Piauí, com produtividades médias acima da média geral, destacando-se como os ambientes mais favoráveis para a exploração do milho. Vale ressaltar, que as produtividades médias obtidas nessas localidades, colocam essa região em condições de competir com a exploração do milho com as áreas dos Estados da Bahia, Goiás e Mato Grosso, com a vantagem de estar próximo aos centros consumidores (capitais dos estados).

As análises referentes aos híbridos, ambientes e interação híbridos x ambientes foram significativas pelo teste F, o que evidencia diferenças entre eles e comportamento diferenciado frente aos ambientes (Tabela 4). Interações significativas têm sido detectadas em trabalhos de competição de cultivares realizados na Região Nordeste do Brasil (Cardoso et al., 2000a e 2000b; Carvalho et al., 1999a e 2000b), onde minimizou-se o seu efeito, selecionando-se cultivares com maior estabilidade fenotípica (Ramalho et al., 1993).

Em razão, portanto, da significância da interação híbridos x ambientes, foram verificadas as respostas de cada um dos híbridos, pelo método de Cruz et al., (1989), o qual busca como cultivar ideal aquela que apresenta alta produtividade (b_0 alto), adaptabilidade a ambientes desfavoráveis (b_1 menor possível), e é capaz de responder às melhorias do ambiente ($b_1 + b_2$ o maior possível), além de apresentar a variância dos desvios da regressão próxima ou igual a zero.

A produtividade média de grãos obtida nos treze ambientes foi de 8.056 kg.ha^{-1} , com variação de 6.934 kg.ha^{-1} (96 HT 91) a 9.042 kg.ha^{-1} (AG 1051), constatando-se que os híbridos melhor adaptados à Região Meio-Norte do Brasil apresentaram rendimentos médios superiores à média geral.

Entre os híbridos de melhor adaptação, apenas os Pioneer 30 F 45, Dina 500 e BR 3123 apresentaram estimativas de $b_1 < 1$, caracterizando-se como menos exigentes nas condições desfavoráveis. Por outro lado, os híbridos AG 1051, Dina 800 E, Cargill 333 B e Zeneca 8420, de produtividades médias superiores à media geral, mostraram ser muito exigentes, em virtude de apresentarem estimativas de b_1 superiores a unidade, tendo, portanto, recomendação para os ambientes favoráveis. Os demais híbridos, que apresentaram estimativas de $b_1 = 1$ e, associaram essa característica a produtividades médias

superiores à média geral, expressando boa adaptação, justificaram as suas recomendações para a região.

Os valores de $b_1 + b_2$, que avaliam as respostas dos materiais nos ambientes favoráveis, mostraram que, entre os híbridos de produtividades médias, apenas os DK 440, Cargill 333 B e Zeneca 84 E 90, responderam à melhoria ambiental ($b_1 + b_2 > 1$).

Com relação à estabilidade (Tabela 5), nota-se que entre os híbridos de melhor adaptação, dez deles mostraram os desvios da regressão significativamente diferentes de zero, o que evidencia baixa estabilidade nos ambientes considerados, apesar de esses híbridos, à exceção do AG 8080, apresentarem estimativas de R^2 acima de 80 %, indicando um bom ajuntamento das retas de regressão, o que mostra que o grau de imprevisibilidade desses híbridos não deve ser prejudicado (Cruz et al., 1989). Os híbridos DK 440, Cargill 333 B, AG 1051, Dina 800 E, Dina 1000, Zeneca 84 E 90 e Zeneca 8330 tiveram estimativas de R^2 oscilando entre 93 % e 97 %, expressando melhor estabilidade nos ambientes considerados.

Considerando esses resultados, depreende-se que o material ideal preconizado pelo modelo (Cruz et al., 1989), ou seja, aquele que expressa uma média de produtividade alta, o b_1 menor possível (menos exigente nos ambientes desfavoráveis), o $b_1 + b_2$ o maior possível (responsivo à melhoria do ambiente), e variância dos desvios da regressão próxima ou igual a zero (alta estabilidade nos ambientes considerados), não foi encontrado entre os híbridos avaliados (Tabela 5). Trabalhos realizados no Nordeste brasileiro, avaliando híbridos em vários ambientes não detectaram a existência de qualquer híbrido que atendesse a todos os requisitos necessários para ser caracterizado como genótipo ideal preconizado pelo modelo supracitado, conforme ressaltam Cardoso et al., (1997, 2000 a); Monteiro et al. (1998) e Carvalho et al. (1999 b, 2000 a e 2000 b). Trabalhos relatados por Arias (1995) e Carneiro (1998) avaliando diversas safras de milho nos Estados do Mato Grosso e Paraná, respectivamente, corroboram essas informações. Em se

Tabela 4. Análise de variância conjunta para produtividade de grãos de 41 híbridos de milho em treze ambientes da Região Meio-Norte do Brasil. Ano agrícola 1999/2000.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Ambientes (A)	12	309170187,5**
Híbridos (H)	40	9600324,5**
Interação (A x H)	480	1347862,2**
Resíduo	1040	589974,4

** Significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5. Estimativas das produtividades médias de grãos e dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de 41 híbridos de milho em treze ambientes na Região Meio-Norte do Brasil. Ano agrícola de 1999/2000.

Híbridos	Médias (k.ha^{-1})			b_1	b_2	b_1+b_2	σ_{ij}	R^2
	Média	Favorável	Desfavorável					
AG 1051 ³	9042	7170	10211	1,32**	-0,38ns	0,94ns	950405,6ns	94
Dina 1000 ¹	8789	7367	9677	1,06ns	-0,07ns	0,99ns	800873,6ns	93
DK 440 ¹	8730	7346	9596	0,93ns	0,50*	1,43*	502814,0ns	95
Cargill 333 B ¹	8658	6900	9756	1,17*	0,50*	1,68**	744290,4ns	95
Zeneca 8550 ¹	8640	6840	9762	1,13ns	0,10ns	1,23ns	2463035,9**	83
Dina 800 E ¹	8596	6864	9679	1,18*	-0,04ns	1,14ns	743316,6ns	94
Zeneca 8420 ¹	8547	6675	9716	1,25**	-0,42*	0,83ns	1558321,7**	89
AG 9090 ¹	8539	7172	9390	1,09ns	0,13ns	1,23ns	1125394,6*	91
Pioneer 30 F 33 ¹	8404	6993	9286	1,01ns	0,01ns	1,02ns	1553223,6**	86
DK 350 ²	8402	6864	9363	1,00ns	-0,07ns	0,92ns	909946,4ns	91
Zeneca 84 E 90 ¹	8398	6761	9421	1,02ns	0,70**	1,72**	927020,6ns	93
AG8080 ²	8369	7077	9177	0,88ns	-0,01ns	0,88ns	1839180,9**	79
Pioneer 30 F 45 ¹	8369	7062	9185	0,79ns	0,22ns	1,02ns	1320243,8*	83
Zeneca 8392 ¹	8358	6718	9382	1,12ns	0,20ns	1,33ns	1467341,0**	89
Dina 500 ³	8357	7252	9048	0,80ns	-0,08ns	0,71ns	803916,9ns	87
AG 8020 ¹	8316	6745	9297	1,08ns	-0,34ns	0,75ns	729651,6ns	93
Pioneer 30 K 75 ¹	8202	6753	9107	1,04ns	-0,31ns	0,72ns	1735962,0**	83
Zeneca 8330 ²	8164	6718	9067	0,98ns	0,10ns	1,09ns	246165,4ns	97
BRS 3101 ²	8124	6565	9100	1,04ns	-0,41*	0,62*	1011307,9ns	89
BR 3123 ²	8103	7105	8727	0,80*	0,21ns	1,01ns	1483836,0**	81
SHS 5050 ²	8090	6835	8875	0,92ns	0,18ns	1,32ns	723934,3ns	92
Braskalb XL 360 ²	8081	6636	8984	0,99ns	0,32ns	1,11ns	1997628,8**	83
Colorado 9560 ¹	8016	7022	8638	0,82*	0,06ns	0,88ns	3291696,3**	66
Colorado 32 ²	8009	6964	8661	0,84ns	0,24ns	1,08ns	1671184,7**	81
Cargill 909 ¹	7997	6351	9025	1,11ns	0,33ns	1,44*	1176934,4*	91
Agromen 2014 ²	7995	6833	8721	0,83ns	0,10ns	0,93ns	1883524,6**	77
Colorado 34 ²	7980	6166	9113	1,10ns	0,46*	1,57**	1676069,8**	88
Cargill 747 ³	7919	6449	8838	0,93ns	-0,11ns	0,82ns	1006571,2ns	88
Zeneca 8410 ¹	7895	6292	8901	1,07ns	-0,61**	0,45**	2966440,4**	74
BRS 3060 ²	7792	6152	8818	1,08ns	-0,58**	0,50**	1068757,5ns	89
HT 1 ²	7740	6174	8718	1,01ns	-0,01ns	1,01ns	1839855,1**	83
Pioneer 30 F 88 ¹	7696	6375	8521	0,84ns	-0,03ns	0,81ns	843630,6ns	88
Colorado 9743 ²	7679	6231	8583	1,02ns	-0,19ns	0,83ns	1124169,4*	89
Pioneer 30 F80 ¹	7614	6177	8512	1,00ns	-0,40*	0,59*	1014122,3ns	89
HT 10 ²	7565	5961	8567	1,04ns	0,55**	1,60**	739061,8ns	94
HT 9 ²	7377	5898	8300	1,00ns	-0,01ns	0,99ns	872345,5ns	91
AG 9010 ¹	7332	6064	8124	0,94ns	-0,04ns	0,89ns	1138934,0*	87
HT 5 ²	7304	5976	8133	0,96ns	-0,21ns	0,75ns	1133637,2*	87
SHS 4040 ³	7119	6034	7797	0,78*	-0,06ns	0,71ns	1518119,7**	78
95 HT 74 ²	7085	5414	8129	1,04ns	-0,20ns	0,84ns	873738,6ns	91
96 HT 91 ²	6934	5759	7668	0,78*	-0,31ns	0,47**	856088,4ns	85
Média	8056							
D.M.S.	1032							

** e * Significativamente diferente da unidade para b_1 e $b_1 + b_2$ e de zero para b_2 pelo teste "t" de Student a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. ** e * Significativamente diferente de zero a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F, para o σ_{ij}

tratando dos ambientes desfavoráveis, percebe-se também (Tabela 5), que não foi encontrado qualquer híbrido que atendesse a todos os requisitos necessários para adaptação a essa classe de ambientes. Neste caso, o híbrido teria que expressar uma produtividade média alta, $b_1 < 1$, $b_1 + b_2 < 1$ e variância dos desvios da regressão próxima ou igual a zero. Apesar disso, infere-se que os híbridos Dina 500, Pioneer 30 F 45 e BR 3123, podem ser recomendados para essa classe de ambientes, por apresentarem produtividades médias altas (b_0), serem pouco exigentes nas condições desfavoráveis ($b_1 < 1$) e apresentar estimativas de ($b_1 + b_2$) semelhantes a unidade. Para os ambientes favoráveis, merece destaque o híbrido Cargill 333 B, por apresentar todos os requisitos necessários para adaptação nesse tipo de ambiente, ou seja, (b_0 alto, b_1 e $b_1 + b_2 > 1$). Considerando os demais híbridos que apresentaram produtividades médias superiores à media geral e $b_1=1$, justificaram suas recomendações para a região, por expressarem boa adaptação e estabilidade de produção, principalmente, os Dina 1000, DK 440, Zeneca 8550, dentre outros. O AG 1051, de melhor produtividade, apesar de ser semelhante estatisticamente a alguns outros, mostrou ser exigente nas condições desfavoráveis ($b_1 > 1$), justificando sua recomendação para ambientes favoráveis, apesar de não atender a todos os requisitos para essa situação.

Conclusões

A Região Meio-Norte do Brasil apresenta potencialidade para o desenvolvimento da cultura do milho, fundamentada nas altas produtividades alcançadas pelos híbridos de milho, colocando essa Região em condições de competir com a exploração do milho com as áreas tradicionais de produção de milho no país.

O modelo utilizado permite efetuar uma recomendação de híbridos de acordo com os tipos de ambiente, favorável e desfavorável.

No conjunto de híbridos avaliados, não foi encontrado aquele ideal preconizado pelo modelo.

Literatura Citada

- ARIAS, E.R.A. 1995. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Estado do Mato Grosso do Sul e avanço genético obtido no período de 1986/87 e 1993/94. Tese de Doutorado. Lavras, ESAL. 118p.
- CARDOSO, M.J. et al. 2000 a. Estabilidade de cultivares de milho no Estado do Piauí. Revista Científica Rural (Brasil), 5(1): p.62-67.
- CARDOSO, M.J. et al. 2000 b. Comportamento, adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho no Estado do Piauí no ano agrícola de 1998. Revista Científica Rural (Brasil), 5(1):146-15.
- CARDOSO, M.J. et al. 1997. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Estado do Piauí no biênio 1993/94. 3. Revista Científica Rural (Brasil), 2(1): 35-44.
- CARNEIRO, P.C.S.1998. Novas metodologias de análises de adaptabilidade e estabilidade de comportamento. Tese de Doutorado.Viçosa, UFV. 168p.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 2000 a. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 35(6):1115-1123.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 2000b. Estabilidade de cultivares de milho em três ecossistemas do Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 35(9):1773-1781.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1999a. Adaptabilidade e estabilidade de produção de cultivares de milho no Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34(9):1581-1591.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1999b. Adaptabilidade e estabilidade de comportamento de cultivares de milho em treze ambientes nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34(12):2225-2234
- CRUZ, C.D.; TORRES, R.A.; VENCOVSKY, R. 1989. An alternative approach to the stability .analisis by Silva and Barreto. Revista Brasileira de Genética 12:567-580
- LIRA, M. A. et al.. 1993. Adaptabilidade de cultivares de milho no rio Grande do Norte. Natal, Emparn. 22 p. (Emparn. Boletim de Pesquisa, 23).
- MONTEIRO A.A.T. et al. 1998. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Estado do Ceará. Revista Científica Rural (Brasil) 3(2):1-10.
- PIONEER. 1999. Resultados safra 1998/1999. São Paulo, Pioneer. 47 p.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O. 1993. Interação dos genótipos x ambientes. In: Ramalho, M.A.P. ; Santos, J.B. dos. e Zimmermann, M.J. de O. Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicação no melhoramento do feijoeiro. Goiânia, Editora UFG.pp.131-169.

