



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DESENVOLVIMENTO RURAL

Instituto de Investigação Agrária de Moçambique

ESTRATÉGIAS PARA INCREMENTAR A EFICIÊNCIA DE SELECÇÃO NO MELHORAMENTO DO MILHO



CONSTANTINO TOMÁS SENETE
PEDRO SILVESTRE CHAÚQUE
EGAS JEREMIAS NHAMUCHO
EDUARDO PINTO MULIMA
JOÃO JÚLIO MASSITELA
SHEILA NATIVIDADE JUMA
PEDRO FATO



IIAM
Instituto de Investigação Agrária de Moçambique

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Título:	ESTRATÉGIAS PARA INCREMENTAR A EFICIÊNCIA DE SELECÇÃO NO MELHORAMENTO DO MILHO
Propriedade:	Instituto de Investigação Agrária de Moçambique - IIAM
	Constantino Tomás Senete
	Pedro Sivestre Chaúque
	Egas Jeremias Nhamucho
Autores:	Eduardo Pinto Mulima
	João Júlio Massitela
	Sheila Natividade Juma
	Pedro Fato
Coordenação:	Sónia Nhantumbo & Constantino Senete
Revisão Técnica:	Leonel D. Moiana e Manuel Pedro Maleia
Revisão Linguística:	Rosseau Bila
Fotografia:	Arquivo do IIAM
Maquetização e Design Gráfico:	Marcos Vieira Niuiaia
Produção Gráfica:	Jó Epyserve, Lda
Registo:	Disp. Reg/GABINFO - DEC/2006
Tiragem:	1000 Exemplares
Endereço:	Instituto de Investigação Agrária de Moçambique, Av. FPLM N°2698, CP 3658, Telefax: 21462241, Maputo - Moçambique
Maputo:	Maputo, 2023

AUTORES

CONSTANTINO TOMÁS SENETE

Engenheiro Agrónomo, doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas, Investigador do Instituto de Investigação Agrária de Moçambique (IIAM). Faz melhoramento para o aumento do valor nutricional de milho. Liderou pesquisas e tem colaborado com cientistas da região. Possui publicações na área de melhoramento para tolerância à múltiplos estresses, na área de bio-fortificação (alta qualidade protéica - QPM e pro Vitamina A) e na área de resistência dos insectos aos eventos transgénicos. Actualmente, está baseado na Direcção de Agronomia e Recursos Naturais na província de Maputo.

PEDRO SIVESTRE CHAÚQUE

Engenheiro Agrónomo, doutorado em Melhoramento de Plantas, Investigador do IIAM. Faz melhoramento do milho para tolerância combinada de seca e calor. Também trabalhou na área de melhoramento para aumento da Qualidade Protéica do Milho (QPM). Liderou várias pesquisas e tem colaborado com cientistas da região. Possui publicações na área de melhoramento para tolerância à múltiplos estresses e QPM. Actualmente está baseado na Direcção de Agronomia e Recursos Naturais na província de Maputo.

EGAS JEREMIAS NHAMUCHO

Engenheiro Agrónomo, doutorado em Melhoramento de Plantas, Investigador do IIAM. Faz melhoramento do milho para resistência a pragas de campo e de armazém. Liderou pesquisas e tem colaborado com cientistas da região nesta área. Possui publicações na área de melhoramento para resistência a pragas de armazém. Actualmente, está baseado na Estação Agrária de Chókwè, na província de Gaza.

EDUARDO PINTO MULIMA

Engenheiro Agrónomo, doutorado em Melhoramento de Plantas, Investigador do IIAM. Faz melhoramento do milho para resistência a doenças foliares nas zonas médias e altas de Moçambique. Fez pesquisas também em outros cereais, tal é o caso de trigo e mapira. Tem colaborado com pesquisadores da região e diversas áreas de pesquisa das culturas de milho, mapira e trigo. Possui publicações na área de melhoramento de milho, mapira e trigo. Actualmente, está baseado na Estação Agrária de Sussundenga na província de Manica.

JOÃO JÚLIO MASSITELA

Engenheiro Agrónomo, mestre em Genética e Melhoramento de Plantas, Investigador do IIAM. Faz melhoramento do milho para o aumento do valor nutricional. Trabalhou igualmente na área de análise laboratorial de solos, de triptofano e de cultura de tecidos. Possui publicações na área de qualidade protéica e de estratégias para extracção de linhas puras. Actualmente, está baseado na Direcção de Agronomia e Recursos Naturais, na província de Maputo.

SHEILA NATIVIDADE JUMA

Engenheira Agrónoma, mestre em Melhoramento de Plantas, Investigadora do IIAM. Faz melhoramento para resistência a toxinas. Fez pesquisas também na área de melhoramento para resistência a listrado da folha. Possui publicações na área de melhoramento para resistência a listrado da folha. Actualmente, está baseada na Estação Agrária de Umbeluzi, na província de Maputo.

PEDRO FATO

Biólogo, doutorado em Melhoramento de Plantas, Investigador do IIAM. Faz melhoramento para resistência a doenças foliares nas zonas baixas de Moçambique. Também trabalhou na área de melhoramento para múltiplos estresses. Coordenou várias pesquisas e tem colaborado com cientistas da região, em diversas áreas de pesquisa da cultura de milho. Possui publicações na área de melhoramento para tolerância a múltiplos estresses e QPM. Actualmente, está baseado na Direcção de Agronomia e Recursos Naturais, na província de Maputo



ACRÓNIMOS E ABREVIATURAS

CIB	Conselho de Informações sobre Biotecnologia
CEC	Capacidade Específica de Combinação
CGC	Capacidade Geral de Combinação
Cimmyt	Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTMA	Milho Tolerante à Seca para a África
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura
Faostat	Site da FAO que oferece acesso livre a dados sobre alimentação e agricultura
IIAM	Instituto de Investigação Agrária de Moçambique
IITA	Instituto Internacional de Agricultura Tropical
INE	Instituto Nacional de Estatística
INIA	Instituto Nacional de Investigação Agronómica
IRMA	Milho Resistente a Insectos para a África
LDH	Linhas duplo Haplóides
MASA	Ministério da Agricultura e Segurança Alimentar
MLN	Necrose Letal do Milho
OPV	Variedades de Polinização Aberta
QPM	Milho de Alta Qualidade Protéica
QTL	Loci de um Carácter Quantitativo Identificado por Marcadores Moleculares
SEMOC	Sementes de Moçambique
UEM	Universidade Eduardo Mondlane
VA	Variância Aditiva
VD	Variância de Dominância



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais regiões ecológicas de milho em Moçambique (A) e Precipitação média anual em Moçambique (B).....	8
Figura 2. Sintomas de ataque de míldio no milho	84
Figura 3. A e C Sintomas de ataque de listrado. B. Jassideo, vector transmissor de listrado. D pontuação da gradação..	86
Figura 4. Infestação por Helminthosporiose.....	88
Figura 5. Sintomas de ataque da mancha cinzenta (GLS - Gray Leaf Spot).....	81
Figura 6. Sintomas de ataque da ferrugem no milho.....	91
Figura 7. Espigas atacadas com fungos do Fusarium.....	94
Figura 8. Espiga atacada com fungo Diplodia	95
Figura 9. Broca ponteiada do colmo (Chilo partellus).....	98
Figura 10. Broca africana (Busseola fusca).....	98
Figura 11. Broca-rosada (Sesamia calamistis).....	99
Figura 12. Lagarta-do-funil do milho (Spodoptera frugiperda)	100
Figura 13. Funil do milho danificado pelo ataque da lagarta-do-funil.....	101
Figura 14. Gorgulho.....	103
Figura 15. Gorgulho-gigante.....	103
Figura 16. Milho completamente estragado por causa do ataque de gorgulhos	104
Figura 17. Teste de diferentes génotipos de milho para reacção perante ataques de gorgulhos como método escolha.	105
Figura 18. Teste de diferentes génotipos de milho para sua reacção perante gorgulhos com o método não-escolha	106
Figura 19. Eficácia da ração à base do milho QPM na engorda de Suínos no ex-IPA.....	117
Figura 20, Comparação da coxa e peito de frangos alimentados com QPM versus não-QPM	118
Figura 21, Comparação da carcaça inteira de frangos alimentados com QPM versus não-QPM.....	118
Figura 22. Teste de sabor do milho laranja.....	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variâncias genéticas em diferentes gerações de endogamia.....	20
Tabela 2. OPVs versus híbridos	38
Tabela 3. Média da produtividade de grãos (t/ha) avaliados em 48 tratamentos, três repetições e quatro locais, 2009..	47
Tabela 4. Esperanças de quadrados e as estatísticas F.....	52
Tabela 5. Ganhos de selecção com diferentes proporções de selecção.....	53
Tabela 6. Ganhos de selecção com diferentes proporções de selecção e três controlos parental	56
Tabela 7. Variâncias genéticas em diferentes progénies.....	57
Tabela 8. Variedades de milho libertas pelo IIAM pós-independência.....	76
Tabela 9. Linhas de milho identificadas como tolerantes ao efeito combinado de seca e calor em 2014/15.....	113
Tabela 10. Resultados do ensaio de engorda de suínos na comparação milho QPM versus não-QPM.	117



INDICE

INTRODUÇÃO	1
1.1. História e evolução do melhoramento de plantas em Moçambique	1
1.2. Potencialidades agrícolas e principais problemas que afectam a cadeia produtiva	2
1.2.1. Principais regiões ecológicas do milho	3
1.2.2. Sistemas de produção	4
1.2.3. Estratégias usadas para o melhoramento de plantas	4
1.2.4. Principais actores no melhoramento de plantas em Moçambique	5
1.2.5. Biotecnologia e agricultura em Moçambique	5
1.2.6. Oportunidades e perspectivas de melhoramento genético de plantas em Moçambique	6
II. BASES TEÓRICAS DE MELHORAMENTO DE PLANTAS	6
2.1. Selecção e recombinação genética (princípios básicos)	6
Selecção e recombinação genética	6
2.1.1. Métodos de Melhoramento	7
2.1.2. Selecção em estágios precoces	8
2.1.2.1. Tipos de variedades de milho	9
A. Variedades de polinização aberta	9
B. Variedades híbridas	9
B.1. Desenvolvimento de variedades híbridas de milho	10
B.1.1. Desenvolvimento de linhas puras de milho	10
B. Escolha de testador	11
2.2. Duplicação Cromossómica	12
2.3. Manutenção das suas características genéticas	13
2.3.1 OPV	13
2.3.2. Híbrido	14
2.4. Herança (qualitativa e quantitativa)	14
2.5. Desafios no melhoramento de caracteres quantitativos	15
2.5.1. Baixa frequência de alelos favoráveis	15
2.5.2. Alta interacção genótipos-por-ambientes	16
III: COMO MELHORAR A EFICIÊNCIA DE SELECÇÃO	17
3.1. Ganho genético	17
3.2. Aumentar a intensidade de selecção	19
3.3. Aumentar o controlo parental	20
3.5. Reduzir a variância ambiental	22
3.6. Reduzir o número de anos por ciclo	23
3.7. Uso de marcadores moleculares	23
3.7.1. MARCADORES MOLECULARES	23
3.7.1.1. TIPOS DE MARCADORES MOLECULARES	24
3.8. Princípios e técnicas de experimentação	26
IV: REALIDADES PRÁTICAS	27



4.1. Perfil dos produtos gerados pelo IIAM	27
Tabela 8. Variedades de milho libertas pelo IIAM pós-independência	28
4.1.1. Melhoramento genético para resistência às doenças foliares	31
4.1.2. Podridões de maçaroca por Fusarium e Diplodia	34
4.1.3. MELHORAMENTO GENÉTICO PARA RESISTÊNCIA A PRAGAS	35
4.1.3. Melhoramento do Milho para Resistência a Aflatoxina em Moçambique	40
4.1.4. Melhoramento do milho para tolerância combinada aos estresses hídrico e térmico em Moçambique	41
4.1.5. Melhoramento do milho para a bio fortificação em Moçambique: Avanços, desafios e perspectivas	43
4.2. ATRIBUTOS DE UM BOM MELHORADOR	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47



PREFÁCIO

Em Moçambique os produtores são na sua maioria de pequena escala, vivendo principalmente de actividades agro-silvo-pecuárias com heterogeneidade económica na geração de rendimentos dentro das famílias. Dentro das diferentes actividades, a produção de alimentos para o consumo constitui a base principal da estrutura produtiva e, nessa diversidade, o milho ocupa uma posição de destaque em área cultivada.