- (Publicação, 120).
- SAS INSTITUTE . 1996. SAS/STAT user's guide: version 6.4 ed. Cary, v.1. 789p.
- SCAPIM, C.A.; CARVALHO, C.G.P. de; CRUZ, C.D. 1995. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho . Pesquisa Agropecuária Brasileira 30(5):683-686. ●

COMPORTAMENTO DE VARIEDADES E HÍBRIDOS DE MILHO NO NORDESTE BRASILEIRO NO ANO AGRÍCOLA DE 1999/2000

Hélio Wilson Lemos de Carvalho¹, Maria de Lourdes da Silva Leal¹, Milton José Cardoso², Manoel Xavier dos Santos³, José Nildo Tabosa⁴, Denis Medeiros dos Santos¹, Marcondes Maurício de Albuquerque¹, Marcelo Abdón Lira⁵ e Benedito Carlos Lemos de Carvalho⁶

¹ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, 49001-970, Aracaju, Sergipe, Brasil. E-mail: helio@cpatc.embrapa.br;

² Embrapa Meio-Norte, Caixa Postal 001, 64006-220, Teresina, Piauí, Brasil;

³ Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, Caixa Postal 152, 35701-970, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil;

⁴ IPA-Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, Caixa Postal 1022; 50761-000, Recife, Pernambuco, Brasil;

⁵ Emparn, Rua Major Laurentino de Moraes, 1220; 59020-390, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil;

⁶ Embrapa/EBDA-Empresa Baiana de Desenvolvimento Agropecuário, Av. Dorival Caymmi, 15649, 41615-150, Salvador, Bahia, Brasil;

No decorrer do ano agrícola de 1999/2000, foram realizados ensaios em rede em blocos ao acaso, com três repetições, envolvendo a avaliação de 36 cultivares (variedades e híbridos) e de 41 híbridos de milho, em 23 e 25 ambientes, respectivamente, visando selecionar materiais de melhor adaptação às condições edafoclimáticas do Nordeste brasileiro e portadores de características agronômicas desejáveis, para fins de recomendação. As variações atribuídas às cultivares, variedades e híbridos, bem como, as respectivas interações, cultivares x ambientes e híbridos x ambientes foram significativas a 1% de probabilidade, pelo teste F, o que indica diferenças entre os genótipos avaliados e comportamento inconsistente desses genótipos frente às oscilações ambientais. Os híbridos expressaram melhor comportamento produtivo que as variedades, superando-as em 25%. Nos ensaios envolvendo híbridos, Zeneca 8550, Zeneca 8420, AG 8080, DK 350, Cargill333 B, AG 1051, Dina 1000 Dk 440 apresentaram melhor adaptação, com produtividades oscilando entre 7.714 kg/ha a 7.716 kg/ha, tendo importância expressiva nos sistemas de produção de melhor tecnificação. As variedades AL 25, AL 30, Sertanejo, AL 34 e São Francisco expressaram boa adaptação no Nordeste brasileiro e se constituem em excelentes alternativas para exploração nos sistemas de produção dos pequenos e médios agricultores da região.

Palavras-chave: *Zea mays* L., interação genótipos x ambientes.

Behaviour of corn and hybrids in the Brazilian Northeast in the agricultural year 1999/2000. During the agricultural year 1999/2000 a series of trials were carried out, using a randomized blocks design, with three replications to evaluate 36 corn cultivars (varieties and hybrids) and 41 corn hybrids, in 23 and 25 environments, respectively, aiming to screen materials more adapted to the edafoclimatic conditions of the Brazilian Northeast and presenting good agronomic characteristic for use by growers. Variations attributed to cultivars (varieties and hybrids) as well as, their interactions with the different environments were significant at 1% probability by F test. There was differences among genotypes but no differences was found in their interactions with the environments. Hybrid expressed more productivity than varieties (25% higher). Zeneca 8550, Zeneca 8420, AG 8080, DK350, Cargill 333 B, AG 1051, Dina 1000 and DK 440 hybrids showed better adaption and productivities varying from 7.714 kg/ha to 7.716 kg/ha, under production systems of higher tecnology. The varieties AL 25, AL 30, Sertanejo, AL 34 and São Francisco expressed good adaptation to Brazilian Northeast region and are good options for medium and small growers.,

Key words: *Zea mays* L., genotype x environment interaction.

Introdução

Nos últimos anos, o rendimento do milho no Nordeste brasileiro vem aumentando gradativamente, em razão da importância econômica desse produto para a região e do uso de variedades melhoradas e de híbridos adaptados aos diferentes sistemas de produção predominantes, o que torna imprescindível a continuidade de um programa de melhoramento voltado para a avaliação de variedades e híbridos, visando subsidiar aos agricultores na escolha de novos materiais que são lançados anualmente no mercado.

Diversos trabalhos de competição de cultivares realizados no Nordeste brasileiro (Cardoso et al., 1997 e 2000 a e Carvalho et al., 1999a e 2000b) ressaltaram a superioridade dos híbridos em relação às variedades, e a importância desses materiais naquelas áreas que utilizam tecnologias modernas de produção, a exemplo das áreas de cerrados nordestinos, localizados no Oeste Baiano, no Sul do Maranhão e no Pólo Uruçuí-Gurgéia, no Piauí. Além dessas áreas, os autores supracitados mencionaram a importância dos híbridos em algumas áreas dos Estados do Rio Grande do Norte, Pernambuco e Alagoas. No Estado do Ceará, Monteiro et al. (1998) mostraram a importância dos híbridos e das variedades melhoradas no incremento da produtividade dos sistemas de produção predominantes no Estado.

Apesar da região demonstrar potencialidade para o desenvolvimento do milho, conforme evidenciaram os trabalhos supramencionados, a produtividade desse cereal no Nordeste brasileiro ainda é baixa, o que leva a importação de grande quantidade de milho para atender a demanda regional. Esse fato reforça a necessidade de dar continuidade ao programa de pesquisa voltado para a avaliação de variedades melhoradas e portadoras de atributos agronômicos desejáveis e, de híbridos, que estejam em disponibilidade no mercado e em fase de pré-lançamento, no sentido de fornecer alternativas para os diferentes sistemas de produção. A importância das variedades é marcante para os pequenos e médios produtores, que têm limitação de capital e não podem investir em tecnologias de produção. Por outro lado, os híbridos têm suas recomendações justificadas para aquelas áreas de melhores níveis tecnológicos.

Considerando esses aspectos, realizou-se o presente trabalho visando avaliar variedades e híbridos de milho em diversos locais do Nordeste brasileiro, para fins de recomendação e orientação para diferentes sistemas de produção.

Material e Métodos

Foram realizadas duas redes experimentais no Nordeste brasileiro, no ano agrícola de 1999/2000,

sendo uma delas envolvendo 24 variedades e 12 híbridos, com os seus ensaios distribuídos em vinte e três locais, e uma outra, formada só por híbridos, com os seus ensaios localizados em vinte e cinco locais. Em novembro de 1999, foram plantados os ensaios de Palmeiras do Piauí e Bom Jesus, no Piauí. Em dezembro de 1999, foram instalados os ensaios de São Raimundo Mangabeira, Sambaíba, Barra do Corda, no Maranhão, Baixa Grande do Ribeiro, no Piauí e Lapão, Ibititá, Barra do Choça e Barreiras (locais 1 e 2), na Bahia. Em janeiro de 2000, os plantios foram feitos nos municípios de Anapurus, no Maranhão, Teresina, Parnaíba, Guadalupe e Rio Grande do Piauí, no Piauí, Araripina, em Pernambuco e Riachão das Neves, na Bahia. Em fevereiro de 2000, foi plantado o ensaio de Serra Talhada, em Pernambuco. Em abril de 2000, foi feito o plantio do ensaio de Caruaru, em Pernambuco. Os ensaios de Vitória de Santo Antônio e São Bento do Una, em Pernambuco, Coruripe, em Alagoas e Neópolis e Nossa Senhora das Dores, em Sergipe, foram plantados em maio de 2000.

Os índices pluviométricos (mm) registrados nas áreas experimentais oscilaram entre 239,3 mm, Barra do Choça, a 1643,6 mm, em São Raimundo Mangabeira (Tabela 1). As coordenadas geográficas de cada município estão na Tabela 2, observando-se que eles estão compreendidos entre os paralelos 02°53', em Parnaíba, no Piauí a 14°36', em Barra do Choça, na Bahia, abrangendo diferentes condições ambientais onde foram realizados os ensaios (Silva et al., 1994).

Os experimentos envolvendo variedades e híbridos abrangiam 36 cultivares (22 variedades e 14 híbridos). Os ensaios compostos por híbridos contemplaram 41 materiais. Em ambos os casos, utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso com três repetições. Cada parcela foi formada por quatro fileiras de 5,0 m de comprimento, espaçadas de 0,90 m e 0,50 m entre covas dentro das fileiras. Foram colocadas três sementes por cova, deixando-se após o desbaste, duas plantas por cova. As adubações de cada experimento obedeceram aos resultados das análises de solo de cada área experimental. Foram colhidas as duas fileiras centrais de forma integral, correspondendo a uma área útil de 9,0 m².

Foram medidos os seguintes caracteres: florescimento masculino, alturas de planta e de espiga, estande de colheita, número de espiga colhidas e peso de grãos. Os dados de florescimento masculino foram tomados quando 50% das plantas das duas fileiras centrais emitiram os pendões. A altura da planta foi medida do solo até a base do pendão e a altura da espiga do solo até a base de inserção da primeira espiga. Os pesos de grãos de todos os tratamentos foram ajustados para 15% de umidade.

Tabela 1. Índices pluviais (mm) ocorridos durante o período experimental. Região Nordeste do Brasil, 1999/2000.

Locais	1999		2000								Totais
	Nov.	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	
S. R. Mangabeira	-	351,3*	366,4	401,6	364,5	159,8	-	-	-	-	1643,6
Sambaíba	-	347,0*	231,0	399,0	245,0	93,0	-	-	-	-	1315,0
Barra do Corda	-	235,8*	139,0	212,6	266,0	214,4	-	-	-	-	1067,8
Anapurus	-	-	207,0*	254,0	321,0	426,0	245,0	-	-	-	1453,0
Teresina	-	-	306,8*	329,8	298,4	68,4	6,7	-	-	-	1010,1
Parnaíba	-	-	166,5*	233,9	157,5	391,5	201,1	-	-	-	1150,5
Guadalupe	-	-	173,0*	312,0	369,5	147,0	64,6	-	-	-	1066,1
Rio Grande Piauí	-	-	185,0*	310,0	390,4	128,2	50,1	-	-	-	1063,7
Palmeiras Piauí	345,0*	236,5	224,0	265,0	135,5	-	-	-	-	-	1206,0
Bom Jesus	-	365,0	149,5	172,0	179,0	-	-	-	-	-	1131,5
Baixa G. Ribeiro	-	277,5*	173,0	364,5	367,0	91,5	-	-	-	-	1273,5
Canguaretama	-	-	-	147,2*	82,6	199,0	200,8	-	-	-	629,6
Caruaru	-	-	-	-	108,5	92,6	315,3	244,1	376,5	-	1136,5
S. Bento do Una	-	-	-	-	-	4,0*	139,2	70,6	97,0	-	310,8
Serra Talhada	-	-	-	16,6*	92,9	174,9	16,4	33,2	-	-	334,0
Araripina	-	-	27,6*	133,3	106,2	106,2	2,6	-	-	-	375,9
V. Santo Antônio	-	X*	X	X	X	X	-	-	-	-	X
Coruripe	-					116*	255	240	113	-	724
N. Sra. Das Dores	-					122,0	269,0	120,0	142,0	-	653,0
Neópolis	-					150,0	351,5	184,0	69,0	-	754,5
Lapão	-	212,9*	129,4	86,9	25,0	-	-	-	-	-	454,2
Ibititá	-	207,0*	57,8	74,7	64,2	-	-	-	-	-	403,7
Riachão das Neves	-	-	265,0*	290,5	84,0	11	-	-	-	-	650,5
Barra do Choça	-	38,1*	69,5	83,1	48,6	-	-	-	-	-	239,3
Barreiras 1	-	200,0*	163,0	285,0	219,0	-	-	-	-	-	867,0
Barreiras 2	-	200,0*	170,0	290,0	180,0	-	-	-	-	-	840,0

*Mês de plantio; X: não registrado.

Tabela 2. Coordenadas geográficas dos locais e tipos de solo das áreas experimentais.

Estado	Município	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude	Tipo de solo
Maranhão	S. R. Mangabeira	7° 22'	45° 36'	-	PVA
	Sambaíba	7° 08'	45° 20'	-	PA
	Barra do Corda	5° 43'	45° 18'	-	LA
	Anapurus	3° 55'	43° 30'	-	LA
Piauí	Teresina	5° 5'	42° 49'	72	A
	Parnaíba	2° 53'	41° 41"	15	AQ
	Guadalupe	6° 56'	43° 50'	180	LVA
	Rio G. do Piauí	7° 36'	43° 13"	270	PVA
	Palmeiras Piauí	8° 43'	44° 14'	-	LA
	Bom Jesus	9° 04'	44° 21'	-	LA
	Baixa G. Ribeiro	7° 32'	45° 14'	-	AQ
	Canguaretama	6° 22'	35° 07'	5	LVA
Rio G. do Norte	São Bento do Una	8° 31'	36° 22'	645	R
	Serra Talhada	8° 17'	38° 29'	365	PVA
	V. Santo Antônio	8° 21'	35° 21'	350	LVA
	Araripina	7° 33'	40° 34'	620	LVA
	Caruaru	8° 34'	38° 00'	537	PVA
Alagoas	Coruripe				
	N. Sra. Das Dores	10° 30'	37° 13'	200	LVA
Sergipe	Neópolis	10° 16'	36° 05'	15	A
	Lapão	11° 21'	41° 41'	785	A
Bahia	Ibititá	11° 32'	41° 41'	700	A
	Riachão das Neves	11° 48'	44° 41'	498	A
	Barreiras 1	10° 48'	44° 41'	800	AQ
	Barreiras 2	12° 21'	44° 41'	780	AQ
	Barra do Choça	14° 36'	40° 36'	880	PVA

¹ A- Aluvial; AQ- Areia Quartzosa; LVA- Latossolo Vermelho-Amarelo; PVA- Podzólico Vermelho-Amarelo;
R- Regossolo; LA - Latossolo Amarelo; PA- Podzólico Amarelo.

Todos esses dados foram submetidos a uma análise de variância, obedecendo ao modelo em blocos ao acaso. Após a análise de variância de cada experimento, efetuou-se a análise de variância conjunta, obedecendo ao critério de homogeneidade dos quadrados médios residuais, considerando aleatórios os efeitos de blocos e ambientes e fixo o efeito de cultivares. As referidas análises foram realizadas utilizando-se o Statistical Analysis System (SAS Institute, 1996) para dados balanceados (PROCANOVA). O seguinte modelo foi utilizado:

$$Y_{ijk} = u + C_i + A_j + CA_{ij} + B/A_{kj} + \varepsilon_{ijk}, \text{ em que:}$$

u: média geral; C_i : efeito da cultivar i ; A_j : efeito do local j ; CA_{ij} : efeito da interação da cultivar i com o local j ; B/A_{kj} : efeito do bloco K dentro do local j ; ε_{ijk} : erro aleatório.

Resultados e Discussão

Na Tabela 3 são apresentadas as médias e um resumo das análises de variância conjuntas para os caracteres florescimento feminino, alturas de planta e de espiga, estande de colheita e número de espigas colhidas, referentes aos ensaios envolvendo variedades e híbridos. Nessas análises foram observados efeitos significativos, a 1% de probabilidade, pelo teste F, para as fontes de variação: cultivares, locais e interação cultivares x locais, o que evidencia diferenças entre as cultivares e os locais, além de mostrar que o comportamento das cultivares foi inconsistente nos diferentes ambientes. Resultados semelhantes foram obtidos nas análises conjuntas dos ensaios com híbridos (Tabela 4). Tal comportamento tem sido observado em outros resultados no Nordeste brasileiro, em trabalhos de competição de variedades e híbridos (Cardoso et al., 1997 e 2000 e Carvalho et al., 1992, 1999c e 2000a).

A precocidade assume importância significativa no Nordeste brasileiro, em razão de reduzir os riscos do cultivo naquelas áreas de domínio do semi-árido nordestino, onde os períodos chuvosos são curtos. Essa característica evidenciou-se nas variedades CMS 47, CMS 35 e Assum Preto (Tabela 3) e nos híbridos AG 9010 e SHS 5050 (Tabela 4). Carvalho et al. (1999 b) ressaltam que a precocidade também exerce importância naquelas áreas que mostram um período chuvoso constante, a exemplo dos Tabuleiros Costeiros do Nordeste, em razão de favorecer a colheita de duas safras dentro do mesmo ano agrícola, especificamente, na faixa compreendida entre os Estados da Bahia e Alagoas. Nesta faixa, com o período chuvoso compreendido entre os

meses de março a setembro, pode-se iniciar um plantio de milho visando à produção de milho verde ou de grão até junho, e em um segundo plantio, com cultivares superprecoces, na segunda quinzena de junho, visando a produção de grãos.

As médias detectadas para as alturas de planta e de inserção da primeira espiga foram de 203 cm e 99 cm, respectivamente, aparecendo com menores alturas de plantas e de inserção da primeira espiga, as variedades CMS 47, CMS 35 e Assum Preto e os híbridos Cargill 929 e AG 3010, apesar de não diferirem, estatisticamente, de alguns outros materiais (Tabela 3). Nos ensaios englobando os híbridos (Tabela 4) as menores alturas de planta e de inserção da primeira espiga, ficaram com híbridos AG 9010 e AG 8020, apesar de serem semelhantes, estatisticamente, a alguns outros híbridos. Vale ressaltar que, cultivares de milho com menor altura de planta e de espiga favorecem o plantio de um maior número de plantas por unidade de área e conferem uma maior tolerância ao acamamento do colmo.

Na Tabela 5, constam as produtividades médias de grãos e os resultados das análises de variância individual e conjunta no tocante aos ensaios que envolvem variedades e híbridos, podendo-se observar diferenças entre as cultivares em todos os ensaios. Os coeficientes de variação obtidos oscilaram entre 8 % a 19 % conferindo boa precisão aos ensaios (Scapim et al., 1995).

A média de produtividade nesses ensaios variou de 2.835 kg/ha, em Coruripe a 8.240 kg/ha, em Teresina sequeiro, o que indica ampla faixa de variação nas condições ambientais em que foram realizados os ensaios. Os locais Teresina sequeiro e Parnaíba irrigado, no Piauí, apresentaram melhor potencialidade para a exploração do milho, com produtividades médias de 8,240 kg/ha e 8.007 kg/ha, respectivamente. Os municípios de Anapurus, no Maranhão, Rio Grande do Piauí, Parnaíba sequeiro e Teresina irrigado, no Piauí, Barra do Choça, Lapão, Ibititá e Barreiras (local 1), na Bahia, destacaram-se, também, como ambientes favoráveis à exploração do milho, com produtividades médias acima da média geral (5.201 kg/ha).

A produtividade média das cultivares variou de 3.541 kg/ha (CMS 47) a 6.712 kg/ha (Pioneer 3041), sobressaindo-se, com produtividades médias entre 6.016 kg/ha e 6.712 kg/ha, os híbridos Cargill 929, Pioneer 3027, Pioneer 3021, AG 5011, Zeneca 8501 e Pioneer 304, embora considere-se que aquelas cultivares que apresentaram rendimentos médios acima da média geral, mostraram boa adaptação no Nordeste brasileiro (Mariotti et al., 1976). Os híbridos, com média de 5.917 kg/ha, superaram em 25% o desempenho médio das variedades, o qual foi de 4.747 kg/ha, apesar de diversas variedades, tais como, AL 25, AL 30, Sertanejo e AL 34, apresentarem

Tabela 3. Comportamento das cultivares quanto aos caracteres avaliados. Região Nordeste do Brasil, 1999/2000.

Cultivares	Florescimento feminino	Altura de planta	Altura de espiga	Estande de colheita	Espigas colhidas
BR 206 ⁴	59	196	98	39	40
BR 106 ¹	59	210	105	37	43
Guape 209 ¹	59	232	129	37	36
AL Manduri ¹	59	230	123	39	38
Pioneer 3027 ⁴	59	198	98	40	42
BRS 2110 ⁴	59	199	95	38	40
AL 30 ¹	59	217	110	39	39
CMS 50 ¹	59	220	112	37	37
Cargill 444 ⁴	58	203	94	39	39
A2288 ¹	58	198	85	39	38
Asa Branca ¹	58	192	97	36	35
AL 25 ¹	58	217	110	39	39
Sertanejo ¹	58	212	106	37	38
Pioneer 3021 ⁴	58	195	95	38	37
Saracura ¹	58	201	98	34	35
São Francisco ¹	58	204	102	38	37
Zeneca 8501 ³	58	198	97	40	40
Sintético Dentado ¹	58	196	93	37	39
AL 34 ¹	58	221	116	39	39
Pioneer 3041 ⁴	58	213	105	39	41
CMS 59 ¹	58	205	102	38	40
AG 5011 ³	57	204	90	40	40
Agromen 2003 ⁴	57	211	98	40	40
Boz ¹	57	207	99	39	40
SHS 8447 ⁴	57	219	106	39	39
Sintético Duro ¹	57	198	96	38	38
São Vicente ¹	57	212	104	38	39
BR 473 ¹	57	208	99	36	36
Agromen 3100 ⁴	56	198	92	40	41
AG 3010 ³	56	185	85	40	41
Cargill 929 ²	55	177	77	40	41
CMS 453 ¹	55	197	95	39	40
Cruzeta ¹	54	187	91	38	39
Assum Preto ¹	52	203	98	37	36
CMS 35 ¹	50	182	82	38	38
CMS 47 ¹	48	170	77	38	38
Média	57	203	99	38	39
C. V. (%)	3	16	12	7	10
F(L)	1961,6**	78,8**	222,9**	102,1**	120,1**
F (C)	135,4**	12,6**	63,1**	16,0**	16,0**
F (L x C)	3,3**	1,0ns	1,4*	1,4*	1,3*
D. M. S (5 %)	2	121	9	2	3

** e * Significativos a 1% e 5% pelo teste F.

¹ Variedade, ²Híbrido simples, ³híbrido triplo e ⁴ híbrido duplo.

Tabela 4. Comportamento de híbridos de milho quanto aos caracteres avaliados. Região Nordeste do Brasil, 1999/2000.

Híbridos	Florescimento feminino	Altura de planta	Altura de espiga	Estande de colheita	Espigas colhidas
BRS 3060 ²	59	212	99	38	39
Pioneer 30 F 80 ¹	58	197	98	39	40
AG 1051 ³	58	208	113	39	41
Cargill 333 B ¹	58	197	93	39	44
Braskalb XL 360 ²	58	200	102	39	44
Dina 800 E ¹	58	212	106	39	44
BR 3123 ²	58	200	100	39	40
BRS 3101 ²	58	198	97	38	43
SHS 4040 ³	57	195	90	36	38
AG 8080 ²	57	208	90	40	43
Dina 1000 ¹	57	200	98	40	45
Zeneca 84 E 90 ¹	57	176	83	38	43
96 HT 91 ²	57	207	100	35	37
Pioneer 30 F 88 ¹	57	189	93	39	41
Zeneca 8420 ¹	57	183	97	39	41
Agromen 2014 ²	57	189	93	39	41
Pioneer 30 F 45 ¹	57	209	104	39	41
Pioneer 30 F 33 ¹	57	189	97	40	40
Colorado 34 ²	56	196	93	39	43
HT 1 ²	56	209	101	39	44
Colorado 9743 ²	56	196	93	39	42
HT 9 ²	56	196	91	39	42
Cargill 747 ³	56	193	98	40	42
Colorado 32 ²	56	196	92	39	42
95 HT 74 ²	56	217	103	38	40
Dina 500 ³	56	200	96	39	41
Colorado 9560 ¹	56	186	88	39	41
DK 440 ¹	56	194	95	40	43
Pioneer 30 K 75 ¹	56	187	93	39	42
DK 350 ²	56	191	92	39	42
HT 5 ²	56	195	93	38	41
Zeneca 8330 ²	56	190	92	39	42
Cargill 909 ¹	56	201	94	39	41
Zeneca 8550 ¹	56	185	85	39	44
HT 10 ²	55	187	89	39	42
Zeneca 8410 ¹	55	186	88	39	39
AG 8020 ¹	55	177	84	40	44
AG 9090 ¹	55	187	83	40	41
Zeneca 8392 ¹	54	195	88	39	41
SHS 5050 ²	53	183	90	38	40
AG 9010 ²	52	168	76	40	42
Média	56	195	93	39	42
C. V. (%)	3	7	10	6	9
F (L)	1590,5**	373,0**	360,8**	160,3**	134,2**
F (H)	39,7**	39,0**	42,0**	12,3**	16,7**
F (H x L)	1,9**	1,2*	1,3*	1,6*	1,7*
D. M. S. (5 %)	2	10	7	2	3

** e * Significativo a 1 % e a 5 % de probabilidade pelo teste F.

¹ Híbrido simples, ² híbrido triplo e ³ híbrido duplo.

Tabela 5. Produtividades médias de grãos e resumo das análises de variância, por local e conjunta, obtidas nos ensaios de competição de variedades e híbridos. Região Nordeste do Brasil, 1999/2000.

Cultivares	Maranhão				Piauí				RNorte		Pernambuco			
	Barra do Corda	Anapurus	Rio Grande	Guadalupe Irrigado	Parnaíba Parnaíba	Teresina Sequeiro	Teresina Irrigado	Cangua- retama	Arari- pina	S. Bento do Una	Serra Talhada	Viôria St. Antônio	Caruaru	
Pioneer 3041 ⁴	5916	6583	8125	5416	10096	8462	9150	11438	5233	6990	5773	4381	5761	5983
Zeneca 8501 ³	5375	7500	6687	4792	9438	7425	8162	9437	5033	4915	5161	3833	4991	6267
AG 5011 ³	6208	6562	6917	5333	9551	7933	8525	10937	4183	7953	4442	4640	5392	6650
Pioneer 3021 ⁴	6250	6479	9479	5062	8274	7981	5853	9833	4233	5246	6330	4418	4694	5183
Pioneer 3027 ⁴	4341	5916	7062	4542	8349	7181	7407	8333	3817	3908	5267	3877	5502	5583
Cargill 929 ²	5812	7166	7271	4437	8546	7068	8014	9322	4967	4839	4210	4358	5006	5250
Cargill 444 ⁴	5446	7095	6708	4437	9541	7754	8055	8475	3950	4337	3965	3841	5176	5983
Agromen 3100 ⁴	4543	5854	7104	4021	8495	7121	7822	8533	4650	6551	4012	3937	5143	4650
AG 3010 ³	4352	5979	5812	4750	9579	6608	6068	9292	4050	6816	4445	4233	4943	5517
Agromen 2003 ⁴	4292	6312	6687	4458	9464	6942	7896	10125	4093	4709	3744	3907	4118	5267
AL 25 ¹	4958	6229	7708	4312	7608	7066	7822	9229	4217	5911	4764	3774	4225	4950
AL 30 ¹	4312	6500	7146	4125	7921	7616	7355	8471	4100	4446	5068	3884	4074	4750
BR 206 ⁴	4562	6091	6791	4541	9569	6854	8340	8979	3667	4935	4019	4299	4214	5583
SHS 8447 ⁴	5000	6229	6646	3746	8298	7162	6641	8708	4300	5991	4091	3841	4028	5667
Sertanejo ¹	6125	5716	7183	4458	8631	5887	8491	7875	4483	5637	4209	4678	4651	5317
A 2288 ²	5072	6739	7833	4342	7934	7142	6752	6837	4067	6071	6956	3134	3886	5350
AL 34	4594	5458	6416	4354	7495	6934	7037	9042	3867	5060	4346	3433	4525	4217
BRS 2110 ⁴	3854	5812	6812	4521	8348	5839	7378	8771	4283	5142	4604	4011	3741	4783
CMS 59 ¹	4875	5271	6416	3925	9252	6143	6589	9083	4067	4058	3657	4058	4417	4417
São Francisco ¹	4979	6937	6583	4471	6906	5690	6603	8250	3467	5521	3693	4095	4016	3633
São Vicente ¹	5708	6896	5291	8217	6929	5158	9188	4233	4779	4056	4566	3330	3317	3317
Asa Branca ¹	6129	4825	7146	4187	7675	5013	6909	8708	3417	5449	3623	4295	3922	3833
Boz ¹	4271	4729	6215	3271	7125	6244	6882	8917	3967	4921	4310	3937	3479	5000
Sintético Dantado ¹	5083	5479	6250	4104	9037	6252	6726	7479	3600	5286	2269	2893	3367	4133
BR 106 ¹	5750	5008	5483	4221	8492	6279	6793	7667	3667	4029	3599	3138	3852	4267
Sintético Duro ¹	4771	5708	5791	3716	7670	6156	6430	5964	4300	5040	2803	4114	3108	4617
AL Manduri ¹	4146	5021	6396	4221	6697	6229	6408	6625	3383	4741	3995	3433	3285	4783
CMS 50 ¹	5521	5812	6083	3458	8582	6272	5935	7993	4167	3863	2975	3256	3174	3533
CMS 453 ¹	4187	4625	6312	4812	7179	5587	5594	8271	3850	3901	3269	3929	3981	4450
Assum Preto ¹	4508	6250	5729	3708	7859	5448	5572	6292	3200	4159	3757	3322	3193	3967
Cruzeiro ¹	4883	5125	5875	4187	7171	4912	5528	7917	4183	5105	3624	3700	3330	4083
BR 473 ¹	4062	4729	6093	4458	6759	4535	5198	5833	3833	4772	2588	3544	4067	-
CMS 35 ¹	3864	4612	5947	3625	6496	5216	48890	6583	3333	4370	2558	3936	3226	3817
Saracura ¹	5062	5879	5417	3666	6546	5479	5531	6233	3017	3404	2510	2321	3041	3717
Guape 209 ¹	4054	6341	3271	5541	4262	3829	5400	2617	2424	2400	2671	2586	2850	-
CMS 47 ¹	3250	3833	5479	3883	6915	5454	4179	5542	3133	3264	2251	2871	2645	2617
Média	4891	5847	6586	4281	8007	6419	6711	8240	3961	4960	3899	3754	4016	4666
C. V. (%)	14	13	11	12	11	8	11	12	11	16	13	11	11	11
F (C)	3,7**	3,4**	4,3**	3,3**	5,6**	10,7**	9,3**	6,6**	5,1**	5,6**	10,1**	5,8**	11,7**	10,0**
F (L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F (C x L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D. M. S. (%)	2254	2534	2427	1668	2866	1758	2358	3246	1396	2630	1721	1395	1400	1690

**: Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

¹: Variedade, ²: híbrido simples, ³: híbrido tripleno e ⁴: híbrido duplo.