Dados de 2000 a 2017 (FAOSTAT, 2019), mostram que em média são utilizados 1.613.978 ha/ano para produção de 1.421.345 t no país com um rendimento médio nacional inferior a uma tonelada por hectare. O consumo per capita deste cereal é de 159g/dia/pessoa. Considerando uma população Moçambicana de cerca de 27.900.000 habitantes em 2017 (INE, 2021), seriam necessário uma produção de 1.619.176,50 t.

Por outro, dados demográficos de Moçambique mostram um crescimento populacional alto, tendo de 2007 a 2017 registado um crescimento de cerca de 35%. Portanto, passou de cerca de 20.600.000 para cerca de 27.900.000 habitantes. A população urbana no país cresce mais que a população rural, o que é explicado, em parte, pelo êxodo rural. Este fenómeno não é desejável para a produção de milho e outros produtos agrícolas porque implica numa redução do número de pessoas a produzir, entretanto, verifica-se o aumento do número de consumidores.

Este cenário requer o desenvolvimento e uso efectivo de tecnologias de produção avançadas ou modernas de modo a impulsionar a produção de milho em quantidade e qualidade com vista a atender às necessidades dos consumidores e evitar que ocorram situações dramáticas de crise alimentar. Dentre várias ferramentas, temos o melhoramento genético que se responsabiliza pelo desenvolvimento de tecnologias (variedades) adaptadas para atender às necessidades dos produtores, tanto comerciais como de pequena escala.

Como forma de contribuir nas ferramentas que venham a impulsionar a produção desta cultura, os melhoradores de milho, investigadores do Instituto de Investigação Agrária de Moçambique elaboraram o presente manual.

Esta obra é recomendado para melhoradores de plantas e de milho em especial, estudantes, docentes, profissionais e produtores interessados no melhoramento de milho porque apresenta o estado de arte na área de melhoramento de milho o que permitirá ao leitor fazer uma análise crítica e segura sobre os diferentes temas.

Olga Lurdes Jossias Fafetine

DIRECTORA GERAL

Instituto de Investigação Agrária de Moçambique - IIAM

Referências bibliográficas



AGRADECIMENTOS

Esta obra é resultado de décadas de trabalho com uma vasta equipa de parceiros e de aprendizado, sendo que os autores agradecem a confiança e dedicação de todos os técnicos, auxiliares técnicos e pessoal administrativo (uns em memória) que directa ou indirectamente estiveram envolvidos nas actividades de melhoramento de milho desde o ex-INIA até o actual IIAM.

Os autores agradecem, igualmente, a todos os parceiros que contribuíram com seu saber, financiamento para o desenvolvimento das variedades e a formação dos técnicos em todos os domínios.



INTRODUÇÃO

1.1. HISTÓRIA E EVOLUÇÃO DO MELHORAMENTO DE PLANTAS EM MOÇAMBIQUE

A agricultura em Moçambique é uma das principais bases de desenvolvimento do país, desde os primórdios da colonização até os dias correntes. O melhoramento de plantas pode ter evoluído paralelamente com a agricultura em Moçambique, no sentido de aumentar a qualidade e a produtividade de culturas.

A composição genética actual das diversas culturas é resultado da domesticação e do melhoramento que estas foram submetidas durante séculos de procura de alimentos mais adequados para satisfazer as necessidades da sociedade. No entanto, não foram encontrados dados em relação ao período no qual o melhoramento de plantas começou em Moçambique. O germoplasma usado pelos povos de antiguidade pode ter passado para o processo de melhoramento dirigido a partir do século XIX. Porém, nessa época o melhoramento de plantas era apenas uma arte.

Alguns registos apontam que em 1909, foi criada a Estação Agrária de Umbeluzi, que na época foi denominada Unidade de Genética e Melhoramento de Fruteiras Tropicais e Subtropicais (Mocumbe, 2009). Com esta denominação pode-se deduzir que alguma actividade de melhoramento foi desenvolvida nesta unidade experimental. No entanto, nessa época as leis de Mendel estavam sendo redescobertas. Deste modo, surge o questionamento se tal prática (melhoramento) era realizada.

O período compreendido entre os anos de 1946 a 1961, foi marcado por intenso trabalho científico realizado por Aurélio Quintanilha e seus colaboradores que resultou em 100 publicações. As pesquisas por ele dirigidas conduziram a grandes sucessos no melhoramento de algodoeiro, criando híbridos muito rentáveis para a cultura e indústria de algodão, com grandes benefícios para a indústria algodoeira portuguesa (Saraiva, 2013).

Durante este período, o ultramar português foi sendo coberto com instituições de pesquisa agronómicas. Em Moçambique, foi criado o Instituto de Investigação Agronómica de Moçambique (IIAM), pelo diploma legislativo ministerial nº 15, expedido em 18 de Dezembro de 1965. Com esta criação pretendia-se agrupar vários serviços e organismos já existentes, empenhados no estudo e na pesquisa agronómica. A criação do IIAM tinha como objectivo contribuir para o desenvolvimento das ciências agrícolas. A divisão de melhoramento de plantas tinha como objectivo efectuar a prospecção, introdução de material genético vegetal e a constituição das colecções de culturas de interesse (Esteves, 1967).

Em 1938 iniciaram estudos sobre a cultura da soja na Estação Agrária do Sul, posteriormente designado Estação Agrária de Umbeluzi. As primeiras conclusões identificaram melhores épocas de sementeira, compasso, variedades com melhor desempenho (Avayalles, Acadian, CNS, Nigra, Seminole, Maxum 3 e Tootan) (Daehnhardt, 1973).

Informações para ligar as fases de grandes descobertas das actividades agrícolas e de melhoramento no período antes da independência são escassas, sendo, por isso, difícil reconstituir a história nesta fase. No período pós-independência (doravante 1975), a agricultura moçambicana entrou em crise. Dentre várias razões, pode-se citar o êxodo da maioria dos técnicos e empresários de origem portuguesa.

Em 1977, o programa nacional de pesquisa pós-independência em milho iniciou as suas actividades com ênfase na introdução de germoplasma, selecção para tolerância à seca, resistência ao míldio pulverulento e ao listrado de folha (Nunes, Sousa, & Sataric, 1985). Nesta época iniciou o desenvolvimento de linhas mas, a prioridade do programa era o lançamento de variedades de polinização aberta, que culminou com o lançamento da variedade Obregon flint em 1988.

Depois da síntese de um sintético, Silver Mine, durante o período colonial, os trabalhos de melhoramento haviam-se concentrado na síntese e experimentação de 12 híbridos, eleitos em programa pré-estabelecido. Destes, os híbridos triplo HM10 e duplo HM12 destacaram-se por apresentar boa estabilidade e um desempenho superior ao sintético e aos híbridos comerciais da Rodésia e África de Sul (Vigário, 1973). Estes experimentos eram conduzidos em colaboração com as instituições nacionais e internacionais.

A colaboração entre as instituições nacionais e internacionais permitiu desenvolver actividades de melhoramento em diversas culturas. No final dos anos oitenta, foi estabelecida uma companhia nacional de sementes (SEMOC), que deveria se concentrar na multiplicação e comercialização de sementes de variedades desenvolvidas pelo então Instituto Nacional de Investigação Agronómica (INIA) (Svalöv, 2013; Howard, et al., 2001). Contudo, o INIA tinha uma capacidade limitada na geração de novas variedades, o que fez com que a



SEMOC iniciasse o trabalho de melhoramento em colaboração com o INIA e a Universidade Eduardo Mondlane (Howard, et al., 2001), nas culturas de milho e de arroz. Este teria sido o início das actividades de melhoramento de plantas em empresas não estatais em Moçambique pós-independência.

A missão do INIA consistia em contribuir para o aumento da produção, produtividade e diversidade agrária, através de (i) identificação e desenvolvimento de tecnologias conducentes a dar resposta às limitantes da produção e (ii) desenvolvimento e teste de soluções tecnológicas apropriadas aos produtores.

O objectivo de desenvolvimento das instituições públicas de investigação agrária em Moçambique, foi de aumentar os níveis de produção agrícolas sustentáveis para se alcançar a auto-suficiência, garantir a segurança alimentar e gerar receitas, através da disponibilização de conhecimentos e informações técnicas, com ênfase para o sector familiar.

Por outro lado, havia esforços para a melhoria dos rendimentos da cultura de batata-doce que iniciaram anos atrás e, em 2011, foram lançadas as primeiras oito variedades.

Em 2002, o programa de melhoramento da mandioca começou a desenvolver novas variedades usando populações locais com objectivo de incrementar os seus atributos (Zacarias, et al., 2007). Sendo a mandioca uma das culturas de bases da alimentação em algumas regiões do país, eram necessárias variedades produtivas e aceites pelos produtores.

A partir do ano 2006, o Instituto Internacional de Investigação do Arroz (International Rice Research Institute-IRRI) começou de forma permanente a estar presente nas actividades de arroz, contribuindo significativamente no melhoramento, estudos sócios económicos, entre outras actividades (IRRI, 2013).

Para responder as questões que nem sempre eram possíveis obter em campo, foi criado o laboratório de biotecnologia do IIAM em 2004. A biotecnologia, técnica que utiliza organismos vivos ou suas partes para fazer ou modificar produtos, melhorar plantas ou animais ou desenvolver microorganismos para usos específicos, é muito usado no mundo moderno. Assim, em Moçambique, vem sendo utilizada há longos anos como uma ferramenta na indústria para a produção da cerveja, do álcool e de vinagre.

1.2. POTENCIALIDADES AGRÍCOLAS E PRINCIPAIS PROBLEMAS QUE AFECTAM A CADEIA PRODUTIVA

Moçambique possui recursos naturais para o desenvolvimento agrícola, desde a existência de vários cursos de água doce em toda a extensão do país, passando pela grande diversidade de solo, até às condições climáticas adequadas para uma grande variedade de culturas. No entanto, apenas 12,5-14,3% (4,5 -5,1 milhões de hectares) dos 36 milhões de terras aráveis são cultivados (MASA, 2014; Magaua, 2012; Bucuana, 2009) e a produtividade agrícola no maior sector de produção (o sector familiar) é muito baixa.

A produção agrícola em Moçambique é afectada por problemas de ordem socioeconómica, que inclui baixo uso de semente melhorada e de outros insumos, fraco desenvolvimento de infra-estruturas (INE, 2011; Langyintuo, et al., 2008), bióticos (pragas e doenças) e abióticos (baixa fertilidade de solos, seca, calor e baixa disponibilidade de nitrogénio) (Langyintuo, et al., 2008).

O sector formal de venda de semente é relativamente pequeno cobrindo não mais que dez por cento (10%) dos agregados familiares e dinamizado através de entidades públicas e privadas. Setenta por cento (70%) dos produtores reciclam sementes e outros 20% adquirem sementes do sector informal. No entanto, existem variações entre as culturas e sectores agrícolas. Na horticultura quase toda a semente vem de variedades comerciais melhoradas, devido a falta de capacidade de produzir sementes de algumas culturas hortícolas pelo sector familiar. Vinte por cento (20%) da semente do milho vêm do sector formal (público e privado), enquanto a semente da mapira, do milho de ciclo curto e das leguminosas vêm dos sistemas informais como o sistema de semente guardado pelos camponeses e comunitários (ISSD-África, 2013).

A agricultura moçambicana continua a ser de sequeiro e de subsistência, caracterizando-se por baixo uso de irrigação que torna muitos agregados familiares rurais vulneráveis às intempéries.

O país possui três regiões climáticas: Tropical húmido, tropical seco e tropical de altitude. Dependendo do local, a precipitação é adequada para a produção de alimentos, excepto na região sul e parte das províncias de Tete e Manica que cobre cerca de um terço do País (Silva, et al., 1995). A seca nestas regiões tem sido resultado de distribuição errática das chuvas. O impacto da seca, muitas vezes, é agravado por estar combinada com baixa fertilidade de solo (Abate, et al., 2011).



Os principais rios do país permanecem em grande parte pouco explorados para irrigação de culturas. Dos 50 mil hectares que estão sendo irrigados, 60% correspondem ao sector do açúcar e apenas 40% para as restantes culturas incluindo fruteiras. O potencial existente, se bem aproveitado, pode mitigar os impactos da crise global de alimentos. Por outro lado, o uso de fertilizantes químicos continua baixo tendo uma cobertura de apenas 3,7 por cento das explorações. A maior parte dos fertilizantes é usada nas culturas de rendimento, nomeadamente a cana-de-açúcar e o tabaco (Magaua, 2012; Bucuana, 2009).