Continuação da Tabela 5

Cultivares	Alagoas		Sergipe		Bahia					Análise Conjunta
	Coruripe	Nossa Sra. Dores	Neópolis	Barra do Choça	Lapão	Ibititá	Riachão das Neves	Barreiras 1	Barreiras 2	
Pioneer 3041 ⁴	3467	6355	3156	8030	7539	5892	7029	5658	7932	6712
Zeneca 8501 ³	4300	7379	4273	7971	6419	5617	6806	5943	8877	6374
AG 5011 ³	4150	4282	2860	7493	5920	6771	4687	4973	7119	6241
Pioneer 3021 ⁴	2733	7084	3467	7103	8457	5683	3847	6720	8118	6154
Pioneer 3027 ⁴	3717	6658	5161	6788	7683	5615	7497	5026	9146	6079
Cargill 929 ²	3400	5665	3614	6472	7730	5687	5187	6572	7767	6016
Cargill 444 ⁴	4000	4868	3382	7347	6799	5683	5959	6721	7928	5918
Agromen 3100 ⁴	4267	5972	3955	6603	6773	6175	6088	5309	7038	5917
AG 3010 ³	3150	5458	3508	6569	7438	6002	6037	6029	7197	5819
Agromen 2003 ⁴	2783	5198	3577	6834	7077	6016	6576	5187	5991	5707
AL 25 ¹	3067	4443	4032	6831	6922	5557	4207	5199	7141	5660
AL 30 ¹	2367	4853	4489	5955	7654	5276	6060	6190	7334	5654
BR 206 ⁴	2600	5117	3389	7002	6439	6186	5700	4287	6341	5631
SHS 8447 ⁴	3567	5604	3200	7117	5884	5172	2278	4672	7068	5601
Sertanejo ¹	2900	4811	3888	4641	5981	4289	5382	4698	5782	5486
A 2288 ²	2933	5125	3008	5732	4972	5923	4283	5258	7570	5391
AL 34	3000	4182	3692	6464	5336	4843	6762	5574	7327	5389
BRS 2110 ⁴	2850	4052	2727	5430	5651	5451	5638	4682	6733	5266
CMS 59 ¹	2683	4462	2969	6096	6480	5354	4601	4772	6840	5161
São Francisco ¹	2567	5052	3718	5695	5451	4159	4824	4215	5932	5063
São Vicente ¹	2067	3799	1820	5546	4796	4323	4280	4497	5449	4971
Asa Branca ¹	2617	4427	2757	5616	5503	5361	5340	4924	4145	4905
Boz ¹	2333	4420	3478	5095	6742	5102	4229	4006	5763	4976
Sintético Dantado ¹	2550	4810	2853	5211	6334	4891	4838	3658	5888	4913
BR 106 ¹	2567	3251	1668	4597	6318	4045	4787	4428	6638	4809
Sintético Duro ¹	2000	4512	2693	5318	5641	4963	4434	4686	5687	4788
AL Manduri ¹	2600	4144	2923	5348	6295	4217	3587	4578	6024	4745
CMS 50 ¹	3033	3596	1850	4263	6764	5218	2783	4552	5457	4698
CMS 453 ¹	1983	5014	3267	3821	6864	4404	3547	3772	5481	4700
Assum Preto ¹	3233	3948	2653	4142	5807	4191	4100	3947	4357	4493
Cruzeta ¹	2050	3764	2709	4497	5006	4579	2709	3511	4390	4469
BR 473 ¹	1833	2906	2346	4170	4875	4881	3054	4355	4790	4199
CMS 35 ¹	2167	3254	2430	4086	4796	3778	3643	3522	5075	4140
Saracura ¹	1850	2846	2005	4152	4757	4891	2824	2388	4507	4002
Guape 209 ¹	2317	3335	2216	2825	4440	5299	3001	3159	4632	3655
CMS 47 ¹	2350	2147	1730	2909	4099	3188	2931	3044	3715	3541
Média	2835	4633	3096	5660	6156	5132	4801	4742	6329	5201
C. V. (%)	14	9	14	12	12	12	16	13	19	12
F (C)	8,2**	24,0**	10,3**	11,2**	5,7**	4,9**	9,3**	8,9**	16,6**	99,7**
F (L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	530,1**
F (C x L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,4**
D. M. S. (5 %)	1344	1359	1423	2307	2517	1993	2468	1950	1916	774

** Significativo a 1 % de probabilidade, pelo teste F.

¹ Variedade, ² híbrido simples, ³ híbrido triplo e ⁴ híbrido duplo.

rendimentos semelhantes aos de alguns híbridos. A superioridade dos híbridos em relação às variedades, na região, têm sido detectada em diversas oportunidades, conforme ressaltam Cardoso et al. (1997 e 2000 a) Monteiro et al. (1998) e Carvalho et al. (2000 b). Os híbridos Pioneer 3041 e Pioneer 3021 e a variedade Sertanejo, São Francisco, CMS 59 e São Vicente confirmaram o bom desempenho que têm manifestado em outros trabalhos realizados na região (Cardoso et al., 2000 e Carvalho et al., 2000 a e 2000 b).

Na Tabela 6 é mostrado um resumo das análises de

variância da cada ensaio envolvendo os híbridos, observando-se que, à exceção do ensaio realizado no local Rio Grande do Piauí, detectaram-se diferenças significativas entre os híbridos, a 1% de probabilidade, pelo teste F, o que revela comportamento diferenciado entre os híbridos, dentro de cada local. Os ensaios apresentaram boa precisão, com coeficientes de variação oscilando entre 7% a 16%. A análise conjunta identificou efeitos significativos de híbridos, locais e interação híbridos x locais à semelhança das análises anteriores. As médias dos ensaios variaram de 3.669 kg/ha, no

Tabela 6. Produtividades médias de grãos (kg/ha) e resumo das análises de variância por local e conjunta, obtidas nos ensaios de competição de híbridos. Região Nordeste do Brasil, 1999/2000.

Híbridos	Maranhão					Piauí									
	Sambabfa	Anapurus	S. Raimundo	Barra do	Mangabeira	Palmeiras	Teresina	Teresina	Baixa	Bom	Guada-	Rio	Parnaíba	Parnaíba	
				Corda		do Piauí	Sequeiro	irrigado	Grande	Jesus	lupe	Grande	do Piauí	sequeiro	irrigado
DK 440 ¹	9000	7437	8083	5896	9354	10654	8521	12290	8484	6333	8666	8579	10258		
Dina 1000 ¹	9250	7396	8916	6165	10079	11083	8824	10896	8842	5126	8312	9306	10058		
AG 1051 ³	9583	8729	9501	5667	10979	11354	9942	11312	8541	4500	8454	8414	10566		
Cargill 333 B ¹	7792	7333	8604	5673	10633	11958	8598	11583	8342	5021	8125	8129	10758		
DKB 350 ²	8583	7312	8562	5625	10166	9187	9231	11500	7507	5604	8333	8271	9346		
AGB 8080 ²	7812	7512	8146	5958	10417	10229	9598	10833	8508	5687	8250	7721	8129		
Zeneca 8420 ¹	8843	6958	9896	5479	8333	9521	9716	11812	7936	4625	8896	8379	10717		
Zeneca 8550 ¹	8625	6271	9062	6104	8583	12437	8469	11229	8627	5333	9312	7833	10379		
AG 9090 ¹	8104	7979	8396	4979	9021	9667	8639	12033	8675	5083	9167	9171	10092		
Pioneer 30 K 75 ¹	8042	7041	9291	5521	8645	8542	8343	11500	7722	4792	9354	8691	9141		
Pioneer 30 F 33 ¹	9000	7166	9437	5958	9104	9146	7636	11935	8327	4958	8396	8556	9633		
Pioneer 30 F 45 ¹	8475	6417	8250	7187	9729	9062	8917	11250	7746	5646	8008	8316	9792		
Dina 500 ³	8225	7771	8500	4792	9104	11708	7936	10625	7102	5292	8416	8634	10542		
AG 8020 ¹	8958	7771	8750	4812	9062	9479	8935	10291	8437	5354	8250	7362	10654		
Zeneca 8392 ¹	8167	7854	9270	6190	8875	9646	7566	10500	8341	5708	9146	8169	9216		
Dina 800 E ¹	8667	7729	8916	5375	10208	11229	9394	10771	8103	4937	7708	8175	10537		
Cargill 747 ³	8417	6854	8166	5483	10304	9156	7478	10104	7460	5291	8083	7158	8996		
Cargill 909 ¹	7800	6729	7646	4637	8104	9416	8638	11271	7674	5000	8000	7715	11325		
Zeneca 8330 ²	8025	6958	8437	5479	9708	9646	7918	10729	8198	5250	8229	7704	9846		
Zeneca 84 E 90 ¹	7583	7458	7980	5479	9312	11541	8998	11333	7722	5708	7562	7437	11058		
Colorado 9560 ¹	8250	8687	7979	5187	9479	6979	8251	10833	8675	5283	7437	7277	9896		
Braskalb XL 360 ²	6667	8021	7604	5529	8833	10458	8917	9854	7269	4687	8291	7633	11246		
Zeneca 8410 ¹	8417	7396	9896	4750	8396	10958	7192	9479	6602	4812	8708	7898	8133		
Agromen 2014 ²	7867	7437	7062	5562	10079	7718	8562	10833	8079	5479	8375	7608	9271		
Colorado 32 ²	7979	7479	7625	5541	9646	9625	8073	11039	8127	5104	7604	8571	7704		
SHS 5050 ²	8125	6958	7000	5187	9146	9542	8432	10333	8294	5458	8292	7979	10129		
Pioneer 30 F 80 ¹	8396	7021	8039	5312	8146	8854	7074	9375	6721	4062	8687	7769	9525		
Colorado 34 ²	7479	6575	7437	5958	9374	9562	8687	11021	7293	4292	7729	6712	11621		
Pioneer 30 F 88 ¹	7229	7125	8854	4958	8312	9125	8251	9912	6649	5646	7479	7496	9004		
BRS 3101 ²	6854	8521	8375	5425	8917	10742	8029	9604	7526	5500	8167	8552	9400		
BR 3123 ²	8083	6725	7962	4979	10266	9283	9194	9562	8217	5496	8604	7458	6487		
AG 9010 ¹	7708	6250	7416	4246	7479	7979	7381	10521	7650	4771	8000	7404	8512		
Colorado 9743 ²	7417	6416	7729	4729	9021	8729	9342	9625	8094	4666	7150	7250	9654		
BRS 3060 ²	8667	7896	8208	4937	8779	8679	8266	9292	7478	4352	8437	6096	9217		
HT ²	7625	6487	6896	5137	8145	11042	8606	9208	7469	4750	8396	7025	9829		
HT 10 ²	7542	5875	6250	4550	8875	9875	8025	10872	7526	4854	7375	7000	9725		
HT 9 ²	6979	6708	7916	4312	7812	9896	7193	9500	7493	4562	8062	6417	9040		
HT 5 ²	8187	6933	7408	5000	8875	7547	7540	9500	6840	3833	6846	7374	9162		
95 HT 74 ²	7354	6479	7333	4521	7896	8041	8276	9625	5744	3896	7250	6427	9262		
SHS 4040 ³	7542	6125	6858	5146	8667	9504	6034	8208	7317	4562	7583	7021	7883		
96 HT 91 ²	7896	5729	7004	5300	6646	8458	6975	8479	6888	4271	7730	6606	8158		
Média	8078	7156	8164	5335	9085	9714	8332	10498	7762	5014	8167	7741	9681		
C.V(%)	10	9	8	9	9	14	7	7	8	11	10	9	8		
F(H)	1,9*	3,3*	4,6**	4,0**	4,0**	2,4*	5,5**	5,6**	3,6**	3,2**	1,6ns	3,8**	4,6**		
F(L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
F(H x L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
D. M. S. (5 %)	2639	2245	2290	1674	2624	4522	2071	2342	2070	1756	-	2194	2549		

Continuação da Tabela 6

Híbridos	R G Norte	Alagoas		Pernambuco			Sergipe		Bahia			Análise conjunta	
	Ipan-guassu	Coruripe	Vitória de St. Antão	Arari-pina	Caruaru	S. Bento do Una	N.Sra. das Dores	Lapão	Ibititá	Barra do Choça	Barreiras 1	Barreiras 2	
DK 440 ¹	6200	5067	7283	5711	4529	4196	7199	9768	7388	6229	6229	8920	7716
Dina 1000 ¹	6367	3450	7283	6461	3248	4202	6678	10507	6264	7576	7576	8401	7675
AG 1051 ³	5733	3817	6583	4805	3693	4487	5957	7292	6516	8494	8494	8581	7617
Cargill 333 B ¹	6900	3067	6812	5650	4625	5815	6497	7671	6013	8470	8470	9599	7615
DKB 350 ²	6500	4050	7483	5627	4743	5064	6632	8194	7193	7711	7711	9776	7574
AGB 8080 ²	6967	3900	6083	5141	3974	4257	6931	10790	7214	6127	6127	9432	7468
Zeneca 8420 ¹	6367	3833	6500	7218	3804	3448	6992	8568	5160	7029	7029	9055	7443
Zeneca 8550 ¹	6167	3800	5817	6325	4070	4305	7283	9323	5017	6416	6416	8877	7414
AG 9090 ¹	5633	3683	5933	6908	4854	3990	6693	8770	6487	6206	6206	7699	7373
Pioneer 30 K 75 ¹	5600	4050	5533	6399	4759	4707	7348	9455	6834	6430	6430	9865	7363
Pioneer 30 F 33 ¹	6067	3217	6467	4915	3411	4097	6919	8620	8321	5320	5320	9920	7351
Pioneer 30 F 45 ¹	5867	3817	6283	5291	4114	5900	7145	8963	6157	5268	5268	9236	7322
Dina 500 ³	5533	3833	6667	5344	3359	4314	6022	7483	7144	6586	6586	8712	7235
AG 8020 ¹	5333	3933	5917	5627	4884	4970	7279	7619	5365	6575	6575	8860	7221
Zeneca 8392 ¹	5467	3883	5950	6650	4603	3791	7866	9145	5251	5951	5951	7490	7213
Dina 800 E ¹	5267	4467	4567	4007	3426	3529	6471	8211	7634	6831	6831	8663	7202
Cargill 747 ³	5867	4407	6150	6829	3463	5094	6164	7638	7426	8126	8126	8410	7178
Cargill 909 ¹	6267	4417	7233	6074	3937	4273	6762	9018	4705	6789	6789	9012	7178
Zeneca 8330 ²	6200	3700	6883	5915	4462	4529	7034	7255	5346	5804	5804	8485	7136
Zeneca 84 E 90 ¹	5400	3633	6700	5779	3330	3655	7164	6826	5265	5571	5571	8405	7071
Colorado 9560 ¹	6333	3950	5533	6165	4140	3406	5876	7108	6475	6448	6448	9587	7042
Braskalb XL 360 ²	5933	4050	6167	5712	3907	3045	6390	8749	6180	6383	6383	7309	6990
Zeneca 8410 ¹	6100	3617	5717	6005	3985	4939	7003	6652	5538	6184	6184	9309	6930
Agromen 2014 ²	6000	3333	6133	4719	4410	4975	6947	8310	5343	4832	4832	7421	6889
Colorado 32 ²	6200	3650	5100	6682	4013	3099	6716	7730	5118	6309	6309	7539	6857
SHS 5050 ²	5200	3983	5883	6318	4018	4143	6172	6883	5927	4919	4919	7350	6838
Pioneer 30 F 80 ¹	6167	3650	6467	4893	3444	4052	8123	7172	6257	6479	6479	9118	6835
Colorado 34 ²	5267	3933	5683	5855	3648	3240	5846	8062	4950	5211	5211	6099	6830
Pioneer 30 F 88 ¹	5500	3617	5350	4521	3788	3231	6684	7698	6537	5975	6849	9276	6763
BRS 3101 ²	5533	2967	4950	5908	4825	3561	4922	7574	5489	6021	5588	6074	6761
BR 3123 ²	6133	3433	5650	4021	3463	3205	5792	9055	5811	6247	4566	5890	6743
AG 9010 ¹	5233	4383	6383	6302	4440	4421	5777	8090	4811	6628	6071	8605	6659
Colorado 9743 ²	5967	3550	5883	5074	3115	3324	5945	6648	6039	5395	6086	7482	6573
BRS 3060 ²	4567	3417	5417	5477	3478	3339	4527	7096	6111	5236	6622	6837	6537
HT ²	4333	3417	6583	5923	3138	4281	4247	6704	5211	5613	6022	7247	6533
HT 10 ²	5000	2717	6017	6101	3678	3747	5371	7308	4688	5796	6138	7758	6506
HT 9 ²	5933	2817	6167	4710	4062	4323	5321	7285	5520	5563	7435	7537	6504
HT 5 ²	4467	3100	5017	6544	3530	35550	4784	6129	4637	5414	6074	6386	6183
95 HT 74 ²	5267	3567	5733	3779	3315	2932	5704	6869	4753	4948	6206	6415	6064
SHS 4040 ³	4333	3050	3783	5317	2733	2333	6014	7138	5306	5916	5234	5806	5980
96 HT 91 ²	3100	2150	2883	4393	2138	3018	4090	5792	4966	4238	4324	4098	5413
Média	5665	3669	5967	5636	3867	4019	6325	7931	5911	6107	6302	8137	6971
C.V. (%)	11	11	10	14	16	12	10	13	10	11	14	8	10
F(H)	4,7**	5,5**	7,1**	3,3**	2,8**	7,3**	7,1**	3,4**	7,8**	4,0**	3,4**	11,3**	35,3**
F(L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	814,1**
F(H x L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,8**
D. M. S. (5 %)	1991	1302	1937	2637	2102	1661	2000	3520	1913	2162	2946	2237	711

** Significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F.

¹ Híbrido simples; ² híbrido triplo e ³ híbrido duplo.

município de Coruripe, em Alagoas a 10.498 kg/ha, no município de Baixa Grande do Ribeiro, no Piauí. Os ensaios de Anapurus, Sambaíba e São Raimundo Mangabeira, no Maranhão, Palmeiras do Piauí, Teresina (em sequeiro e irrigado), Baixa Grande do Ribeiro, Bom Jesus, Rio Grande do Piauí e Parnaíba (em sequeiro e irrigado), no Piauí, Lapão e Barreiras (local 2), na Bahia,

apresentaram rendimentos médios acima da média geral (6.971 kg/ha), expressando melhor potencialidade para o desenvolvimento da cultura do milho. Essa variação deve-se a oscilação pronunciada nas condições climáticas (Tabela 1) e nas condições de solo dos locais em que foram realizados os ensaios (Tabela 2), refletindo-se no comportamento dos híbridos nos diferentes ambientes.

A produtividade média dos híbridos, 6.971 kg/ha (Tabela 6), expressa o alto potencial para a produtividade dos híbridos no Nordeste brasileiro, observando-se uma variação de 5.413 kg/ha a (96 HT 91) a 7.716 kg/ha (DK 440), sobressaindo com melhor adaptação aqueles híbridos de rendimentos superiores à media geral (Mariotti et al., 1976).

Considerando que o rendimento do milho vem aumentando gradativamente no Nordeste brasileiro, em razão da demanda desse cereal na região e do uso de variedades melhoradas e de híbridos superiores, torna-se necessário a recomendação de cultivares adaptadas e portadoras de atributos agronômicos desejáveis para exploração comercial, visando, cada vez mais, a melhoria de rendimento desse produto a nível de agricultores. Dessa forma, os híbridos de melhor performance avaliados no ano agrícola de 1999/2000, se constituem em alternativas importantes para exploração comercial na região, principalmente, naquelas áreas que predominam sistemas de produção melhor tecnificados, a exemplo das áreas dos cerrados nordestinos. Deve-se ressaltar a importância de algumas áreas localizadas na região de Irecê, representadas neste trabalho pelos municípios de Lapão e Ibititá, e no planalto de Vitória da Conquista, no município de Barra do Choça, onde a produtividade média dos híbridos foi também significativa.

As variedades AL 25, AL 30, Sertanejo, AL 34, São Francisco e Asa Branca, de produtividades semelhantes a alguns híbridos, podem também ser recomendadas para sistemas de produção com melhor grau de tecnificação, por apresentarem rendimentos médios superiores em relação à média de variedades, evidenciando boa adaptação. Dentre estas, as Sertanejo, São Francisco e Asa Branca, bastante difundidas no Nordeste brasileiro, vêm repetindo seguidamente, ao longo dos anos, bom desempenho em ensaios de competição de cultivares nessa região (Carvalho et al., 1992, 1999 a e 2000 b). As variedades Cruzeta e Assum Preto, também divulgadas na região, têm apresentado rendimentos satisfatórios nos trabalhos supramencionados, apresentando também, como características importante, a superprecocidade, o que justificativa suas recomendações para exploração nas áreas de domínio do semi-árido. A variedade Assum Preto, também associa à sua superprecocidade, a uma alta qualidade nutricional, com alta qualidade protéica. Variedades com essa característica são de extrema importância para o Nordeste brasileiro, onde se constata que a população de baixa renda, tanto rural quanto urbana, apresenta sérios problemas de desnutrição provocada, basicamente, por déficit protéico.

Conclusões

1. Os híbridos de milho mostram melhor adaptação que as variedades no Nordeste brasileiro, justificando suas recomendações, principalmente, para plantios de alta tecnologia.

2. Variedades recém-introduzidas, como AL 25, AL 30 e AL 34, de rendimentos semelhantes a alguns híbridos expressam boa adaptação na região, constituindo-se em alternativas importantes para exploração comercial.

3. As variedades Sertanejo, São Francisco e Asa Branca repetiram o bom comportamento apresentado em outros trabalhos, justificando suas recomendações no Nordeste brasileiro, especialmente nas zonas do agreste e dos tabuleiros costeiros.

4. As áreas de cerrados nordestinos apresentam condições edafoclimáticas bastante favoráveis ao desenvolvimento do milho, onde é intensivo o uso de tecnologias modernas de produção.

5. As variedades Assum Preto e Cruzeta, por serem materiais superprecoces, justificam suas recomendações no semi-árido nordestino, apesar de apresentarem rendimentos médios de grão abaixo da média geral.

Literatura Citada

- CARDOSO, M.J. et al. 1997. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Estado do Piauí no biênio 1993/94. Revista Científica Rural (Brasil) 2(1): 35-44.
- CARDOSO, M.J. et al. 2000. Estabilidade de cultivares de milho no Estado do Piauí. Revista Científica Rural (Brasil) 5(1): 62-67.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1999c. Adaptabilidade e estabilidade de variedades e híbridos de milho no Nordeste brasileiro. Revista Científica Rural (Brasil) 4(1): 25-34.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 2000a. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 35 (6): 1115-1123.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 2000b. Estabilidade de cultivares de milho em três ecossistemas do Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 35 (9): 1773-1781.
- CARVALHO, H.W.L. de.; MAGNAVACA, R.; LEAL, M. de L. da S. 1992. Estabilidade de produção de cultivares de milho no Estado de Sergipe. Pesquisa Agropecuária Brasileira 27(7): 1073-1082.

- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1998. Cultivares de milho no Nordeste brasileiro. Revista Científica Rural (Brasil) 3(2): p.27-36.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1999b. Adaptabilidade e estabilidade de produção de cultivares de milho no Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34(9): 1581-1591.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1999a. Adaptabilidade e estabilidade de comportamento de cultivares de milho em treze ambientes nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34(12): 2225-2234.
- MARIOTTI, I.A. et al. 1976. Análisis de estabilidad y adaptabilidad de genotipos de caña de azúcar. I. Interacciones dentro de una localidad experimental. Revista Agronómica del Nordeste Argentino 13 (14): 105-127.
- MONTEIRO A.A.T.; et al. 1998. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Estado do Ceará. Revista Científica Rural (Brasil) 3 (2): 1-10.
- SAS, INSTITUTE. 1996. SAS/STAT user's guide à version 6. 4ed. Cary. v.1.
- SCAPIM, C.A.; CARVALHO, C.G.P. de.; CRUZ, C.D. 1995. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. Pesquisa Agropecuária Brasileira 30(5): 683-686.
- SILVA, F.B.R. de. et al. 1993. Zoneamento ecológico do Nordeste: diagnóstico do quadro natural e agrossocioeconômico. Petrolina, Embrapa – CPATSA e Embrapa – CNPS.



CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES CLONAIAS DE *Theobroma cacao* L. COM BASE EM MARCADORES RAPD, AFLP E MICROSSATÉLITES

Fábio Gelape Faleiro^{1,2}, Uilson V. Lopes¹, Milton M. Yamada¹, José L. Pires¹, Rita C. S. Bahia¹, Ronaldo C. Santos¹, Luana M. C. Gomes¹, Ioná S. Araújo¹, Alessandra S. G. Faleiro¹, Karina P. Gramacho¹, Gilson R. P. Melo¹, Wilson R. Monteiro¹ e Raúl R. Valle¹.

¹CEPLAC/CEPEC/ Laboratório de Biotecnologia, C.P. 07, 45600-970, Itabuna - Bahia - Brasil;

²Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, C.P. 08223, 73301-970, Planaltina - Distrito Federal - Brasil; ffaleiro@cpac.embrapa.br

Objetivou-se, neste trabalho, caracterizar a diversidade genética das atuais variedades clonais de *Theobroma cacao* L., recomendadas aos produtores pelo CEPEC/CEPLAC, utilizando marcadores moleculares RAPD, AFLP e microssatélites. DNA genômico das nove variedades clonais (TSH-516, TSH-565, TSH-1188, CEPEC-42, EET-397, TSA-654, TSA-656, TSA-792; TSH-774) e do acesso Sca-6 (padrão de resistência à vassoura-de-bruxa) foi extraído e amplificado para obtenção dos marcadores moleculares. Foram utilizados 3, 11 e 18 primers ou pares de primers para obtenção dos marcadores AFLP, microssatélites e RAPD, respectivamente. Foram gerados um total de 604 marcadores (437 AFLP, 33 microssatélites e 134 RAPD). Distâncias genéticas e análises de agrupamento das variedades clonais foram calculadas, assim como coeficientes de correlação entre as distâncias genéticas obtidas com base em cada tipo de marcador. As correlações entre as distâncias calculadas foram de 29,1% (RAPD-AFLP), 40,0% (AFLP-Microssatélites) e 68,3% (RAPD-Microssatélites). O clone CEPEC-42 apresentou maior distância genética em relação ao padrão de resistência (Sca-6). As variedades EET-397 e das séries TSH e TSA formaram um grupo principal. O interrelacionamento genético das variedades clonais recomendadas pelo CEPEC/CEPLAC evidencia a necessidade de buscar novas e distintas fontes de resistência à vassoura-de-bruxa para ampliar a base genética do programa de melhoramento do cacauzeiro visando resistência.

Palavras-chave: Diversidade genética, vassoura-de-bruxa, resistência

Characterization of clonal varieties of *Theobroma cacao* L. using RAPD, AFLP and microsatellite markers. The objective of this work was to characterize the genetic diversity of the current clonal varieties of *Theobroma cacao* L. recommended by CEPEC/CEPLAC, using RAPD, AFLP and microsatellite markers. Genomic DNA of the nine clonal varieties (TSH-516, TSH-565, TSH-1188, CEPEC-42, EET-397, TSA-654, TSA-656, TSA-792; TSH-774) and of the accession Sca-6 (standard of resistance to witches' broom) was extracted and amplified to obtain the molecular markers. The number of primers or pairs of primers used to obtain the markers was 3, 11 and 18 for AFLP, microsatellites and RAPD, respectively. A total of 604 markers (437 AFLP, 33 microsatellites and 134 RAPD) was obtained. Genetic distances and grouping analyses of the cocoa varieties were made and correlation coefficients between genetic distances obtained with each type of marker were calculated. Correlation coefficients between distances were 29.1% (RAPD-AFLP), 40.0% (AFLP-Microsatellite) and 68.3% (RAPD-Microsatellite). CEPEC-42 was genetically the most distant from the resistance standard (Sca-6). EET-397 and those of the TSH and TSA series were placed in the same group. The close genetic relationship between the clonal varieties recommended by CEPEC/CEPLAC indicates the need of finding new and distinct witches' broom resistance sources to widen the genetic base of the cocoa breeding program aiming resistance to this disease.

Key words: Genetic diversity, witches' broom, disease resistance

Introdução

O cacau, *Theobroma cacao* L., é uma espécie alógama, perene, que assume grande importância para as regiões produtoras do Brasil, onde cerca de 3 milhões de pessoas dependem direta ou indiretamente dessa cultura. O cacau é importante fonte de receitas públicas, renda e emprego, movimentando cerca de 1,5 bilhão de dólares anuais em amêndoas e derivados (ABC, CNPC, Coopercacau, 2001). O sul da Bahia é a principal região produtora de cacau do Brasil, onde praticamente 100 municípios têm suas economias baseadas no cacau, o qual é cultivado em vinte e nove mil propriedades, em área superior a 700 mil hectares (Souza e Dias, 2001).

A doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa*, tem causado, desde sua introdução em 1989 (Pereira et al., 1989), um dramático impacto econômico, ecológico e social na região cacauera baiana. Devido a alta severidade da doença, no período 1991 a 2000, o Brasil teve sua produção anual reduzida de 375 mil toneladas para cerca de 120 mil, diminuindo sua participação no mercado internacional de 14,8% para 4,5% e saindo da posição de 2º maior produtor mundial de cacau para a 6ª posição (ICCO, 1991; 2000). Plantações comerciais chegam a perder 100% da produção por causa da doença, provocando o abandono das mesmas, tendo o produtor de cacau, como última fonte de renda, a madeira oriunda das árvores outrora usadas para sombrear o cacau. Além disso, por ser um cultivo arbóreo altamente dependente de mão-de-obra, as perdas impostas pela vassoura-de-bruxa à cultura do cacau levaram a um contingente de mais de 250 mil desempregados no meio rural, aumentando a população em áreas urbanas circunvizinhas, com o consequente agravamento dos problemas sociais.

Para a solução desse grave problema, o Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC/CEPLAC) tem buscado metodologias para o controle efetivo da doença. Dentre os métodos de controle, a resistência genética do cacau ao patógeno é a mais promissora, eficiente, barata e ecologicamente correta, com resultados práticos e concretos para o início da recuperação da lavoura cacauera. Em 1994, foi recomendada a primeira variedade clonal com resistência à vassoura-de-bruxa, chamada 'Theobahia' (Monteiro et al. 1995). A partir de 1995 (Pires e Luz, 1995; Pires et al., 1996a; 1996b), com base na avaliação da resistência de vários acessos de cacau, provenientes de diversos locais do mundo, o CEPEC passou a recomendar clones selecionados de cruzamentos envolvendo os acessos IMC 67, ICS 1 and SCA 6, codificados como TSA, TSH, CEPEC e EET. Atualmente, nove clones resistentes estão sendo recomendados para

produtores da região cacauera baiana, com significativo incremento na produção e consequente aquecimento da economia local.

Diferentes avaliações sobre resistência, produtividade e autocompatibilidade têm sido realizadas com as atuais variedades clonais recomendadas pelo CEPEC/CEPLAC (Pinto e Pires, 1998). Tais variedades apresentam excelente produtividade e têm como principal fonte de resistência o clone Scavina-6. Apesar de não serem imunes à doença, apresentam, nas condições ambientais do sul da Bahia, elevada resistência (reduzido número de vassouras), principalmente quando comparadas com as variedades tradicionais.