Para além da irrigação e uso de insumos, um número considerável de pragas, doenças e ervas daninhas atacam as culturas. A maioria das doenças é causada por vírus e fungos que resulta na morte da planta e redução da produtividade. Outras doenças têm efeito directo durante as fases de crescimento e de desenvolvimento da semente. Tal como o uso de fertilizantes, o uso de pesticidas para protecção das culturas contra pragas, enfermidades e infestantes é extremamente reduzido (INE, 2011).

1.2.1. Principais regiões ecológicas do milho

Região 1 (Figura 1A), a de altíssimo potencial corresponde as regiões com clima modificado pela altitude. São locais em que a precipitação supera 1.200 mm por ano (figura 1B). Estas regiões fazem parte da zona agro-ecológica 10 da caracterização do INIA. Ou seja, região de alta altitude (≥ 1.000 metros) das províncias da Zambézia, de Niassa, Tete e Manica.

Região 2 (figura 1A), é uma região de grande potencial abrangida pelo clima tropical húmido com precipitações entre os 800 a 1200 mm por ano (figura 1B). Esta região compreende a região central de média altitude (200 -1.000 metros) das províncias de Sofala e de Manica; regiões de média altitude das províncias da Zambézia, de Nampula, de Tete de Niassa e de Cabo delgado e; região do litoral das províncias da Zambézia, de Nampula e de Cabo Delgado.

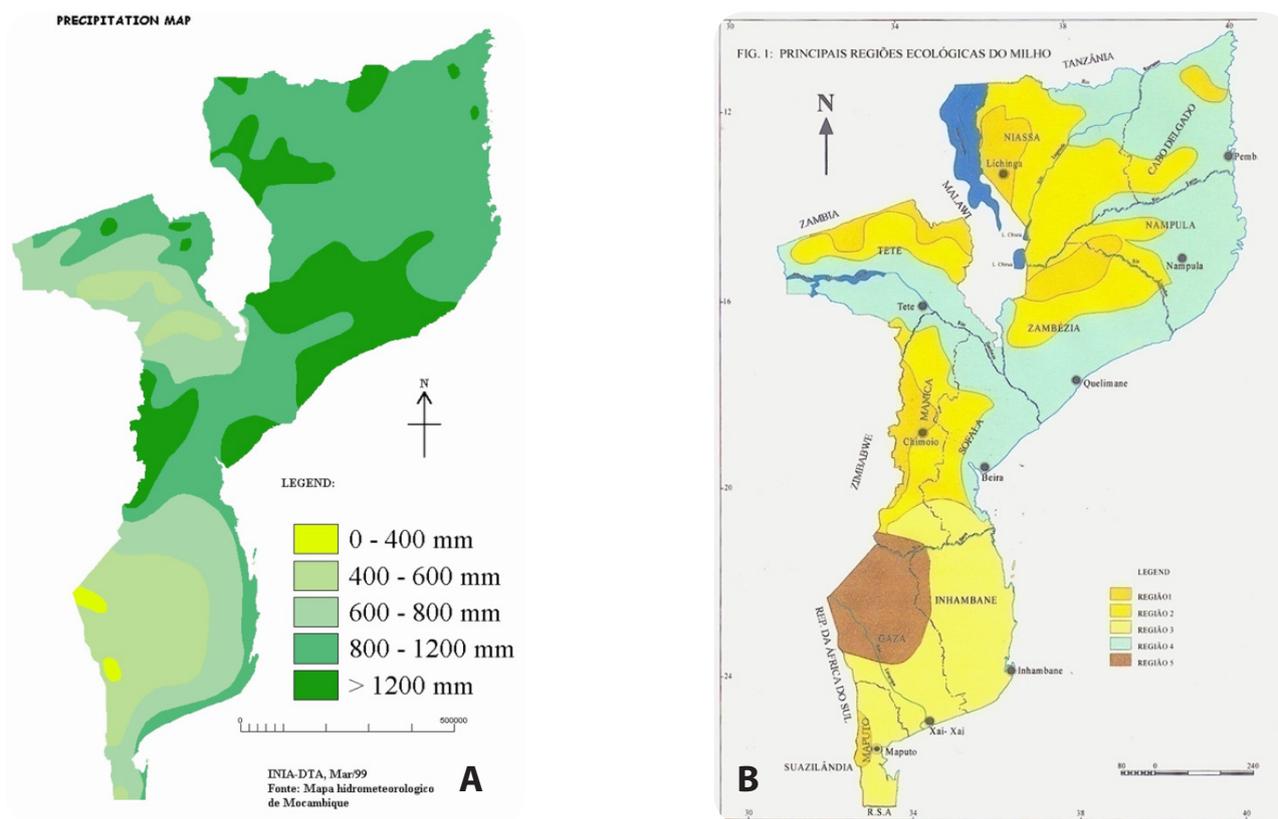


Figura 1. Principais regiões ecológicas de milho em Moçambique (A) e Precipitação média anual em Moçambique (B).



Região 3 (figura 1A), é uma região de baixo potencial abrangida pelo clima tropical seco com precipitações médias anuais a variar entre os 600-800 mm (figura B). Esta região compreende a região do interior das províncias de Maputo e sul da província de Gaza, incluindo toda a faixa costeira do sul do rio Save.

Região 4 (figura 1A), é uma região de potencial médio. Na região semi-árido do vale do Zambeze e sul da Província de Tete há predominio de dois tipos de clima, tropical húmido e tropical seco, com precipitações médias a variarem entre os 400-800 mm e 600-800 mm e nas Províncias da Zambézia, Nampula, Niassa e Cabo Delgado, com precipitações médias anuais a variar de 800 a mais de 1.200 mm (Figura 1B).

Região 5 (figura 1A), é uma região marginal abrangida pelo clima tropical semi-árido com precipitações médias anuais a variar entre 0-400 mm. Esta região compreende a região centro e norte da província de Gaza e oeste da província de Inhambane.

1.2.2. Sistemas de produção

Nas áreas irrigadas, o milho é produzido em regime de monocultura. Contudo, existe uma menor proporção de agricultores que também fazem consociação de milho com feijão-verde. Considera-se monocultura quando ocorre a produção de milho de forma isolada em período específico e considera-se consociação quando duas ou mais culturas ocupam a mesma área agrícola em um mesmo período de tempo. Pode-se observar em alguns casos uma alternância não ordenada e sazonal de diferentes espécies agrícolas.

No sequeiro, que é a maioria, o padrão de cultivo predominante é a consociação do milho com feijão nhemba, e abóbora, amendoim e mandioca. Na região sul a consociação tem sido entre milho, feijão nhemba, abóbora, mandioca e amendoim enquanto no centro e no norte a consociação do milho é com soja e amendoim. Existe outros tipos de consociação encontrados de forma isolada, sendo algumas vezes entre milho e mapira ou milho e batata-doce.

1.2.3. Estratégias usadas para o melhoramento de plantas

Os processos de melhoramento genético de plantas são comumente desenvolvidos em ciclos de selecção e recombinação. As estratégias de melhoramento estabelecidas com estes ciclos são organizadas para produzir materiais genéticos melhorados que serão utilizados nos cultivos comerciais.

A população base tem sido seleccionada em função dos objectivos do programa de modo a proporcionar maiores ganhos no processo. Os programas de melhoramento em Moçambique remontam desde o tempo colonial, como já mencionado, dessa forma, já dispõem de germoplasma dos programas anteriores, assim como, do intercâmbio com instituições internacionais de pesquisa.

As empresas produtoras de sementes não estatais, também, colocam variedades no mercado. No entanto, as metodologias empregues por essas empresas não estão disponíveis à comunidade científica.

Os procedimentos no melhoramento genético de plantas são variáveis, não havendo sistemas rígidos. Há considerável flexibilidade em função da espécie e dos objectivos a serem alcançados. A maioria, se baseia num melhoramento convencional com uma abordagem inter e intra-populacional (Zacarias & Labuschane, 2010; Denic, et al., 2007). Em alguns casos as actividades consistem na introdução de germoplasma, seguidas de testes de adaptação (Pereira, 2012).

Na fase final de um programa de melhoramento e para assegurar que a pesquisa responda as necessidades do agricultor, consumidor da semente melhorada, espera-se a participação do produtor para ajudar na tomada de decisão (melhoramento participativo). Os programas de milho e de leguminosas, por exemplo, têm conduzido vários ensaios na abordagem *mother & baby trial*. Esta abordagem consiste em testar as variedades promissoras em dois ensaios, sendo o ensaio completo (*mother*) e os blocos incompletos do ensaio *mother* como *baby trial*. O ensaio *mother* pode ser conduzido na estação experimental, numa empresa de produção ou ainda numa escola, desde que tenha capacidade para conduzir todo o maneio recomendado no cultivo. O ensaio *baby* é conduzido na machamba do produtor pelo próprio produtor como forma de captar as preferências do utilizador final e retroalimentar a investigação.

O objectivo principal dos programas de melhoramento de plantas é desenvolver variedades que superem com vantagem as já existentes, que sejam adaptadas a diferentes ambientes do país e que os grandes e pequenos produtores as utilizem. Para responder a este objectivo, uma atenção especial tem sido dada ao melhoramento no sentido de aumentar a produtividade e a estabilidade de rendimento, seguida pelo melhoramento visando a resistência a doenças, para a tolerância à seca e calor.



1.2.4. Principais actores no melhoramento de plantas em Moçambique

No domínio público, o IIAM, como órgão de pesquisa tem em seu mandato as acções de selecção, melhoramento de variedades e multiplicação da semente de categorias iniciais. Os trabalhos de melhoramento são realizados em programas de pesquisa de cereais (milho, arroz, e mapira), leguminosas (feijão vulgar, feijão nhemba, soja e feijão boer) oleaginosas (amendoim e gergelim), raízes e tubérculos (mandioca e batata doce) (IIAM, 2013; Pereira, 2012).

Paralelamente, foi criada a Plataforma para Investigação Agrária e Inovação Tecnológica em Moçambique (PIAIT), cujo objectivo foi de integrar os actuais e potenciais parceiros de cooperação com a investigação agropecuária em Moçambique e fortalecer o sistema nacional de investigação através da união de esforços conjuntos entre os diferentes parceiros e entidades interessadas no desenvolvimento do sector agrário de Moçambique (Pereira, 2012).

Durante o período da empresa para-estatal SEMOC, esta teve acesso quase que com exclusividade as variedades libertas pelo então INIA, mas actualmente, estas variedades encontram-se disponíveis em todas as empresas de sementes que se mostrem interessadas. A Universidade Eduardo Mondlane (UEM), através da sua Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal, teve em seus programas de melhoramento das culturas de girassol e amendoim (Pereira, 2012). Actualmente, está actuando na cultura de feijão nhemba. No domínio privado, a PANNAR, a Syngenta e MozSeeds (esta última já extinta), são as empresas de semente que possuem programas de melhoramento. A MozSeeds estava engajada no melhoramento de arroz e milho enquanto a PANNAR e a Syngenta, em Moçambique trabalha com a cultura de milho (Pereira, 2012).

No domínio regional e internacional, várias organizações internacionais e centros de pesquisa de domínio público, cooperam com o IIAM no desenvolvimento de variedades, dando apoio técnico e financeiro, treinamento, troca de germoplama entre outras actividades (CIMMYT, 2013; Pereira, 2012).

1.2.5. Biotecnologia e agricultura em Moçambique

A biotecnologia vem sendo utilizada há longos anos como uma ferramenta na indústria moçambicana para a produção de cerveja, álcool e vinagre. Em 2000, foi criado o centro de biotecnologia da Universidade Eduardo Mondlane com a finalidade de se envolver em actividades básicas e aplicadas da biociência, medicina e agricultura. A principal actividade de pesquisa na UEM é a caracterização genética das culturas, animais e espécies silvestres, detenção molecular de viroses em plantas e animais, detenção de culturas geneticamente modificadas, produção de vacinas, desenvolvimentos de bio-pesticidas, bio-fertilizantes e bio-prospecção de microorganismos com potencial aplicação na indústria de processamento de alimentos e bebidas (Martins, Ventura, & Quilambo, 2010).