Além da avaliação das características agronômicas das variedades recomendadas e do acompanhamento das mesmas ao longo do tempo, um estudo preciso da diversidade genética dessas variedades é de extrema importância para avaliação do material e mesmo para traçar novas estratégias de melhoramento genético. Particularmente para culturas perenes, a recomendação de variedades resistentes com alta diversidade genética e presença de diferentes genes de resistência é essencial para diminuir a pressão de inóculo do patógeno e aumentar a durabilidade da resistência (Zadoks, 1999).

Atualmente, diferentes tipos de marcadores moleculares têm facilitado os estudos de caracterização e diversidade genética de acessos de cacau (Laurent et al., 1993; 1994; Lerceteau et al., 1997; N'Goran et al., 1994; Pires et al., 2000; Faleiro et al.; 2001a), porque permitem, em um curto espaço de tempo, analisar um número praticamente ilimitado de marcas polimórficas em nível de DNA, sem influência do ambiente. Nesse sentido, objetivou-se, neste trabalho, caracterizar a diversidade genética das atuais variedades clonais recomendadas pelo CEPEC/CEPLAC por meio de marcadores moleculares RAPD, AFLP e microssatélites.

Material e Métodos

Material genético

Nove variedades clonais recomendadas pelo CEPEC/CEPLAC (TSH-516, TSH-565, TSH-774, TSH-1188, TSA-654, TSA-656, TSA-792, EET-397, CEPEC-42) e a tradicional fonte de resistência à vassoura-de-bruxa (Sca-6) foram utilizadas neste trabalho. As amostras foram coletadas no banco ativo de germoplasma do CEPEC.

Extração do DNA

Amostras de folhas de cada variedade clonal e do acesso Scavina-6 foram coletadas e armazenadas a -80 °C até o momento da extração do DNA. O DNA genômico

de cada material foi extraído utilizando-se o método do CTAB (Doyle e Doyle, 1990) com algumas modificações (Araújo et al., 2000). Após a extração, a concentração do DNA foi estimada por espectrofotometria a 260 nm (Sambrook et al., 1989). Bandas de DNA genômico total separadas por eletroforese em gel de agarose 0,8% foram utilizadas como indicadoras da integridade e da pureza do DNA extraído. Após a quantificação, as amostras de DNA de boa qualidade foram diluídas para a concentração de 10 ng/ μ L.

Obtenção dos marcadores RAPD e Microssatélites

As reações de amplificação para RAPD foram feitas em um volume de 25 μ L, contendo 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 100 μ M de cada desoxiribonucleotídeo (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 μ M de *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), 1,0 U de *Taq* polimerase e 30 ng de DNA. As amplificações foram efetuadas em termociclador MJ Research PTC-100 programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 s a 94 °C, 30 s a 35 °C e 90 s a 72 °C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de 7 min a 72 °C e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C.

No caso dos microssatélites, as reações de amplificação foram feitas em um volume de 15 μ L, contendo 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 2,4 mM MgCl₂, 150 μ M de cada desoxiribonucleotídeo (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 3 pM de cada *primer* (F e R), 1,0 U de *Taq* polimerase e 30 ng de DNA. As amplificações foram efetuadas em termociclador MJ Research PTC-100, de acordo com o seguinte programa: 4 min a 94 °C + 10 ciclos de 30 s a 94 °C, 60 s a 60 °C – 1 °C a cada ciclo e 90 s a 72 °C + 30 ciclos de 30 s a 94 °C, 60 s a 48 °C e 90 s a 72 °C + 6 min a 72 °C. Após amplificação, a temperatura das amostras foi reduzida para 4°C. Foram utilizados 18 *primers* decâmeros para obtenção dos marcadores RAPD e 9 pares de *primers* para microssatélites (Tabela 1).

Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 μ L de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%), glicerol (60%) e água (39,75%). Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose 1,2 e 3% para separação dos fragmentos RAPD e microssatélites, respectivamente. O gel foi submerso em tampão TBE (90 mM Tris-Borato e 1 mM EDTA) e a separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas. Ao término da corrida, os géis foram corados com brometo de etídio na concentração de 0,15 μ g/mL e fotografados sob luz ultravioleta.

Obtenção de marcadores AFLP

Aproximadamente 250 ng de DNA genômico de cada material genético foi digerido com 2 μ L das enzimas

EcoRI e *MseI* (1 U/ μ L) durante 2 h a 37 °C. Após esse período, as endonucleases foram inativadas incubando-se a mistura por 15 min a 70 °C e colocando-se em seguida em gelo.

Para a ligação dos adaptadores, foi adicionado a cada DNA digerido 24 μ L de uma solução de ligação dos adaptadores (Gibco - Life Technologies, Gaithersburg, MD) e 1 μ L da DNA T4 ligase (1 U/ μ L). A mistura foi misturada suavemente à temperatura ambiente, incubada por 2 h a 20 °C ± 2 °C e em seguida colocada em gelo.

Para realizar a etapa de pré-amplificação, primeiramente foi feita uma diluição 1:10 da mistura de ligação dos adaptadores em TE (Tris-HCl 10 mM, pH 8,0 e EDTA 1 mM). Em um novo microtubo foram adicionados 5 μ L da mistura de ligação diluída, 40 μ L do *primer* de pré-amplificação, 5 μ L do tampão 10X de PCR para AFLP (Gibco - Life Technologies, Gaithersburg, MD) e 1 μ L da *Taq* DNA polimerase (1 U/ μ L). Em seguida, os fragmentos foram pré-amplificados em termociclador MJ Research PTC-100 programado para 20 ciclos de 30 s a 90°C, 60 s a 56°C e 60 s a 72°C. Após a amplificação, as amostras foram armazenadas a -20°C.

Os produtos da pré-amplificação de cada material genético foram diluídos 1:50 em TE e então submetidos a amplificações seletivas, utilizando-se três combinações de *primers* específicos (Gibco - Life Technologies, Gaithersburg, MD) (Tabela 1) sendo os *primers* *EcoRI* marcados com fluorescência. Para cada amplificação seletiva, 5 μ L do produto da pré-amplificação de cada material genético foram adicionados à respectiva combinação de *primers* e os componentes para reação de PCR (Gibco - Life Technologies, Gaithersburg, MD), realizada de acordo com o seguinte programa: 13 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s a 65 °C – 1 °C a cada ciclo e 60 s a 72°C + 23 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 56°C e 60 s a 72°C.

Após a PCR, em cada reação, foi adicionado um volume de 5 μ L de corante (formamida 98%, EDTA 10 mM e azul de bromofenol) adicionado ao marcador de peso molecular ROX GS-500 (Applied Biosystems). Após este procedimento, as amostras foram aquecidas por 3 min a 90°C e, imediatamente, colocadas em gelo.

Um gel de poliacrilamida 6% (20:1 acrilamida:bis, 7,5 M uréia, tampão TBE 1X) foi preparado e submetido a uma pré-eletroforese a uma potência constante de aproximadamente 55 W por 20 min. Após esse período, foram aplicados no gel 2 μ L de cada amostra os quais foram submetidos a eletroforese a uma potência constante de 50 W por quatro horas. A avaliação de cada marcador gerado foi feita automaticamente com o auxílio do Programa GeneScan (ABI PRISM, GeneScan Analysis Software User's Manual), obtendo-se informações sobre o tamanho de cada marcador (pb) e sobre a altura e área

Tabela 1. Lista dos *primers* utilizados e os respectivos número de marcadores gerados e média de marcadores por *primer*.

Tipo de marcador	Primers utilizados	Nº. de marcadores		
		Total	Média por primer	Nº de marcas polimórficas
Microssatélites	mTcCIR3, mTcCIR4, mTcCIR8, mTcCIR11, mTcCIR12, mTcCIR13, mTcCIR17, mTcCIR18, mTcCIR19	33	3,7	31
RAPD	OPA2, OPA3, OPA4, OPA7, OPA8, OPB10, OPC5, OPC8, OPC13, OPD1, OPD8, OPD10, OPD13, OPD16, OPE5, OPE14, OPE15, OPE16	137	7,6	117
AFLP	(MseI CAA-EcoRI AA), (MseI CAA-EcoRI AT), (MseI CAA-EcoRI TC)	437	145,7	437*

* No caso dos marcadores AFLP foram contabilizadas apenas as marcas polimórficas.

do pico de fluorescência. Tais informações foram utilizadas para a codificação dos marcadores obtidos em dados binários, com auxílio de um programa do sistema SAS desenvolvido para tal objetivo. Foram considerados como mesmo fragmento, marcadores que diferiam em menos de um par de base.

Análises estatísticas

Os diferentes marcadores moleculares gerados foram analisados separadamente, convertendo-os em matrizes numéricas codificadas, a partir das quais foram calculadas distâncias genéticas entre os materiais genéticos e realizadas análises de agrupamento. A codificação dos marcadores RAPD e AFLP foi 1 para presença e 0 para ausência do marcador. No caso dos marcadores microssatélites, a codificação foi 0 para ausência do alelo, 1 para presença de uma cópia do alelo e 2 para presença de duas cópias do alelo.

As distâncias genéticas (DG) calculadas a partir dos marcadores RAPD e AFLP foram baseadas no complemento do coeficiente de similaridade de Nei e Li (1979):

$$DG_{ij} = 1 - [2a/(2a + b + c)] \text{ sendo:}$$

DG_{ij} = Distância genética entre as variedades i e j;

a = número de encontros (1 1); b = número de encontros (1 0) e c = número de encontros (0 1) entre as variedades i e j.

As distâncias genéticas calculadas a partir dos marcadores microssatélites foram baseadas na seguinte fórmula:

$$DG_{ij} = 1 - (NLC/NTL) \text{ sendo:}$$

DG_{ij} = Distância genética entre as variedades i e j;

NLC = Número de Locos Coincidentes;

NTL = Número Total de locos.

O NLC é o somatório das coincidências alélicas de

cada loco analisado, sendo que cada coincidência pode assumir o valor 1 para encontros (2 2); 0,5 para encontros (2 1), (1 2) e (1 1) e 0 para encontros (0 1), (1 0) e (2 0).

As matrizes de distâncias genéticas obtidas com base em cada tipo de marcador molecular foram utilizadas para realizar as análises de agrupamento dos acessos. Foi realizada a dispersão gráfica em espaço bidimensional baseada na minimização das diferenças entre as distâncias genéticas originais e as distâncias gráficas (Cruz e Viana, 1994). A formação de grupos foi baseada no método UPGMA, estabelecendo-se a formação de dois e três grupos com base nas distâncias genéticas geradas por cada tipo de marcador.

Para comparar os resultados obtidos com base em cada tipo de marcador molecular, foram calculados coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas, e analisada a coincidência de posicionamento das variedades clonais nos agrupamentos obtidos com base nas distâncias genéticas geradas por cada grupo de marcadores moleculares.

Resultados e Discussão

A utilização de três combinações de *primers* para AFLP, 9 *primers* para microssatélites e 18 *primers* decâmeros para RAPD geraram, respectivamente, 437, 33 e 134 marcadores moleculares, perfazendo um total de 604, sendo 570 polimórficas (Tabela 1). A Figura 1 mostra produtos de amplificação de DNA das 10 variedades clonais gerados pelas técnicas de AFLP, microssatélites e RAPD, utilizadas no presente trabalho. Com base no número de marcas geradas, é visível a principal vantagem da técnica de AFLP que é o grande

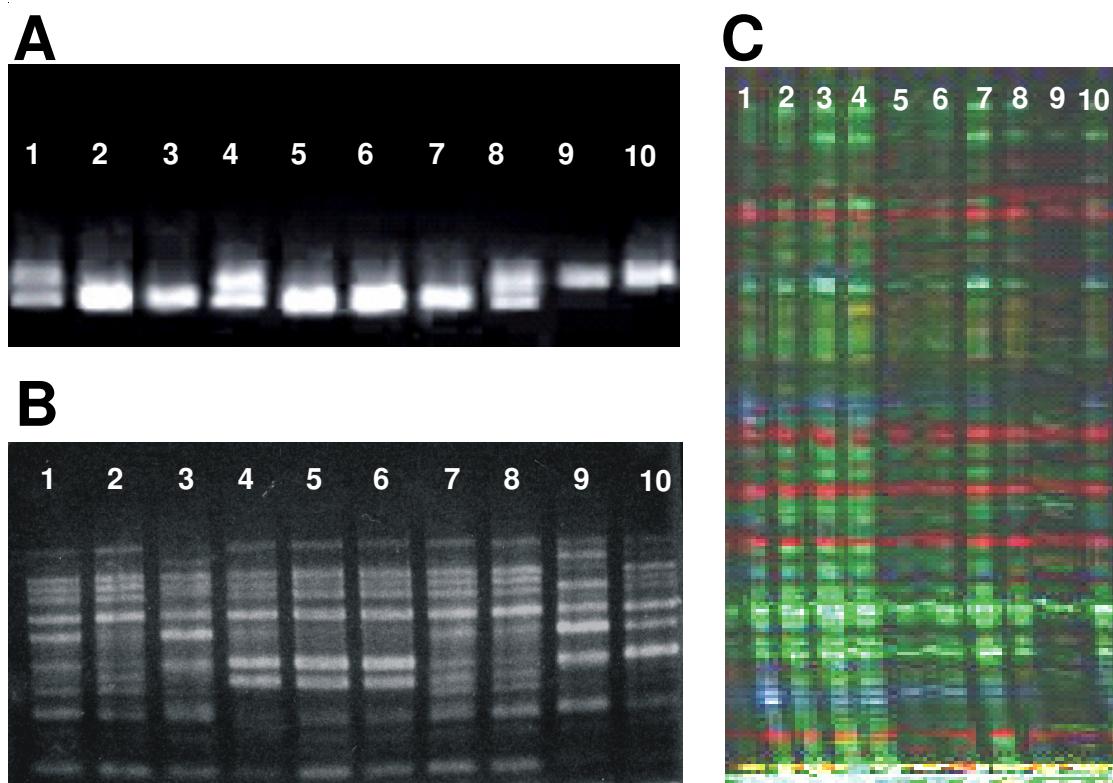


Figura 1. Produtos de amplificação de DNA genômico de 10 acessos de cacaueiro (1.TSH-516, 2.TSH-565, 3.TSH-774, 4.TSH-1188, 5.TSA-654, 6.TSA-656, 7.TSA-792, 8.EET-397, 9.CEPEC-42 e 10. Sca-6) obtidos por tecnologias de obtenção de marcadores microssatélites, loco mTcCIR13 (A), RAPD utilizando o *primer* OPD-6 (B) e AFLP utilizando as combinações de *primers* (*MseI CAA-EcoRI AA*), (*MseI CAA-EcoRI AT*), (*MseI CAA-EcoRI TC*) (C).

número de fragmentos gerados por *primer* (Vos et al., 1995). A utilização, neste trabalho, de combinações de *primers* com três e duas bases seletivas possibilitou a obtenção de elevado número de marcadores AFLP. No caso dos marcadores microssatélites, foram obtidos em média, somente três marcadores por *primer*. Esta menor média é compensada pelo alto conteúdo de informação genética por loco, uma vez que os marcadores microssatélites, ao contrário dos AFLP e RAPD, são codominantes (Litt e Luty, 1989).