Dentro do amplo conceito, a cultura de tecidos envolve um conglomerado de técnicas, mediante as quais um explante é cultivado de forma asséptica em um meio nutritivo (conhecido como meio de cultura e que contem, entre outros constituintes, água sais minerais, vitaminas, aminoácidos, reguladores de crescimento e uma fonte de carboidratos) e sob condições controladas de temperatura e luminosidade.

No estágio actual que a biotecnologia vegetal alcançou, o domínio das técnicas de cultura *in vitro* de tecidos teve uma importância crucial, contribuindo não apenas sob o ponto de vista de aplicação prática, mas também na elucidação de muitas questões básicas relacionadas com a biologia, fisiologia, bioquímica e genética das plantas. É na base de reconhecimento desta importância que o IIAM estabeleceu em 2004 o laboratório de cultura de tecidos vegetais.

Numa primeira fase, as intenções estiveram viradas para a cultura de tecidos nas culturas de mandioca e batata doce, cujo objectivo geral é multiplicação de material genético, para a troca e a avaliação de germoplasma, até a produção de mudas livres de vírus. Na segunda fase, introduziu-se a multiplicação de semente de batata reno.

Até então as principais áreas de actuação são: (i) Desenvolvimento e aprimoramento de protocolos para diversas culturas; (ii) Limpeza de vírus; (iii) Rastreamento de viroses da mandioca; (iv) Conservação *in vitro* de espécies alimentares de propagação vegetativa; (v) Multiplicação massiva das espécies de propagação vegetativa *in vitro*; (vi) Aclimatização de plantas; (vii) Detenção de productos transgénicos; (viii) Sequenciamento de DNA; (ix) técnicas de biologia molecular e (x) Indexação via PCR e kit ELISA

A partir de 2012, o laboratório ampliou a sua infraestruturas e beneficiou-se de equipamento que permite fazer diagnóstico e rastreamento de viroses via PCR principalmente na cultura da mandioca. Em 2020, iniciou com trabalhos preliminares de detenção de organismos geneticamente modificados (OGM).



1.2.6. Oportunidades e perspectivas de melhoramento genético de plantas em Moçambique

Dos trabalhos de melhoramento de plantas em Moçambique, espera-se que a tecnologia chegue aos agricultores, que eles utilizem as variedades que são lançadas ao mercado e que essas tragam vantagens. Tanto os centros de pesquisa públicos, quanto os privados devem investir no melhoramento para as características de mais importância para o país, como a produtividade, tolerância à seca e ao calor, eficiência no uso da água e o aumento no teor de vitaminas e outros nutrientes de uma forma geral.

Outra característica importante é o uso eficiente de nitrogénio que vem sendo trabalhada no milho (DTMA, 2013). No entanto, são escassos os trabalhos em outras culturas. Os trabalhos com essas características devem ser conduzidos juntamente com trabalhos relacionados com o manejo da cultura, pois não adiantaria semear boas variedades sem os mínimos cuidados fitotécnicos.

O melhoramento convencional teve e tem resultados para melhorar a agricultura do país. No entanto, deve-se agregar o maior número de ferramentas possíveis (e úteis) a ele de forma a maximizar o ganho com a selecção e conseqüentemente o retorno financeiro para o agricultor, sendo que o desenvolvimento integrado entre os sectores de melhoramento, sementes, biotecnologia e outras áreas afins é a chave para o sucesso do melhoramento em Moçambique.

II. BASES TEÓRICAS DE MELHORAMENTO DE PLANTAS

2.1. SELECÇÃO E RECOMBINAÇÃO GENÉTICA (PRINCÍPIOS BÁSICOS)

Seleção e recombinação genética

Seleção é o acto de escolha de indivíduos superiores para uma ou várias características em uma população enquanto que a recombinação é um processo meiótico que resulta na formação de novas combinações genéticas.

Qualquer selecção age sobre uma população com variabilidade genética para a (s) característica (s) em questão. As populações com variabilidade genética adequada para melhoramento podem ser as já existentes ou podem ser criadas. Tais populações podem ser do tipo *pool*, composto, sintéticos ou F2 provenientes de cruzamentos feitos para esse objectivo, naturalmente contendo milhares de novas recombinações genéticas. Estas novas recombinações genéticas devem ser fixadas, através de auto-fecundações ou criação de linhas duplo haplóide e separadas, originando o que se designa linhas recombinantes.

O processo de auto-fecundação da planta de milho para fixação de caracteres desejados nas novas linhas recombinantes percorre várias gerações (F3, F4, ..., Fn), o que leva muito tempo. Por isso, recentemente o uso da técnica de duplo-haplóide vem sendo mais popularizado para encurtar o tempo para menos 3 ciclos de sementeira (Prasanna, et al., 2018). O grau de homozigidade das linhas recombinantes depende do método usado para o seu desenvolvimento (autofecundações sucessivas ou duplo-haplóide) e da geração (F3, F4, ..., ou Fn). O importante é que, as linhas recombinantes sejam diferentes entre si, mesmo dentro da mesma população original.

A planta de milho de uma população natural tem potencial para gerar uma tremenda variabilidade genética, pois, produz inúmeros grãos, cada qual, com seus gâmetas oriundos de parental masculino diferente dos demais grãos. Por isso, um campo de milho é uma comunidade de indivíduos em que cada um apresenta seus atributos genéticos únicos.

A variabilidade genética é gerada a partir de cruzamentos (para gerar novas recombinações genéticas) e/ou recolha de germoplasma, seguida pela eliminação e, por fim, a selecção de indivíduos com genótipo desejado que vão ser usados para avançar gerações de melhoramento e desenvolver potenciais variedades. Seguindo estas etapas, estaria a seguir o método clássico de melhoramento. E é sobre este método que este trabalho vai se debruçar.

2.1.1. Métodos de Melhoramento

O melhoramento consiste na manipulação genética, através de cruzamentos controlados e selecções ao longo de vários ciclos, para introduzir e/ou melhorar características de interesse agronómico, nutricional ou económico de uma determinada cultura (Palwal, 2000).

Segundo AGRA (2016) e Acquah (2007), actualmente são utilizados dois tipos de variedades para melhorar o rendimento da cultura nomeadamente: as variedades melhoradas de polinização aberta (OPVs) e variedades híbridas. As OPVs possibilitam aos agricultores o uso de sementes mais produtivas que as das variedades



tradicionais ou locais, resistentes à pragas, doenças e acamamentos das plantas. As variedades podem apresentar uma maior estabilidade de produção, porém são geralmente inferiores aos híbridos em rendimento e uniformidade. As variedades de polinização aberta são utilizadas com sucesso, principalmente em regiões onde a utilização de híbridos é limitado.

Qualquer fonte de germoplasma e qualquer população com base genética ampla pode ser utilizada para se desenvolver uma OPV e os métodos de melhoramento e tipos de selecção empregues dependem muito do carácter a melhorar (Bänziger, Edmeades, Beck, & Bellon, 2000). De acordo com este autor, são basicamente dois tipos de melhoramento comumente empregues no desenvolvimento de OPVs: intra (explora-se a variabilidade genética existente dentro de uma dada população) e inter-populacionais (duas populações são melhoradas em simultâneo aproveitando a complementaridade da variabilidade genética das duas entidades). Ainda segundo Palwal (2000), embora não muito comum, também existe um terceiro método grande, o método de cruzamentos múltiplos em que são recombinadas várias populações para gerar variabilidade genética suficiente, na qual a selecção vai actuar. Recorre-se a este método quando se pretende fazer a "pirâmide genética".

Dentro de cada um dos três tipos de melhoramento, vários métodos de selecção podem ser seguidos, desde o mais simples (selecção massal) até aos mais complexos e modernos (selecção assistida por marcadores moleculares). Em geral, os mais usados na actualidade são os métodos de selecção baseados em testes de progénies (meios irmão, irmãos verdadeiros e famílias endogâmicas). Numa OPV, os progenitores percursoros da variedade estão dentro de uma única entidade com base genética suficientemente ampla.

Contrariamente, as variedades híbridas sempre têm mais do que um progenitor (parente) para a sua multiplicação, ou seja, híbrido é resultante de cruzamento controlado entre parentais geneticamente diferentes. Os híbridos mais comuns são: híbridos de variedades ou intervarietais, que são híbridos resultantes do cruzamento entre duas variedades, e híbridos de linhas, os mais comumente encontrados no mercado, são o resultado do cruzamento entre linhas puras (Lamkey & Edwards, 1999).

Conceitualmente, o milho híbrido explora uma das mais conhecidas e valiosas contribuições práticas do melhoramento genético ao ser humano e a agricultura, que é o vigor híbrido ou heterose, descoberto há mais de 100 anos por George H. Shull em 1908-1909, nos Estados Unidos da América (Palwal, 2000). O vigor híbrido é definido como sendo a superioridade do comportamento do híbrido em relação os seus parentais (as linhas puras). No milho esta superioridade pode ser em características tais como, o aumento do tamanho da espiga, vigor das plantas e de forma cumulativa o rendimento (Palwal, 2000). Em geral, as linhas são pouco produtivas, pois para a sua obtenção, as plantas de milho, são manualmente auto-fecundadas, e isso provoca a perda de vigor genético da semente, fenómeno tecnicamente conhecido como depressão genética por endogamia (Palwal, 2000).

O método pedigree apresenta mais vantagens em relação aos demais métodos do melhoramento clássico ao apresentar variação entre e dentro de famílias como também direcciona a selecção, apresenta maior controlo parental e evita competição entre plantas da mesma família. A partição da variância aditiva (VA) revela que o mínimo entre as famílias é maior que o máximo dentro das famílias (Tabela 1).

Tabela 1. Variâncias genéticas em diferentes gerações de endogamia

Geração	Entre as famílias		Dentro das famílias	Total	
	VA	VD	(VA, VD)	VA	VD
S1	1	1/4	1/2	3/2	3/4
S2	3/2	3/16	1/4	7/4	7/16
S3	7/4	7/64	1/8	15/8	15/64
S4	15/8	15/256	1/16	31/16	31/236
S ∞	2	0	0	2	0

Fonte: Adaptado de Bernardo, 2010. VA = Variância aditiva; VD = Variância de dominância e S= Gerações de auto-fecundações.

A selecção constitui numa das mais úteis ferramentas que o melhorador de plantas utiliza e deve ser feita depois da discriminação (eliminação) de indivíduos com génotipos desfavoráveis encontrados na variabilidade genética da população.



Com a informação da Tabela 1 fica claro que a selecção entre famílias endogâmicas é mais efectiva do que a selecção dentro das famílias, especialmente quando se avança com gerações de endogamia. Contudo, a efectividade de selecção entre e dentro de famílias endogâmicas é função da herdabilidade do carácter em causa. Se a herdabilidade desta característica for muito baixa a selecção será menos efectiva mesmo entre famílias endogâmicas.

No processo de selecção, um dos maiores problemas encontrado pelos melhoradores de plantas é determinar o cruzamento mais produtivo que responda aos anseios dos produtores. Este problema inclui muitos aspectos, entre eles, a efectividade de selecção durante a síntese de linhas, a decisão sobre que geração de autofecundação deve ser feita a avaliação para o desempenho das linhas per se e dos seus híbridos, a escolha dos cruzamentos a produzir para avaliar e como separar o efeito genético do efeito ambiental.

Adicionalmente, a estes problemas enumerados acima se inclui o alto custo desta operação, constituindo (a avaliação) a etapa mais cara do processo do melhoramento (Ramalho, Santos, Abreu, & Nunes, 2012; Souza Jr, 2001).

A avaliação constitui numa das etapas de melhoramento e é nela que se procede a selecção. As potenciais variedades e/ou seus genitores são avaliados em campo algumas vezes e em diferentes locais e anos para se identificar a mais promissora.

Detalhes relacionados com a planificação, condução de ensaios e avaliação dos híbridos são também importantes. Deste modo, a escolha dos locais de teste, das épocas de sementeira e colheita, da densidade de sementeira e espaçamento adequados, adubação, bem como os detalhes experimentais, nomeadamente o tamanho das parcelas, delineamento experimental, efeito de bordaduras, entre outros, deve ser considerado.

Quanto maior o número de locais para teste, mais bem amostrado será o ambiente da região objectivo do programa. Variedades que possuem um bom desempenho em vários ambientes são mais amplamente adaptados. A escolha de locais específicos para a avaliação da tolerância aos principais constrangimentos de produção também são importantes.

Características importantes como emergência da semente e vigor de plântulas, qualidade das raízes e colmo, altura de planta e espiga, tolerância a seca e doenças, produção de grãos, devem ser bem avaliadas.

Um bom programa de teste usa eficientemente o tempo e a disponibilidade de sementes. Geralmente, três a cinco estágios progressivos de teste pode ser adoptado para esquemas avançados de teste.

Por último, um bom manejo e gestão das informações disponíveis é extremamente importante. O uso de programas computacionais para a gestão de informações e análise de dados, bem como o uso da estatística e genética quantitativa como ferramentas para auxiliar na tomada de decisões, devem ser considerados.

2.1.2. Selecção em estágios precoces

O conhecimento do desempenho per se das linhas e da capacidade combinatória é crucial para a obtenção de linhas superiores e tornar eficiente um programa de melhoramento do milho.

Nos caracteres de baixa herdabilidade como é o caso da produção de grãos, o desempenho per se das linhas não pode ser utilizado para prever o desempenho dos híbridos que estas linhas podem formar, uma vez que a correlação entre as linhas e os híbridos por elas desenvolvidos não tem valor preditivo (Souza Jr, 2001). Deste modo, as linhas são seleccionadas para a capacidade de combinação em cruzamentos teste e espera-se que as que obtiverem maiores estimativas de capacidade de combinação resultem em cruzamentos superiores. Esta superioridade, dever-se-á ao valor genético de cada uma das linhas.

Uma definição feita por Sprague e Tatum (1942), citada por Paterniani & Campos (1999) e Bueno, Mendes, & Carvalho (2006) considera a capacidade geral de combinação como o comportamento médio de uma linha em cruzamentos e capacidade específica de combinação como o comportamento particular de uma linha quando cruzada com outra. Borém (2001) torna, ainda, mais claro ao afirmar que a capacidade geral de combinação é a habilidade de um genitor produzir progénies com um dado comportamento quando cruzado com uma série de outros genitores enquanto a capacidade específica de combinação refere-se ao comportamento de uma combinação específica que pode desviar do comportamento esperado com base na capacidade geral de combinação.



Como os caracteres quantitativos são controlados por muitos genes, um indivíduo ou linha, tem vários loci com alelos dominantes em homozigose, mas também possui inúmeros outros com alelos recessivos. Quando se cruzam duas linhas diferindo nos loci com alelos recessivos em homozigose, o híbrido F1 terá grande número de loci em heterozigose. Em caso de ocorrer dominância, o desempenho do F1 será superior ao das linhas parentais, ocasionando o vigor híbrido. Portanto, a heterose. Veja que a heterose será tanto maior quanto mais divergente forem as linhas parentais, ou seja, nos loci em que uma das linhas tem alelos desfavoráveis a outra possui alelos favoráveis. Nessa situação é mencionado que essas linhas possuem boa capacidade de combinação específica, isto é, se complementam bem.

Os programas de melhoramento já estabelecidos possuem algumas linhas elites e pretendem identificar outras que melhor combinam com as eleitas. Assim, anualmente um grande número de híbridos é gerado pelos programas de melhoramento, o que torna a sua avaliação muito difícil e onerosa.

2.1.2.1. TIPOS DE VARIEDADES DE MILHO

A Variedade é um grupo de plantas pertencentes à mesma espécie vegetal que apresenta características comuns que as diferenciam, genética ou fenotipicamente, de outros grupos da mesma espécie com os quais compartilham muitas características e conseguem reproduzir-se livremente. No milho existem dois tipos de variedades, nomeadamente: as de livre polinização ou polinização aberta e as híbridas.

A. Variedades de polinização aberta

As variedades de polinização aberta, vulgarmente designadas de OPVs (open-pollinated varieties), são aquelas resultantes duma população de plantas fenotipicamente semelhantes e que a sua multiplicação resulta de livre polinização, isto é, o pólen de qualquer planta é permitida a polinizar quaisquer outras plantas dentro da mesma população (Vizcayno, Hugo, & Alvarez, 2014). As variedades de polinização aberta podem ser obtidas a partir de selecções intra-populacionais de milho ou mediante recombinação de diversas linhas puras.

Fato, Derera, Tangoona, Makanda, & Sibiya (2011), indicaram que a produção resultante da sementeira de uma variedade OPV pode ser utilizada como semente na campanha seguinte, de forma contínua, sem reposição pelo menos por duas ou três campanhas. Porém, pode não ser tecnicamente viável a utilização de semente reciclada de qualquer tipo de variedades de milho, quer OPVs ou híbridas, pois geralmente resulta nalguma redução do rendimento e consequentemente prejuízo para o produtor. Na verdade, a recomendação para reciclar, e usar como semente na campanha seguinte, o grão de milho colhido de uma OPV cuja produção não foi para efeitos de semente, só pode ser justificada sob ponto de vista económico-familiar, pois tem muitas desvantagens técnico-agronómicas, técnico-científicas, macroeconómicas e mesmo sociais que mais tarde serão apresentadas neste livro.

B. Variedades híbridas

Os Híbridos são definidos como populações da geração F1 resultantes de cruzamento controlado entre parentais geneticamente diferentes (Palwal, 2000). Segundo Paterniani & Campos (1999), as populações F1 geralmente apresentam rendimentos superiores e outras características agronómicas mais avantajadas quando comparados com os dos seus progenitores. A superioridade híbrida em relação aos seus progenitores (parentais) é fenómeno conhecido como vigor híbrido ou heterose.

Os híbridos podem resultar também de cruzamentos entre duas variedades OPVs em equilíbrio ou outras populações geneticamente diferentes entre si. Esses híbridos são conhecidos como híbridos não-convencionais de tipo intervietal. Entretanto, os híbridos comumente encontrados no mercado são o resultado do cruzamento entre linhas puras e são considerados híbridos convencionais (Palwal, 2000). Dependendo do número de linhas que entram na sua constituição, os híbridos convencionais podem ser simples, triplos ou duplos.

Os híbridos simples são resultantes do cruzamento entre duas linhas puras. Geralmente são mais produtivos que os demais tipos de híbridos e apresentam grande uniformidade de plantas e espigas. A semente de híbridos simples tem maior custo de produção, por ser produzida a partir de linhas, que, por serem endogâmicas, apresentam menor vigor. No entanto, o vigor, a uniformidade e a consequente produtividade são máximos neste tipo de híbrido.



Os híbridos triplos são obtidos do cruzamento de um híbrido simples com uma terceira linha. São relativamente menos produtivos quando comparados com os híbridos simples mas são os mais cultivados na maioria dos países em desenvolvimento em virtude do custo da sua semente mais baixo que a dos híbridos simples e ainda apresentarem boa uniformidade da população.

Os híbridos duplos são obtidos pelo cruzamento de dois híbridos simples, envolvendo, portanto quatro linhas puras. Embora sejam geralmente menos produtivos que os primeiros dois tipos e serem mais trabalhosos de manter porque envolve quatro (04) parentais primários. Podem constituir uma alternativa rentável em relação ao uso de semente de variedades de polinização aberta. Actualmente, são menos comuns como variedades usadas na produção.

Os Top-crosses são resultantes do cruzamento entre OPV e linhas puras (OPV × Linha pura) ou híbridos simples e OPV (híbrido × OPV). Constituem o meio-termo entre o uso de variedades híbridas convencionais e variedades de polinização aberta, pois a semente deste tipo de híbridos é mais barata que a dos híbridos porque todos os parentais primários são vigorosos. Porém, a sua arquitectura genética faz com que ainda seja menos uniforme que os híbridos convencionais. Geralmente a OPV funciona como parental feminino quando a linha pura for uma das constituintes da variedade. No caso de envolvimento de híbrido simples, a OPV pode funcionar como parental masculino e o híbrido ser a fêmea. Estes também são muito raros como variedades usadas na produção.

B.1. DESENVOLVIMENTO DE VARIEDADES HÍBRIDAS DE MILHO

Qualquer programa de melhoramento para a obtenção de híbridos de milho começa com o desenvolvimento de linhas puras. Segundo Paterniani & Campos (1999), estão envolvidas no processo pelo menos cinco etapas: (i) a escolha de população inicial para desenvolvimento de linhas puras; (ii) desenvolvimento de linhas puras; (iii) testagem das linhas puras; (iv) caracterização morfológica e genética das linhas (v) uso das linhas puras para síntese de novas variedades. Para o presente estudo serão apenas consideradas as três etapas ii, iii e iv.

B.1.1. Desenvolvimento de linhas puras de milho

O processo de auto-fecundação da planta de milho leva à fixação de caracteres desejados nas novas linhas puras através de acumulação de alelos na sua maioria no estado homocigótico. Entretanto, o mesmo processo provoca a perda de vigor das plantas devido à depressão por endogamia em resultado da exposição no estado homocigótico de alelos indesejáveis difíceis de eliminar quando se situarem muito próximos aos loci das características desejáveis. Portanto, linha pura de milho é uma família de indivíduos relativamente homocigóticos, e por isso uniforme e estável, obtida por auto-fecundação artificial acompanhada de selecção pelo menos por cinco gerações sucessivas.

Como já foi mencionado acima, depressão por endogamia que ocorre durante o desenvolvimento das linhas puras de milho é a razão porquê nos países em desenvolvimento os híbridos simples são pouco utilizados como génotipos finais para produção alimentar. O desejável é ter uma linha pura para que se possa produzir e gerar receita o suficiente para compensar os custos de produção. Para isso, o melhorador de milho deve seleccionar, nas gerações segregantes, indivíduos (plantas) que menos sofrem a depressão de endogamia. Em termos genéticos tais indivíduos acumulariam maior frequência de alelos favoráveis de geração para geração e, por conseguinte, menor dose de alelos desfavoráveis. Morfologicamente, os indivíduos homocigóticos com elevada produtividade teriam as seguintes características:

- Sistema radicular mais difuso e ramificado – para melhor captação de água e nutrientes;
- Folhas erectas – captam melhor a radiação solar para fotossíntese e, portanto, maior capacidade de produção de fotossintéticos;
- Bandeira com apenas poucos ramos secundários.

Para além da engenharia morfológica, o uso da tecnologia duplo-haplóide (LDH) no desenvolvimento de linhas puras de milho tem vindo a ganhar maior expressão em vários programas de melhoramento desta cultura. As LDH sofrem menos depressão de endogamia porque não são sujeitas a autofecundações, mas sim, separação e posterior duplicação cromossómica para formar uma enorme população de linhas iniciais (LDH0). Esta população é semeada para observação e aumento de semente em estufas (geração de LDH1). Esta geração é depois exposta ao ambiente natural e são seleccionadas as linhas que melhor se adaptarem as condições reais e que mostrem vigor e produtividade aceitável. A semente colhida é a geração de LDH2 que pode ser usada para a formação de variedades híbridas. Portanto, com uma selecção criteriosa e rigorosa pode-se obter LDH2 suficientemente produtivas para servirem como parentais femininos de variedades finais de tipo híbrido simples.



Seja qual for o método usado para o desenvolvimento das linhas puras, o produto deve ser seleccionado para capacidade geral de combinação, ou seja, o potencial que cada linha tem de formar combinações híbridas superiores.

Os *top-crosses* têm sido usados para fazer selecção nas fases iniciais como nas fases avançadas de melhoramento. Alguns melhoradores defendem a avaliação da capacidade combinatória em gerações iniciais e acreditam que alta produtividade é tão importante e tão difícil de se obter que deveria ser identificada o mais cedo possível (Troyer, 1994). Segundo a mesma fonte, os outros que defendem a avaliação em gerações mais avançadas acreditam que a produtividade muda durante o desenvolvimento das linhas devido a segregação genética, de modo que, testes em gerações avançadas são melhores que em gerações iniciais, pois a maioria dos loci estão em homozigose.

Na escolha da realização de *top-crosses* em gerações iniciais ou avançadas alguns pontos devem ser considerados, tais como a disponibilidade de recursos financeiros. *Top-crosses* realizados em gerações iniciais têm o custo mais elevado do que em gerações avançadas. Pois, para se fazer os cruzamentos e conduzir os ensaios, o custo é maior do que para realização de autofecundações. Ao se fazer avaliação em estágios avançados muitas linhas são descartadas com base no desempenho per se, durante a sua obtenção e na avaliação apenas as linhas remanescentes serão usadas.