As análises de agrupamento realizadas com base nas distâncias genéticas calculadas a partir de cada grupo de marcadores moleculares mostraram uma distribuição semelhante das variedades clonais (Figura 2). De modo geral, a variedade clonal CEPEC-42 (9) foi a que apresentou maiores distâncias genéticas em relação às demais variedades, possivelmente pelo envolvimento de um material comum (SIC-19) em seu pedigree genético (Bartley et al 1983). Yamada et al. (2001) mostraram, com base em marcadores RAPD e isoenzimáticos, que o acesso SIC-19 apresenta altas distâncias genéticas em relação a outros genitores das variedades recomendadas

como o Sca-6 e o ICS-1. A análise de agrupamento com base em marcadores RAPD (Figura 2A) mostra que, considerando-se três grupos, as variedades clonais EET-397 e das séries TSH e TSA ficariam localizadas em um grupo principal separadas do clone Sca-6 e do CEPEC-42. Considerando-se dois grupos, o clone Sca-6 faria parte do grupo principal. Este interrelacionamento de oito das nove variedades clonais recomendadas pelo CEPEC é explicado pelo envolvimento do acesso Sca-6 nos cruzamentos que originaram tais variedades. A análise de agrupamento com base em marcadores microssatélites (Figura 2B) é idêntica àquela com base em marcadores RAPD quando se considera a formação de dois grupos. A análise de agrupamento com base em marcadores AFLP (Figura 2C) não mostra uma distinção muito evidente da variedade clonal CEPEC-42 em relação às demais. O envolvimento do Sca-6 no pedigree genético da CEPEC-42 e das demais variedades clonais pode explicar tal resultado.

A maior similaridade das análises de agrupamento obtidas com base em marcadores RAPD e microssatélites é explicada pela maior correlação entre as distâncias

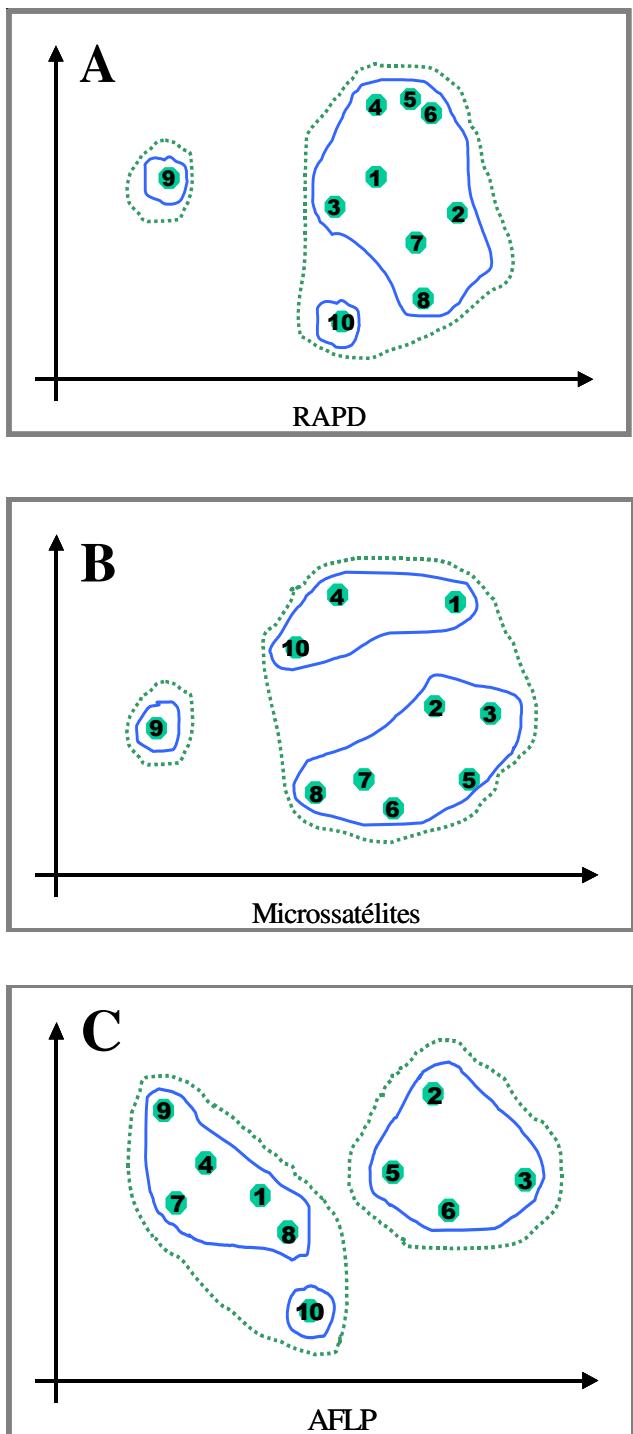


Figura 2. Dispersão de 10 variedades clonais de cacaueiro (1.TSH-516, 2.TSH-565, 3.TSH-774, 4.TSH-1188, 5.TSA-654, 6.TSA-656, 7.TSA-792, 8.EET-397, 9.CEPEC-42 e 10. Sca-6) baseada nas distâncias genéticas calculadas utilizando-se marcadores moleculares RAPD (A), Microssatélites (B) e AFLP(C). A análise de agrupamento foi realizada com base no método UPGMA, considerando-se 2 (linha pontilhada) e 3 (linha contínua) grupos.

genéticas calculadas com base nesses marcadores (Figura 3). As correlações entre as distâncias genéticas calculadas com base nos marcadores moleculares utilizados neste trabalho foram de 68,3% (RAPD-Microssatélites), 29,1% (RAPD-AFLP) e 40,0% (AFLP-Microssatélites) (Figura 3).

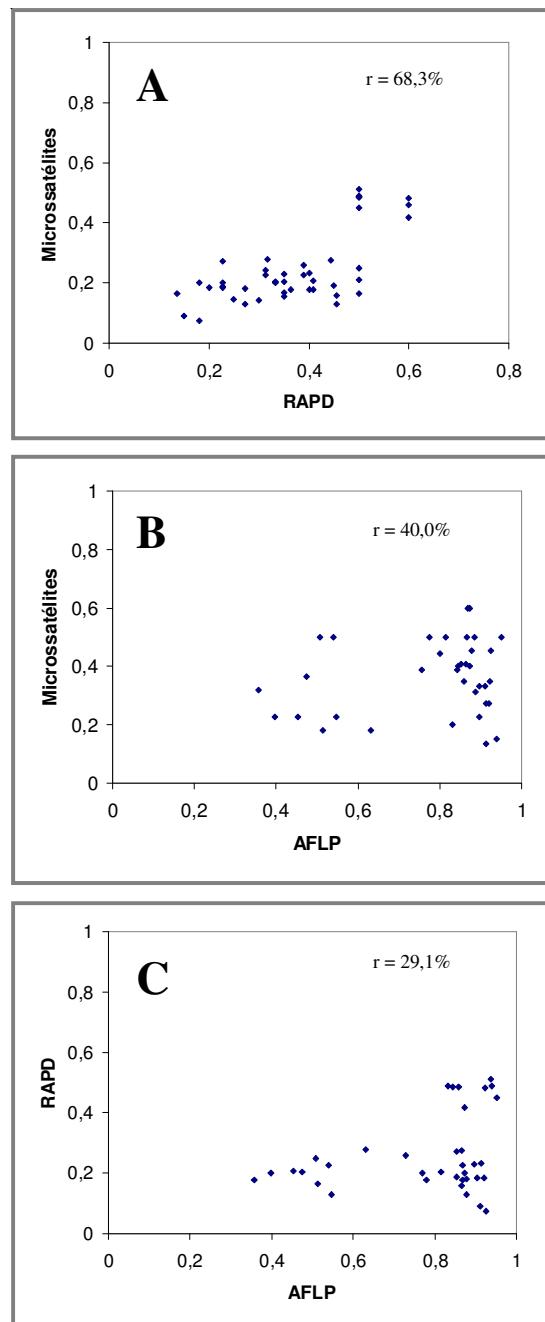


Figura 3. Dispersão das distâncias genéticas entre pares de variedades clonais de cacaueiro calculadas com base em marcadores microssatélites e RAPD (A), microssatélites e AFLP (B) e RAPD e AFLP (C). Correlações de Pearson entre as distâncias também são apresentadas.

Vários trabalhos têm sido realizados para comparar as informações geradas por diferentes marcadores moleculares, utilizando-se diferentes critérios comparativos (N'Goran et al., 1994; Arnau et al., 2001; Briard et al., 2001; Grzebelus et al., 2001), sendo a correlação linear entre as distâncias genéticas um dos mais utilizados. Diferentes fatores afetam a correlação entre as distâncias genéticas calculadas com base em diferentes marcadores moleculares, sendo o número e a reproducibilidade das marcas moleculares analisadas de grande importância. O número de marcas moleculares necessário para a diferenciação de materiais genéticos depende do número e da similaridade genética dos materiais, sendo que quanto maior o número e a similaridade dos materiais, maior será o número de marcas moleculares necessárias para a diferenciação dos mesmos. No presente estudo, foram analisados materiais interrelacionados geneticamente o que requer maior número de marcas moleculares para a diferenciação dos mesmos. A baixa reproducibilidade das marcas foi mencionada por Arnau et al. (2001) como um problema dos marcadores AFLP, o que pode explicar as correlações obtidas nesse trabalho. Por outro lado, correlações acima de 70,0% foram obtidas entre distâncias genéticas calculadas com base em marcadores AFLP e RAPD para estudo da diversidade genética em cenoura (Grzebelus et al., 2001). Este último autor fez um estudo de reproducibilidade das marcas, utilizando em seu estudo apenas as marcas consistentes. No caso do cacau, estudos comparativos da utilização de marcadores RAPD e RFLP no estudo da diversidade genética mostraram que ambos os tipos de marcadores foram eficientes para a classificação de acessos nos

grupos Criolo, Alto Amazônicos, Baixo Amazônicos e Trinitários (N'Goran et al., 1994).

As distâncias genéticas médias entre cada variedade clonal são apresentadas na Tabela 2. De um modo geral, a variedade clonal CEPEC-42 foi a que apresentou maior distância genética em relação ao padrão (Sca-6). Maiores distâncias genéticas também foram observadas entre a variedade CEPEC-42 e as demais. A menor distância genética (0,127) foi verificada entre as variedades clonais TSA-654 e TSA-656, o que seria esperado considerando-se que são irmãs completas, oriundas do cruzamento entre IMC-67 e Sca-6 (Pinto e Pires, 1998).

Neste trabalho foi verificado um alto interrelacionamento genético das variedades clonais recomendadas pelo CEPEC/CEPLAC, o que evidencia a necessidade de buscar novas e distintas fontes de resistência à vassoura-de-bruxa para ampliar a base genética do programa de melhoramento do cacau com visando resistência. Para isso, novas fontes de resistência geneticamente distintas do Sca-6 têm sido identificadas no banco de germoplasma do CEPEC/CEPLAC (Pires et al., 2001) e também em plantações comerciais da região cacauíra baiana (Faleiro et al., 2001b). A ampliação da base genética será essencial para o aumento da eficiência e durabilidade da resistência à vassoura-de-bruxa.

Agradecimentos

Ao Common Fund for Commodities, International Cocoa Organization e FUNDECAU pelo auxílio financeiro. Ao IBECAU pela bolsa de pesquisa concedida a Fábio G. Faleiro.

Tabela 2. Matriz de distâncias genéticas médias entre nove variedades clonais recomendadas pelo CEPEC/CEPLAC e o clone Sca 6, calculadas com base em marcadores RAPD, microssatélites e AFLP.

	TSH 516	TSH 565	TSH 774	TSH 1188	TSA 654	TSA 656	TSA 792	EET 397	CEPEC 42	Sca 6
TSH 516	0,000									
TSH 565	0,215	0,000								
TSH 774	0,210	0,206	0,000							
TSH 1188	0,235	0,293	0,286	0,000						
TSA 654	0,250	0,180	0,208	0,259	0,000					
TSA 656	0,320	0,188	0,236	0,270	0,127	0,000				
TSA 792	0,325	0,223	0,225	0,218	0,229	0,187	0,000			
EET 397	0,350	0,265	0,282	0,253	0,239	0,193	0,136	0,000		
CEPEC 42	0,525	0,443	0,435	0,371	0,442	0,421	0,386	0,399	0,000	
Sca 6	0,271	0,314	0,316	0,261	0,323	0,290	0,259	0,240	0,395	0,000

Literatura Citada

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CACAUICULTORES, Copercacau. 2001 Pacto do Cacau – Programa de Recuperação da Lavoura Cacaueira; Resumo da Proposta de Readequação. Ilhéus, CEPLAC. 20p.
- ARAÚJO, I.S. et al. 2000. Otimização da extração e amplificação de DNA de *Theobroma cacao* L. visando a obtenção de marcadores moleculares RAPD. Genetics and Molecular Biology 26 (supl): 219-220.
- ARNAU, G., LALLEMAND, J.; BOURGOIN, M. 2001. Are AFLP markers the best alternative for cultivar identification? Acta Horticulturae 546: 301-306.
- BARTLEY, B.G.D., MARIANO, A.H.; CASTRO, G.C.T. 1983. Coleta, seleção, quarentena e intercâmbio de recursos genéticos. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Informe de pesquisas, 1983. pp. 5-6.
- BRIARD, M. et al. 2001. A comparative study on the use of ISSR, microsatellites and RAPD markers for varietal identification of carrot genotypes. Acta Horticulturae 546: 377-385.
- CRUZ, C.D.; VIANA, J.M.S. 1994. A methodology of genetic divergence analysis based on sample unit projection on two-dimensional space. Revista Brasileira de Genética 17: 69-73.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.
- FALEIRO, F. G. et al. 2001a. Variabilidade genética de variedades de *Theobroma cacao* L. provenientes das amazônias brasileira, equatoriana e peruana com base em marcadores RAPD e microsatélites. In: Congresso Nacional de Genética, 47, Águas de Lindóia, SP. 2001. (Resumo) [CD-ROM].
- FALEIRO, F. G. et al. 2001b. Diversidade genética de 59 acessos VB's de *Theobroma Cacao* L. com base em marcadores moleculares RAPD. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 1, Goiana, GO, 2001. Anais. (Resumo estendido). [CD-ROM].
- GRZEBELUS, D. et al. 2001. Comparison of RAPD and AFLP techniques used for the evaluation of genetic diversity of carrot breeding materials. Acta Horticulturae 546: 413-416.
- LAURENT, V., RISTERUCCI, A.M.; LANAUD, C. 1993. Variability for nuclear ribosomal genes within *Theobroma cacao*. Heredity 71: 96-103.
- LAURENT, V., RISTERUCCI, A.M.; LANAUD, C. 1994. RFLP study of genetic diversity of *Theobroma cacao*. Angew Botany 68: 36-39.
- LERCETEAU, E. et al. 1997. Evaluation of the extent of genetic variability among *Theobroma cacao* accessions using RAPD and RFLP markers. Theoretical and Applied Genetics 95: 10-19.
- LITT, M.; LUTH, J.A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. The American Journal of Human Genetics 44: 398-401.
- MONTEIRO, W.R.; PIRES, J.L.; PINTO, L.R.M. 1995. Variedade Theobahia; histórico e características gerais. Informação e Difusão. Nova Série (Brasil), nº 1. pp.1-2.
- N'GORAN, J.A.K. et al. 1994. Comparative genetic diversity studies of *Theobroma cacao* L. using RFLP and RAPD markers. Heredity 73: 589-597.
- NEI, M.; LI, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences 76: 5269-5273.
- PEREIRA, S.L. et al. 1989. Primeira ocorrência da vassoura de bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. Agrotrópica (Brasil) 1: 79-81.
- PINTO, L.R.M.; PIRES, J.L. 1998. Seleção de plantas de cacau resistentes à vassoura-de-bruxa. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 181. 34p.
- PIRES, J.L.; LUZ, E.D.M.N. 1995. Resistência à vassoura-de-bruxa na espécie *Theobroma cacao*. Fitopatologia Brasileira 20:303.
- PIRES, J.L. et al. 1996a. Resistência à vassoura-de-bruxa; avaliação de genótipos de diferentes origens. In: Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau, 12, Salvador, 1996. Atas. Lagos, Nigéria, Cocoa Producer's Alliance. pp. 389-397.
- PIRES, J.L. et al. 1996b. Cocoa breeding for witches's broom resistance at CEPEC, Bahia, Brasil. In: International Workshop on the Contribution of Disease Resistance to Cocoa Variety Improvement, Salvador, 1996. s.l. INGENIC. pp. 24 - 25.
- PIRES, J.L. et al. 2000. Diversity for phenotypic traits and molecular markers in CEPEC's germplasm collection in Bahia, Brazil. In: International Workshop on New Technologies and Cocoa Breeding, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia 2000. Proceedings. s.l. INGENIC. pp. 72-88.
- PIRES, J.L. et al. 2001. Variabilidade genética de fontes de resistência de *Theobroma cacao* a *Crinipellis perniciosa* com base em marcadores microsatélites. Fitopatologia brasileira, 26 (supl.): 347.
- QUATERLY BULLETIN OF COCOA STATISTICS. 1991. London, ICCO. v. 18: 59.
- QUATERLY BULLETIN OF COCOA STATISTICS. 2000. London, ICCO. v. 27: 101.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATS, T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. 2ed. New York, Cold Spring Harbor Laboratory. 653p.
- SOUZA, C.A.S.; DIAS, L.A.S. 2001. Melhoramento ambiental e sócio-economia. In Dias, L.A.S. (Ed.) Melhoramento genético do cacau. Editora Folha de Viçosa Ltda, Viçosa. pp. 1-47.
- VOS, P. et al. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23: 4407-4414.
- YAMADA, M.M. et al. 2001. Genetic variability in cultivated cacao populations in bahia, brazil, using isozymes and RAPD markers. Crop Breeding and Applied Biotechnology 4: 377-384.
- ZADOKS, J.C. 1996. Phytopathological aspects of disease resistance and resistance breeding in cocoa: An external review. In: International Workshop on the Contribution of Disease Resistance to Cocoa Variety Improvement. Salvador, 1996. s.l. INGENIC. pp. 17-22.