O tipo de germoplasma usado é outro factor que afecta a escolha de testes em estágios iniciais ou avançados. Germoplasmas exóticos requerem mais testes antes de serem avaliados o seu desempenho em combinações híbridas. Portanto, para este tipo de germoplasma, os *top-crosses* devem ser realizados em estágios mais avançados. Para germoplasma adaptado e conhecido, que possua boas características agronómicas, os *top-crosses* poderão ser avaliados com sucesso, em gerações iniciais.

A experiência do melhorador e a característica focalizada na selecção são outros factores que podem determinar a escolha de testes em estágios iniciais ou avançados.

B. Escolha de testador

Hallauer & Miranda Filho (1988), teceram algumas considerações tais como a base genética, o grau parentesco (aparentado ou não aparentado), produção (alta ou baixa), como também o estágio do desenvolvimento do programa (início ou avançado), disponibilidade de semente, tipo de população teste (grupos definidos ou mistura de grupos) e tipo de híbrido de interesse (Simples, duplo ou triplo).

Os cruzamentos entre fontes não relacionadas expressam maior heterose que entre linhas relacionadas (Hallauer, 1990). Muitas vezes, a escolha de testador dá-se de maneira empírica, com base na experiência e na intuição do melhorador, principalmente nas fases iniciais do programa. Contudo, o testador ideal deve ser aquele que provê confiança nas informações do desempenho das linhas e que combine simplicidade no uso.

Os cruzamentos entre as linhas a serem testadas e o testador podem ser feitos manual ou naturalmente numa parcela de campo isolada de outros cultivos de milho semeados no mesmo momento. Em ambos os casos, a quantidade do pólen é uma característica de fundamental importância e que deve ser considerada na escolha do testador dado que este funciona normalmente como polinizador. No caso particular da polinização natural, a altura da planta é também um dos critérios a tomar em conta na escolha do testador. Para facilitar a distribuição do pólen é recomendado que o testador tenha uma altura superior às linhas a serem polinizadas.

Não existem informações precisas disponíveis para a escolha de testadores, mas é evidente que cruzamentos entre fontes não relacionadas expressam maior heterose que entre linhas relacionadas (Hallauer, 1990).

Os testadores com base genética ampla (sintéticos e outras variedades de polinização aberta-OPV) testam bem para capacidade geral de combinação (CGC) ou acção génica aditiva. Os testadores de base genética estreita (linhas) testam bem para capacidade específica de combinação (CEC) (Hallauer & Miranda Filho, 1988; Vencovsky, 1987). Actualmente, os testadores mais comuns utilizados para a primeira avaliação da capacidade combinatória das linhas, geralmente são os melhores parentais de híbridos comerciais. Esta escolha se deve à possibilidade de obtenção de um potencial híbrido comercial em estágios iniciais de desenvolvimento das linhas. Deste modo, a maior parte dos testadores utilizados são linhas elites. Geralmente, os parentais de híbridos comerciais, quando o objectivo é a produção de híbridos simples. Quando o objectivo é a produção de híbridos triplos e duplos os testadores utilizados são híbridos simples elites de híbridos comerciais.



Uma outra questão que se deve colocar está relacionada com o número de testadores a serem utilizados. Quanto maior for o número de testadores, mais bem avaliadas serão as linhas. Entretanto, o número de top-crosses a serem avaliados aumenta como um múltiplo do número de testadores. Geralmente, apenas um ou dois testadores são usados para a primeira avaliação da capacidade combinatória das linhas (Fehr, 1983).

Quando os recursos para testes são pré-determinados, o melhorador deve escolher entre avaliar mais linhas com uma menor precisão, usando apenas um testador ou avaliar poucas linhas com uma maior precisão, usando dois ou mais testadores.

2.2. DUPLICAÇÃO CROMOSSÓMICA

Desde que Shull criou o primeiro esquema para a produção da semente híbrida do milho no início do séc. XX, o melhoramento genético convencional tomou um impulso e um conjunto de melhorias nesta área começou a ser notório. Isto fez com que o milho e mais tarde outras culturas, se adaptassem a diferentes regiões, condições de clima, solo, entre outras finalidades (Silva, et al., 2009; CIB, 2013; Bernardo, 2002; Crow, 1998).

A obtenção de milho híbrido no melhoramento convencional passa por, pelo menos, três etapas: *Obtenção de linhas endogâmicas, teste de combinação que identifica as melhores combinações e, a produção e comercialização das variedades híbridas*. Dentre estas etapas, a obtenção de linhas é a mais demorada e normalmente, de custo elevado porque são necessárias seis a oito gerações de endogamia para se atingir quase 100% da homoziguidade (Silva, et al., 2009; Bison, Ramalho, & Raposo, 2003; Souza Jr, 2001).

O longo tempo necessário e o custo alto de obtenção das linhas têm desafiado os melhoradores a procurarem alternativas que agilizem e tornem o processo menos oneroso. Uma das melhores alternativas que vêm sendo opção desde há algum tempo é o emprego da tecnologia de duplo-haplóides (DH), que consiste na geração de plântulas a partir de células haplóides e posterior duplicação.

A indução de haploidia é a etapa inicial para obtenção de DH, em que um genótipo-fonte (de onde se pretende a extracção de novas linhas) é cruzado com indutor de haploidia, visando obter-se um quantitativo de sementes haplóides que passarão por duplicação cromossômica para a geração de linhas DH. Indutores de haploidia são genótipos (linhas ou híbridos) que possuem a capacidade de induzir, em certa proporção, a formação de sementes com embriões haplóides, como constituição genética baseada nos cromossomas do genótipo-fonte (Lima & Borém, 2018).

A indução da duplicação na cultura de milho pode ser realizada *in vitro*, com adição de agentes antimitóticos ao meio nutritivo, ou *in vivo*, aplicando os agentes directamente nas plântulas ou por imersão das mesmas em soluções antimitóticas (Prasanna, et al., 2018). No entanto, a sua utilização bem-sucedida no melhoramento genético de plantas depende do desenvolvimento de protocolos eficientes de duplicação cromossômica (Pierre, Davide, Couto, Silva, & Ramalho, 2011).

As empresas produtoras de sementes dominam essa tecnologia e relatam percentagens satisfatórias de plantas duplicadas.

2.3. MANUTENÇÃO DAS SUAS CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS

2.3.1 OPV

Uma variedade de polinização aberta é uma população que está em equilíbrio, permitindo a manutenção das características varietais. Assim sendo, pode ser usada por dois ou três anos, desde que a variedade não sofra contaminação, devido ao cruzamento com outras populações do milho. Na ausência da contaminação (o que é muito raro ao nível do produtor), a limitação para o contínuo uso do grão da mesma OPV como semente resulta da selecção e retenção de uma fracção muito pequena dos indivíduos para uso na sementeira das épocas seguintes. Esta prática causa a mudança das características da variedade ao longo do tempo em virtude da chamada deriva genética.

A manutenção das características de uma OPV requer cuidado no tamanho da amostra usada para a sua multiplicação. O tamanho ideal da amostra para esse efeito chama-se *população efectiva* (Falconer & Mackay, 1996). Portanto, na ausência de migração, selecção e mutação, as frequências alélicas e fenotípicas dentro de uma OPV permanecem inalteráveis ao longo das gerações (equilíbrio de Hard-Wenber), mantendo assim as características da variedade.



Segundo Falconer & Mackay (1996), quando o tamanho da amostra for inferior à população efectiva, há risco de fixação ou perda de alelos dentro da população de referência, ocasionando a chamada *deriva genética*. Portanto, a deriva genética refere-se às alterações aleatórias nas frequências alélicas devidas à amostragem reduzida na reprodução da população.

Consequências da deriva genética:

- Aumento da diferenciação entre populações de melhoramento;
- Aumento da uniformidade dentro das populações – ou seja, a variabilidade genética dentro da população torna-se cada vez menor;
- Aumento dos loci em estado de homozigose o que pode levar à perda de vigor da população em resultado da expressão de alelos recessivos deletérios.

Mesmo se houver cuidado de se garantir a retenção de uma amostra bem representativa (população efectiva), o produtor do grão deve comprar novamente a semente cada três anos no máximo. Isto porque a variedade é submetida na instituição de investigação que a desenvolveu, a um processo contínuo de selecção e consequente melhoramento de algumas características, de maneira mais científica e segura.

A manutenção das características da variedade é feita através da produção da semente genética. No caso de OPVs, normalmente é usado o sistema de produção espiga-por-linha. As plantas de semente de cada espiga são emasculadas e um bulk da semente de todas servem como polinizadora. Apenas as linhas emasculadas que apresentam as características da variedade são mantidas e usadas para produção de semente de categorias subsequentes.

Método de polinização com mistura de pólen

- Semear a população de referência em equilíbrio de Hardy-Weinberd usando uma amostra não inferior à população efectiva para evitar a deriva genética.
- Marcar com etiqueta cerca de 400 a 500 plantas que se encaixam na descrição fenotípica da variedade durante o desenvolvimento da cultura, antes do início da libertação do pólen em qualquer planta.
- No momento de polinização colecta-se o pólen das plantas etiquetadas, mistura-se e poliniza-se essas mesmas plantas.

Na colheita,

- Colher todas as espigas das plantas seleccionadas;
- Seleccionar 100 – 200 espigas que satisfazem às características de espiga e caroço da variedade e debulhar separadamente;
- Guardar separadamente 50 – 75 sementes de cada espiga seleccionada para servir como progenitoras da semente do melhorador para uso durante futura manutenção varietal e produção de sementes;
- Da semente remanescente de cada espiga, misturar igual quantidade para servir como semente do melhorador;
- Se a demanda por sementes do melhorador não puder ser satisfeita pela semente de espigas seleccionadas, pode-se acrescentar com semente de outras espigas produzidas em plantas seleccionadas que não tenham sido usadas como progenitoras da semente do melhorador;
- Uma amostra representativa das espigas seleccionadas, bem como sementes de outras espigas polinizadas manualmente, podem ser usadas para avaliação da OPV (pós-controlo).

2.3.2. Híbrido

O objectivo de um programa de melhoramento de milho é desenvolver híbridos que atendam as necessidades dos produtores. Para isso, o programa de avaliação deverá produzir resultados que sejam os mais próximos possíveis das condições do produtor.

Existem vários tipos de híbridos de milho (Secção 2.1.2.1.B), que podem ser produzidos. O mercado moçambicano de sementes coloca mais híbridos triplos pelas razões detalhadamente explicadas acima.

Segundo Souza Jr (2001), as variâncias genéticas de híbridos simples são superiores às dos híbridos triplos e estes, superiores às dos híbridos duplos. Para um carácter complexo como a produção de grãos que é muito



afectado pelas condições ambientais, as variâncias fenotípicas são muito afectadas pelas variações ambientais e pelas interacções génotipos-por-ambientes. Neste caso, as variâncias fenotípicas dos diferentes tipos de híbridos apresentarão valores próximos. Portanto, as respostas à selecção para os diferentes tipos de híbridos serão funções das suas variâncias genéticas. Desta forma, sempre que possível, deve-se optar pelo uso de híbridos simples, seguido de triplos e em seguida de duplos.

A manutenção de uma variedade híbrida é muito simples, bastando fazer a manutenção dos seus parentais (linhas puras). O perigo da mudança das características da variedade ao longo do tempo em virtude da deriva genética que se pode observar nas OPVs, aqui pode ser reduzido porque todos os indivíduos (plantas) são geneticamente iguais. Por conseguinte, mesmo uma única planta é suficiente para manter todas as características da população. Salvo casos de ocorrência de mutação não silenciosa e migração. Por outro lado, é muito fácil detectar qualquer contaminação porque os indivíduos manifestam uniformemente as características da população. Contudo, é muito importante ter-se muito cuidado no manuseio dos parentais dos híbridos de modo a evitar misturas.

Uma informação resumida da diferença entre uma variedade de polinização aberta e uma variedade híbrida pode ser lida na Tabela 2.

Tabela 2. OPVs versus híbridos

Tipo de variedades	OPVs	Híbridos
Sementes	Relativamente barata	Relativamente cara
Uniformidade	Baixa	Elevada
Vigor	Relativamente inferior	Muito vigor
Produtividade	Relativamente inferior	Alta e compensa o custo de semente
Estabilidade dos caracteres	Alta ao longo das gerações	Instável de F1 para F2, mas depois permanece constante

2.4. HERANÇA (QUALITATIVA E QUANTITATIVA)

As características em que se notam classes fenotípicas distintas e facilmente separáveis umas das outras, apresentam uma segregação descontínua e são denominadas qualitativas. Porém, nem todas as características apresentam segregação descontínua.