SCIENTIFIC NOTE

OPTIMAL PCR PARAMETERS FOR RAPD ANALYSIS IN COCONUT

Anuradha Upadhyay, K. Prakash, Jeslin Jose and V.A. Parthasarathy

Biotechnology section, Central Plantation Crops Research institute, Kasaragod – 671 124, Kerala, India.

Central Plantation Crops Research Institute, Kasaragod, India, maintains a large collection of coconut germplasm. Use of molecular markers including RAPD markers is underway to characterize coconut germplasm. A reproducible PCR protocol is prerequisite for usefulness of RAPD markers in germplasm analysis. Varying concentrations of primer, dNTP, enzyme, MgCl₂ were used to find the optimum reaction conditions. MgCl₂ at 4-4.5 µM, 100 µM of each dNTP, 1.5 units of enzyme, 20-25 pmol primer and annealing temperature of 55°C and above gave highly reproducible PCR products.

Key words: Coconut, PCR components, RAPD

Parâmetros ótimos de PCR para análise de RAPD em coqueiro. O Instituto Central de pesquisas de grandes culturas, Kasaragod, Índia, mantém uma grande coleção de germoplasma de coqueiro. O uso de marcadores moleculares incluindo o RAPD, está sendo utilizado para caracterizar germoplasma de coqueiro. Um protocolo de PCR reproduzível é um pré-requisito para utilização de marcadores de RAPD na análise de germoplasma. Concentrações variáveis do primer, dNTP, enzima, MgCl₂ foram usados para encontrar as condições ótimas de reação. MgCl₂ a 4-4,5 µM, 100µM de cada dNTP, 1,5 unidade de enzima, 20-25 pmol primer e temperatura de amelamento de 55°C e acima deram produtos PCR altamente reproduzíveis.

Palavras-chave: coqueiro, componentes de PCR, RAPD

Introduction

Coconut is an important tropical palm. Collecting, conservation, cataloguing and characterisation of germplasm are prerequisite for any breeding program. Among various molecular markers, PCR based Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers are widely used to characterise germplasm of different crops. However, this technique is prone to problem due to lack of reproducible results. A reproducible PCR protocol and careful adherence to protocols is needed for dependable results (Penner *et al.* 1993) as various factors like DNA quality, source of chemicals, concentration of different reagents and amplification parameters, influence the amplification products. It is thus important to optimise each of the PCR parameters responsible for sensitivity and specificity. Williams (1989) described optimization strategies for the polymerase chain reaction. Lowe *et al.* (1996) reviewed different parameters responsible for variation in the generation of RAPD fragments and examine ways to reduce these sources of variation. Earlier described protocols for RAPD analysis of coconut (Ashburner *et al.* 1994; Rodriguez *et al.* 1997) did not give expected results in our laboratory. Therefore, based on the recommendations described by Williams (1989) and Lowe *et al.* (1996), experiments were conducted to optimise PCR parameters for RAPD analysis of coconut DNA.

Materials and Methods

DNA from West Coast Tall (WCT) was uniformly used for all the experiments. DNA was extracted as described by Upadhyay *et al.* (1999). The molecular weight of the extracted DNA was more than 25 Kb and the A260/A280 ratio was above 1.8.

The various levels of different reaction components were used. Varying concentrations of MgCl₂ (1.5, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 and 4.5 mM), dNTP (100, 150, 200 and 250 µM each), primer (5, 10, 20 and 25 pmol), Taq polymerase (0.5, 1.0 and 1.5 units) and varying annealing temperatures viz. 36°C, 42 °C, 50°C and 55 °C were used.

Decamer random primers (Kit A, OPERON Technologies, USA) were used. Each experiment was repeated with several primers. Similar results were obtained with all the tested primers of Kit A. PCR amplification in 25 µl reaction volume was carried out in MJ Research DNA engine (PTC-200). For standardization of MgCl₂, dNTP and Taq polymerase, a temperature profile of 94°C for 5 min (initial denaturation) followed by 40 cycles of 94 °C (denaturation) for 1 min,

55°C (annealing) for 1 min and 72°C (extension) for 2 min and 72°C for additional 8 min to complete the reaction, was used. Annealing temperature was varied to optimise primer concentration and annealing temperature.

PCR products were resolved on 1.2% TAE agarose gel at 60V for 4 hours. Gel was stained with ethidium bromide and viewed under UV light and photographed.

Results and Discussion

1. MgCl₂ concentration:

MgCl₂ at a concentration of 4-4.5 mM (dNTP 100 µM each, Taq 1.0 unit, primer 25 pmol) was found to be optimum to obtain good intensity bands (Figure 1). Lesser concentrations either did not amplify DNA or gave faint bands. Free Mg⁺⁺ is known to influence all the steps of PCR amplification. Insufficient Mg⁺⁺ leads to low yields and excess Mg⁺⁺ results in the accumulation of non-specific products. MgCl₂ concentration of 1.5 mM is commonly used, however, use of relatively high concentration of MgCl₂ is also reported (Rodriguez *et al.* 1997; Prakash and He, 1996).

2. dNTP concentration and enzyme

A dNTP concentration of 100 µM each with 1-1.5U enzyme (25 pmol primer, 4 mM MgCl₂, annealing



Figure 1. PCR amplification of coconut DNA with primer OPA14 at various MgCl₂ concentrations. Lanes 1-6: 2-4.5 mM MgCl₂, lane 7: Control (no template).

temperature 55°C) resulted in the most intense and sharp bands. 150 µM dNTP although amplified the DNA, but the sharpness of the bands was reduced (Figure 2.). No amplification was obtained at higher concentrations of dNTPs. In the standard PCR protocol, each dNTP concentration is 200 µM. However, lower concentrations are known to give higher fidelity and specificity (Williams, 1989). The ratio of dNTP and MgCl₂ is important for amplification. At higher concentrations of dNTPs, the used MgCl₂ (4mM) concentration may not be sufficient, resulting in lack of amplification.

Although amplification was obtained with all three concentrations of enzyme, 1.5U enzyme gave most intense bands both at 100 µM as well as 150 µM dNTP. However, at 150 µM dNTP and 1.5 U enzyme, bands particularly minor bands were diffused. Therefore, dNTP concentration of 100µM each and enzyme at 1.5 U are optimum for PCR amplification.

3. Primer concentration and Annealing Temperature

Primer concentration as low as 5 pmol at low annealing temperature (36 and 42°C) resulted in non-specific amplification in control (Figures 3 and 4). Non-specific bands were more at higher primer concentration.



Figure 2. Effect of enzyme and dNTP concentration on PCR amplification;
Lanes 1-3: 100µM each dNTP with 0.5, 1.0, 1.5U enzyme respectively;
Lanes 4-6: 150 µM each dNTP with 0.5, 1.0, 1.5U enzyme respectively;
Lanes 7-9: 200 µM each dNTP with 0.5, 1.0, 1.5U enzyme respectively;
Lanes 10-12: 250 µM each dNTP with 0.5, 1.0, 1.5U enzyme respectively.

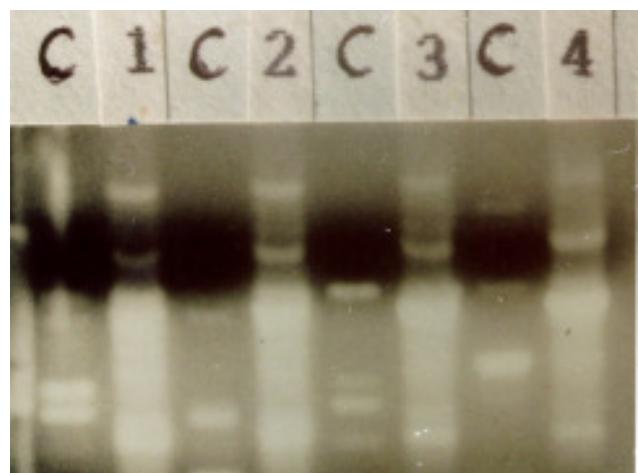


Figure 3. PCR amplification at different primer concentrations at 36°C annealing temperature. C: control (no template), 1-4: primer (OPA15) concentrations of 25, 15, 10, 5 pmoles respectively.

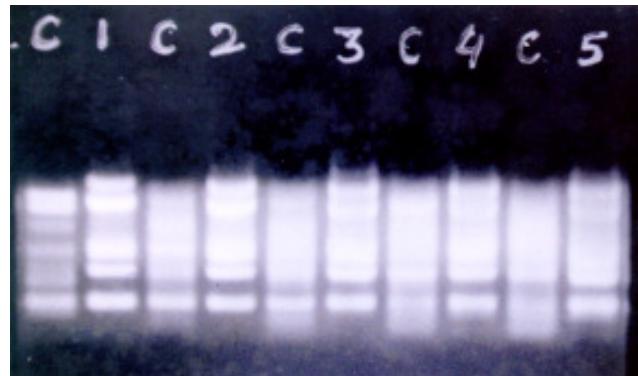


Figure 4. PCR amplification at 42°C with varying primer concentrations (OPA11). C: control (no template), 1-5: 5, 10, 15, 20 and 25 pmoles respectively.

High annealing temperature (55°C) at low primer concentration (10 pmol) resulted in clear background, however no amplification was obtained in sample DNA. At high primer concentrations (20-25 pmol) and higher annealing temperature (55°C), non-specific amplification could be controlled and good amplification was obtained with sample DNA (Figure 5). Low temperature and higher primer concentration, promote mis-priming and accumulation of non-specific product (Innis and Gelfand, 1990). This may be the reason for non-specific amplification in control in this experiment. Stringent annealing temperatures increase specificity. Innis and Gelfand (1990) observed that annealing temperature in the range of 55°C to 72°C yield the best results.

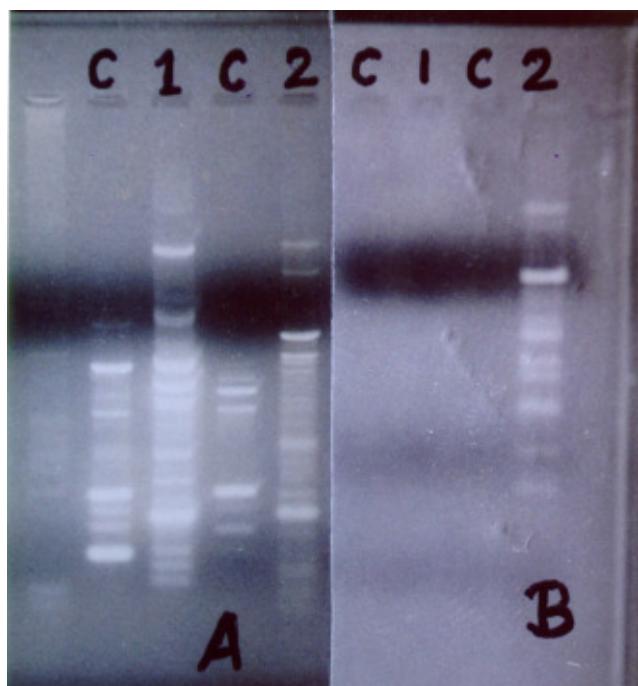


Figure 5. Effect of annealing temperature on PCR amplification with OPA 15 primer;

- A. C: control (no template), 1: annealing temperature 42°C, primer 10 pmol, 2: annealing temperature 50°C, primer 10 pmol.
- B. 1: annealing temperature 55°C, primer 10 pmol, 2: annealing temperature 55°C, primer 25 pmol.

Conclusion

The reproducibility of RAPD markers is greatly affected by several PCR parameters. In coconut, $MgCl_2$ at 4-4.5mM, dNTPs at 100 μM each, enzyme at 1.5 U, primer 20-25 pmol and annealing temperature of 55°C or above were found to be essential for reproducible PCR amplification. Similar banding patterns of PCR products were obtained even when the source of chemicals was changed. These PCR parameters are successfully used for developing RAPD and other PCR based markers in coconut.

Acknowledgement

Authors are grateful to Department of Biotechnology, Government of India for financial support to undertake this work.

Literature Cited

- ASHBURNER, G.R.; ROHDE, W. 1994. Coconut germplasm characterization using DNA marker technology. ACIAR Proc. 43:44-46.
- INNIS, M.A.; GELFAND, D.H. 1990. Optimization of PCRs. In Innis, M. A. et al. PCR Protocol – A guide to methods and applications. California, Academic Press. pp 3-12.
- LOWE, A.J., HANOTTE, O.; GUARINO, L. 1996. Standardization of molecular genetic techniques for the characterisation of germplasm collection: the case of random amplified polymorphic DNA (RAPD). Plant Genetic Resources Newsletter 107: 50-54.
- PENNER, G. A. et al. 1993. Reproducibility of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis among laboratories. PCR Methods Application 2: 341-345.
- PRAKASH, C.S.; HE, G. 1996. DNA marker based study of genetic relatedness in United States Sweetpotato cultivars. Journal of the American Society for Horticultural Science 121(6):1059-1062.
- RODRIGUEZ, M.J.B. et al. 1997. Analysis of genetic diversity by RAPD. Philippine Journal Coconut Studies 22(1):1-7.
- UPADHYAY, A. et al. 1999. An efficient method of DNA extraction from coconut leaves. Agrotrópica (Brasil) 11(1): 35-38.
- WILLIAMS, J.F. 1989. Optimization strategies for the Polymerase Chain Reaction. Biotechnology 7(7): 762-769.