A produção de grãos, por exemplo, em uma população, pode variar amplamente, e se for feito um estudo de sua segregação, irá se encontrar uma distribuição essencialmente contínua, isto é, entre os tipos mais extremos aparecem inúmeros fenótipos intermediários.

Muitas outras características se expressam dessa maneira. Aliás, a maioria das características de interesse económico, que os geneticistas e melhoradores de plantas normalmente trabalham nelas, apresenta segregação contínua. É notório que para o estudo dessas características, o procedimento normalmente utilizado em genética qualitativa - proporções fenotípicas - não pode ser empregue. Essas características são estudadas dentro de uma área especializada denominada genética quantitativa.

O estudo dos caracteres quantitativos, utiliza em muitas situações, a estatística, pois via de regra, o fenótipo observado é obtido por medições, não havendo possibilidade de se identificar classes fenotípicas distintas, como no caso dos caracteres qualitativos. Desse modo, os estudos genéticos são realizados a partir das estimativas das médias, variâncias, coeficientes de regressão e correlação.

As características herdadas qualitativamente são menos complexas e as diferenças de classes fenotípicas são mensuráveis facilmente. Contudo, existem características consideradas quantitativas, mas que apresentam genes de efeito maior. Por exemplo, Jenkins, Robert, & Findley Jr (1954), usando selecção recorrente para aumentar a frequência de alelos favoráveis para a resistência do *Helminthosporium turcicum* Pass, observou três genes de efeito maior que contribuíam para a redução da doença. (Mertz, Bates, & Nelson, 1964), reportaram a contribuição do mutante do gene opaco 2 (o2) na composição da proteína do milho. Os teores de lisina e triptofano, ligeiramente mais baixos do que nas versões do milho opaco são até 50% mais elevados que nas



versões do milho não-QPM. O aumento dos teores de lisina e triptofano nos QPM é explicado pela redução da fracção zeína e pelo aumento da fracção não-zeína das proteínas do endosperma (Krivanek, de Groot, Gunaratna, Diallo, & Fresen, 2007).

Nos tempos correntes fala-se da era genómica que é uma ferramenta disponível e que vem se tornando cada vez mais necessária aos programas de melhoramento. A genómica actua em pelo menos três áreas: (i) na genómica clássica em que são estudados os marcadores genéticos, quando se fazem análises de ligação e ordenamento de genes, nas análises multipontos. O mapeamento genético e de QTLs e avaliação dos seus efeitos; (ii) na informática, que investe na formação de base de dados, em que são realizadas comparações de sequências e são promovidas comunicações de dados e automação de material geral; (iii) na análise de sequência de DNA, em que são feitos os sequenciamentos, alinhamentos e as comparações de sequências obtidas na genómica clássica, além de estudos de simulações para identificar a variabilidade de determinado modelo estatístico a ser aplicado em programa de mapeamento (Cruz, Salgado, & Bhering, 2013). Contudo, nesta publicação vai se tratar principalmente da genética quantitativa clássica em que o fenótipo observado é devido à soma dos efeitos genéticos, efeitos do ambiente, a interacção entre eles e na genética quantitativa neoclássica que incorpora informação de marcadores moleculares no valor genotípico do individuo.

2.5. DESAFIOS NO MELHORAMENTO DE CARACTERES QUANTITATIVOS

A grande dificuldade de estudo do carácter quantitativo reside em dois factores, nomeadamente: baixa frequência de alelos favoráveis e alta interacção genótipos por ambiente:

2.5.1. Baixa frequência de alelos favoráveis

a. Grande número de genes envolvidos na expressão do carácter

Os alelos efectivos contribuem favoravelmente para o fenótipo de um dado carácter. Ou seja, há superioridade do alelo afectivo em relação ao não efectivo. Assim, à medida que se aumenta o número de genes, há um incremento no número de classes fenotípicas, diminuindo a diferença entre elas. Isto significa que o aumento de número de genes, diminui a contribuição de cada alelo efectivo para o carácter.

Um aspecto que se deve chamar à atenção é que, em muitos casos, o “carácter” que se está estudando consiste de diversos caracteres, cada um controlado por genes específicos. Assim, as diversas expressões fenotípicas desse “carácter” na verdade se devem a esses inúmeros genes. Um exemplo ilustrativo é a coloração dos grãos do feijoeiro. Aparentemente, trata-se de um único carácter, mas se estudado em profundidade, verificar-se-á que pode ser decomposto em cor do tegumento, presença ou não de listras, presença ou não de pintas, cor do hilo e brilho do tegumento.

b. Baixa herdabilidade

A herdabilidade mede o nível da correspondência entre o fenótipo e o valor genético. A mais importante função da herdabilidade no estudo genético refere-se ao seu papel preditivo, expressando a confiança do valor fenotípico como um guia para o valor genético ou o grau de correspondência entre o valor fenotípico e o valor genético (Falconer, 1987). Quando a herdabilidade é alta implica que a característica avaliada em um dado ambiente pode ser muito precisa. Ou seja, a relação é fácil e a característica seleccionada poderá ser passada para a geração seguinte.

Segundo (Cruz, 2012), se a herdabilidade for baixa, o valor fenotípico não é uma medida confiável do valor fenotípico e a superioridade aparente de um individuo em relação a outro poderá não ser devida a causa genética. Nesta situação, o processo selectivo poderá estar comprometido. O aumento da herdabilidade de um carácter pode ser obtido por meio da incorporação de maior variabilidade genética na população ou pela minimização da influência ambiental sobre a característica.

2.5.2. Alta interacção genótipos-por-ambientes

Em qualquer situação que o melhorador de plantas esteja a trabalhar, as interacções genótipos-por-ambientes estão presentes e a magnitude relativa dessas interacções fornecem subsídios aos melhoradores quanto à estratégia de escolher genótipos de adaptação ampla ou de adaptação restrita a ambientes específicos (Vencovsky & Barriga, 1992).

A interacção genótipos- por -ambientes reflecte as diferentes sensibilidades dos genótipos às mudanças ambientais. Em termos genéticos, a interacção ocorre quando a contribuição dos genes que controlam o carácter ou o nível de expressão dos mesmos difere entre os ambientes. Isso ocorre porque a expressão dos genes é influenciada pelo ambiente. Como o valor genotípico pode não ser coincidente nos diferentes ambientes, é



necessário que se realize um grande número de avaliações dos génotipos nos diferentes ambientes para se ter segurança na sua selecção ou recomendação (Ramalho, Santos, Abreu, & Nunes, 2012). Diante de um trabalho de melhoramento é pertinente estimar todas as variâncias, de genética até a residual, passando pelas variâncias devidas às interacções génotipos-por-locais, génotipos-por-anos e génotipos-por-anos por-locais. O ideal seria que essa interacção maximizasse a herdabilidade de um dado carácter. A situação mais desconfortável ocorre quando se verifica o predomínio da variância devida à interacção tripla (génotipo, local e ano), pois neste caso precisa-se aumentar os locais e anos de avaliação. Esta situação complica-se mais se a variância devida à interacção génotipos-por-anos for considerável, pois precisará acrescentar mais os anos de avaliação.

A variância devida à interacção génotipos-por-anos é de mais difícil controlo do que a da interacção génotipos-por-locais, pois esta última pode-se reduzir através do zoneamento agrícola. Nele são agrupados os ambientes ecologicamente semelhantes em sub-regiões dentro das quais a interacção passa a não ser significativa. Esse agrupamento só é possível com base em diferenças agro-ambientais, tornando o zoneamento vulnerável às variações imprevisíveis que possam ocorrer no ambiente (Ramalho, Abreu, Santos, & Nunes, 1993).

A redução da interacção génotipos por anos que surge por oscilações climáticas entre anos de cultivo requer investimentos em práticas culturais (Vencosvsky e Barriga, 1992). Por outro lado, Cruz e Carneiro (2006), afirmam que o reflexo da interacção génotipos-por-ambientes sobre os ganhos com a selecção apresenta duas situações: (i) uma em que a interacção manifestada pode ser capitalizada como ocorre em alguns casos de interacções regionais e (ii) outra em que a interacção é um factor perturbador da selecção, como se observa na maioria das interacções temporais.

A identificação de variedades com maior estabilidade fenotípica é uma alternativa que tem sido amplamente utilizada, pois pode ser aplicada para diferentes situações e nisso há uma série de metodologias que podem ser seguidas para avaliar a estabilidade.



III: COMO MELHORAR A EFICIÊNCIA DE SELECÇÃO

3.1. GANHO GENÉTICO

A estimativa do ganho esperado com a selecção é muito importante nos programas de melhoramento de qualquer espécie, porque permite aos melhoradores desenharem antecipadamente estratégias adequadas para melhorar a eficiência do processo.

O ganho com a selecção é baseado em uma unidade de selecção (indivíduo ou família). A maioria dos caracteres de grande importância como é o caso de produção de grãos, apresenta uma base genética complexa além de ser influenciado pelo ambiente. Se a selecção envolver apenas um desses caracteres de base genética complexa e sendo possível descartar todos os materiais abaixo de um certo valor, tem-se uma selecção truncada. Neste caso, o diferencial de selecção pode ser expresso em unidades de desvios fenotípicos padronizados (i), sendo também denominado intensidade de selecção padronizada (Ramalho et al., 1993).

Usando i , a expressão do ganho com a selecção (ΔG) pode ser:

$$\Delta G = \frac{iC\sigma_G^2}{y\sqrt{\frac{\sigma_e^2}{re} + \frac{\sigma_{GE}^2}{e} + \sigma_G^2}} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

i = diferencial padronizado de selecção;

C = controlo parental;

σ_G^2 = Variância genética;

σ_e^2 = Variância ambiental;

σ_{GE}^2 = variância da interacção genótipos por ambientes;

y = número de anos por ciclo de selecção;

r = número de repetições por cada ambiente;

e = número de ambientes avaliados.

Considerando um modelo misto de análise de variância conjunta com o efeito do genótipo fixo, as estimativas de componentes de variância são obtidas pelas seguintes expressões:

Variância genética

$$\sigma_G^2 = \frac{QMG - QMGE}{er} \quad (\text{Equação 2})$$

Variância da interacção genótipos por ambientes

$$\sigma_{GE}^2 = \frac{QMGE - QMR}{r} \times \frac{G-1}{G} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

QMG = quadrado médio de genótipos;

QMR = quadrado médio de resíduo;

QMGE = quadrado médio da interacção genótipos-por-ambientes.



Será considerada para ilustração, a produtividade de grãos de 45 híbridos simples e três híbridos triplos de milho, semeados no ano de 2009, em quatro locais de Moçambique (Tabela 3). Tabela 3. Média da produtividade de grãos (t/ha) avaliados em 48 tratamentos, três repetições e quatro locais, 2009.

Tratamentos	Umbeluzi			Nampula			Sussundenga			Chókwè		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	4,90	4,46	4,80	5,03	5,52	4,50	6,25	5,88	6,93	3,71	3,64	3,78
2	4,83	4,68	5,47	5,16	3,91	4,58	4,20	4,73	4,29	2,31	3,37	3,09
3	3,76	3,97	4,33	4,88	5,17	4,32	4,57	4,30	6,69	4,14	3,20	2,79
4	2,78	2,89	2,46	2,52	2,78	3,17	4,96	3,53	5,45	2,50	3,09	3,01
5	5,98	4,63	5,48	3,60	3,53	3,89	5,21	5,01	4,44	3,02	3,09	2,57
6	4,19	3,35	4,04	4,87	4,62	5,24	3,95	4,23	3,97	4,31	3,26	5,55
7	3,68	3,62	4,56	3,36	3,25	3,00	4,47	4,46	5,36	4,22	2,16	2,76
8	3,97	4,07	5,03	3,67	4,31	4,39	5,15	6,84	5,99	3,40	2,18	3,97
9	3,97	3,80	5,46	3,66	3,23	3,49	6,31	5,47	5,91	2,56	2,92	3,28
10	4,56	4,90	4,22	5,13	4,46	4,84	4,44	5,21	4,52	3,00	1,41	2,27
11	3,55	4,63	5,20	5,36	5,40	5,16	6,89	6,38	6,13	3,33	3,43	3,53
12	4,95	3,64	3,99	5,56	5,06	5,58	3,58	4,48	4,48	4,75	1,76	2,38
13	3,56	3,61	3,32	5,01	5,09	5,01	3,67	4,75	4,13	3,03	2,81	3,60
14	4,25	4,17	5,84	4,08	3,97	3,59	4,83	5,33	6,09	3,47	3,56	3,53
15	3,89	4,11	4,16	4,15	3,56	3,69	5,81	5,63	4,42	4,06	2,39	2,77
16	5,24	6,66	7,19	5,69	5,14	4,84	6,60	6,68	7,00	3,93	3,64	3,87
17	4,56	3,43	3,96	5,79	4,93	5,69	7,05	7,79	6,65	3,92	3,18	4,20
18	3,15	3,15	3,86	3,40	3,16	2,98	5,65	5,93	6,81	3,56	3,13	3,26
19	4,10	3,73	4,68	5,67	5,31	4,51	4,57	4,40	4,85	3,57	2,50	3,14
20	5,40	5,13	7,81	5,91	6,08	6,69	5,62	5,01	6,50	2,83	2,83	2,82
21	3,86	3,74	5,34	4,63	5,84	5,88	4,43	3,78	4,11	3,20	3,85	2,26
22	5,80	5,76	5,52	4,35	5,10	4,45	5,85	5,67	4,99	4,16	2,49	2,79
23	6,17	5,30	6,69	6,00	5,93	6,35	6,99	6,42	7,90	2,66	3,30	2,44
24	4,49	3,28	5,53	3,56	4,06	2,23	5,48	4,67	5,89	2,53	2,74	2,88
25	4,31	3,87	3,50	5,25	5,16	5,32	4,30	5,17	4,12	3,72	2,61	2,68
26	4,31	3,41	2,70	5,03	5,96	5,59	5,97	5,39	6,26	3,63	3,09	4,17
27	3,28	4,36	3,71	4,86	5,57	4,87	5,38	5,33	5,77	5,54	3,51	4,38
28	3,02	3,04	4,13	4,46	4,85	4,16	4,58	5,01	4,80	4,48	3,83	3,17
29	4,12	3,91	5,42	5,45	5,37	4,65	6,69	5,99	5,97	4,19	2,57	4,24
30	3,92	4,27	6,50	5,71	5,51	4,75	5,91	5,84	5,78	3,62	3,65	3,59
31	2,98	3,42	3,45	4,30	3,83	3,53	6,01	4,86	6,08	3,65	1,72	4,07
32	4,30	3,19	3,94	3,66	3,85	3,67	4,74	5,90	4,68	4,11	2,17	4,44
33	5,14	3,95	5,87	5,03	5,20	6,49	4,19	4,15	4,23	3,33	1,61	3,59
34	3,31	3,73	4,12	5,13	5,11	4,96	5,95	4,85	5,27	4,34	2,22	3,25
35	4,82	4,34	4,76	4,40	4,11	3,70	4,62	4,73	4,27	3,89	3,05	3,00
36	4,91	4,41	5,21	5,23	4,53	5,01	5,21	5,67	4,53	4,85	5,35	4,66
37	4,70	3,41	5,14	4,67	5,17	4,56	4,95	4,65	5,40	3,47	3,01	3,29
38	3,98	3,14	3,12	4,81	5,78	4,95	5,68	6,26	6,61	2,28	2,64	4,59
39	4,83	4,86	3,69	4,39	4,35	3,94	6,09	6,07	5,08	2,75	2,54	2,96
40	3,63	3,64	3,10	4,85	5,01	5,77	4,79	4,49	4,28	3,03	2,62	3,69
41	4,54	4,42	6,33	7,66	7,27	6,54	5,61	6,26	7,24	3,33	3,53	3,25
42	4,87	4,51	5,34	6,92	4,70	5,42	5,20	5,76	4,94	4,56	3,43	4,75
43	4,79	4,79	4,06	5,01	5,60	5,61	5,54	4,96	6,28	3,94	2,53	3,70
44	2,22	2,52	2,37	4,10	4,60	4,65	6,37	6,33	5,88	3,54	1,87	3,12
45	4,83	5,29	6,13	5,57	5,38	4,96	5,45	7,13	6,86	3,80	3,47	4,13
46	4,83	4,83	6,48	4,39	5,32	5,33	6,44	5,88	6,94	2,81	2,76	3,92
47	4,63	2,99	3,09	4,83	4,20	5,25	6,20	7,01	7,41	3,83	3,97	4,43
48	3,69	3,13	4,67	5,63	6,01	5,29	7,06	6,95	7,10	3,26	2,34	3,82



A análise de variância foi feita considerando o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = m + (B/A)_{jk} + G_i + A_j + GA_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad Y_{ijk} = m + (B/A)_{jk} + G_i + A_j + GA_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad \text{(Equação 4)}$$

Neste modelo tem-se:

Y_{ijk}: observação no k-ésimo bloco, avaliado no i-ésimo tratamento e j-ésimo ambiente;

m: é a média do ensaio

(B/A)_{jk}: efeito do bloco k dentro do ambiente;

G_i: efeito do tratamento i;

A_j: efeito do ambiente j;

GA_{ij}: efeito da interacção entre o tratamento i e o ambiente j;

E_{ijk}: erro aleatório associado à observação ijk

Considerando os efeitos de blocos, de ambientes, da interacção genótipos-por-ambientes e do erro, aleatórios e o efeito do genótipo fixo, as esperanças dos quadrados médios e as estatísticas F são assim apresentados (Tabela 4):

Tabela 4. Esperanças de quadrados e as estatísticas F

Fonte de variação	GL	E(QM)	F
Blocos/Ambientes	(r-1)e	σ_A^2	
Ambientes (E)	e-1	$\sigma^2 + g\sigma^2_b + gr\sigma^2$	QME/QMB
Tratamentos (T)	g-1	$\sigma^2 + r\sigma_{ga}^2 + ar\phi g$	QMG/QMGE
T x E	(e-1)(g-1)	$\sigma^2 + rl\sigma_{ga}^2$	QMGE/QMR
Resíduo	(g-1)(r-1)e	σ^2	

$l=g/(g-1)$

Com os dados apresentados na Tabela 3, os componentes de variância genética, de variância da interacção e do resíduo são respectivamente: 0,12527; 0,38231 e 0,31703.

3.2. AUMENTAR A INTENSIDADE DE SELECÇÃO

A intensidade de selecção está directamente relacionada com a proporção de indivíduos que serão utilizados nas gerações seguintes (Equação 1). Este componente é comumente utilizado quando não se conhece o diferencial de selecção, mas conhecendo-se a proporção de indivíduos a seleccionar.

A intensidade de selecção em programas de selecção recorrente depende de número de progénies avaliadas, tipo de progénies utilizada para recombinação, precisão experimental, normalidade climática do ano e se os programas são conduzidos para curto, médio ou longo prazo (Souza Jr, 2001).

Para a ilustração, assim foram consideradas cinco proporções para a estimativa de ganho por selecção. Pressupondo que o controlo parental é igual a unidade e as variâncias (variância genética, variância da interacção, genótipos-por-ambientes e a variância do resíduo) foram obtidas a partir das esperanças dos quadrados médios (Tabela 4) e dos dados apresentados na Tabela 3. Assim, os ganhos com a selecção se seguem estimados a partir da equação 1 (Tabela 5).

**Tabela 5. Ganhos de selecção com diferentes proporções de selecção**

Proporção Seleccionada	I	Ganho com selecção (t/ha)	Ganho Percentual
30 de 100	1,149	0,112	2,49
20 de 100	1,386	0,135	3,00
10 de 100	1,730	0,168	3,75
5 de 100	2,018	0,196	4,37
1 de 100	2,508	0,244	5,44

I =diferencial padronizado de selecção.

Pode-se observar que quanto menor for a proporção de indivíduos seleccionados maior será o ganho de selecção. Contudo, uma atenção deve ser dada para que não seja aplicada uma intensidade de selecção excessiva, o que pode exaurir a variabilidade existente nas populações alvas de selecção. Esta constatação foi comentada, também, por Chao-Ying, Lu-Jiang, Ke-Cheng, Guang-Tang, & Ting-Zhao (2010), tendo sugerido o aumento simultâneo do tamanho da população e da intensidade de selecção para solucionar este contraste.

Em um estudo conduzido por Doná, Miranda, Lima, Chaves, & Gomes e Gama (2012), com o objectivo de estimar o ganho com a selecção e outros parâmetros genéticos, usando duas populações e 300 plantas da população inicial e uma proporção de 15 em 100. Observaram também que a variabilidade foi exaurida e o ganho por selecção foi nulo. Isto reforça a tese de que existe necessidade de aumentar a intensidade de selecção juntamente com o tamanho da população.

O tamanho efectivo populacional (população efectiva) depende do tipo de progénie utilizada na recombinação. O milho apresenta altas taxas de depressão por endogamia, principalmente para caracteres mais complexos, e, por isso, populações efectivas reduzidas podem implicar aumento da endogamia nas populações e reduzir ganhos com a selecção (Souza Jr, 2001).

A intensidade de selecção também é afectada pela precisão experimental. Quando a precisão experimental é baixa a diferença entre as médias das progénies podem ser detectada com muita dificuldade. Isto dificultaria reconhecer as progénies a seleccionar. Outro factor que afecta a intensidade de selecção, é a ocorrência de anos atípicos e para este caso deve-se aplicar intensidades de selecção pouco elevadas para não seleccionar progénies com muita interacção com esta situação atípica (Souza Jr, 2001). Por outro lado, uma alta intensidade de selecção não implica necessariamente uma grande mudança na frequência alélica para os loci não alvos de selecção (directa ou indirecta).

3.3. AUMENTAR O CONTROLO PARENTAL

Na perspectiva de Chao-Ying, Lu-Jiang, Ke-Cheng, Guang-Tang, & Ting-Zhao (2010), o aumento simultâneo do tamanho da população e da intensidade de selecção pode contribuir significativamente no aumento do ganho por selecção. Mas, na Tabela 6 percebe-se que adicionando-se mais um componente de ganho, o controlo parental, os ganhos são ainda maiores. Ou seja, para cada proporção seleccionada os ganhos são maiores quando as progénies endogâmicas são recombinadas. Assim, combinado progénie endogâmica, baixa proporção a seleccionar e maior tamanho da população se espera ganhos ainda maiores.

Para esta ilustração as variâncias (variância genética, variância da interacção genótipos por ambientes e a variância do resíduo) foram obtidas a partir das esperanças dos quadrados médios dos dados apresentados na Tabela 3 e os ganhos com a selecção se seguem estimados a partir da Equação 1, considerando apenas a variação do controlo parental (C). $C = \frac{1}{2}$ se os machos não forem seleccionados, $C = 1$ se ambos (machos e fêmeas) forem seleccionados e $C = 2$ se a progénie seleccionada for recombinada.



Tabela 6. Ganhos de selecção com diferentes proporções de selecção e três controlos parental

Proporção seleccionada	I	C	Ganho com selecção (t/ha)	Ganho Percentual
30 de 100	1,149	1/2	0,06	1,25
		1	0,11	2,49
		2	0,22	4,98
20 de 100	1,386	1/2	0,07	1,50
		1	0,13	3,00
		2	0,27	6,01
10 de 100	1,730	1/2	0,08	1,88
		1	0,17	3,75
		2	0,34	7,50
5 de 100	2,018	1/2	0,10	2,19
		1	0,20	4,37
		2	0,39	8,75
1 de 100	2,508	1/2	0,12	2,72
		1	0,24	5,44
		2	0,49	10,87

Começar o processo de melhoramento com uma população base que apresenta média alta para o carácter em causa e que apresenta maior variabilidade possível pode ser uma boa estratégia. A média alta está relacionada com o envolvimento de genitores que sejam bem adaptados enquanto a alta variância está relacionada com a complementaridade dos genitores (Ramalho, Santos, Abreu, & Nunes, 2012).

Na variância aditiva cada alelo contribui com efeito pequeno e independente sobre o fenótipo, o qual é somado aos efeitos dos demais alelos. Ou seja, a variância aditiva mede a variação dos efeitos que são transmitidos de geração para outra (Bernardo, 2010).

Numa selecção recorrente intra-populacional em que se usam famílias/progénies para selecção envolve-se o desenvolvimento, avaliação e recombinação das famílias. Portanto, a selecção baseada em famílias explora a variância aditiva expressa em cada família (Tabela 7).

Tabela 7. Variâncias genéticas em diferentes progénies

Progénies	Variância genética (σ_G^2)
Meios-irmãos	$\frac{1}{4}\sigma_A^2$
Irmãos completos	$\frac{1}{2}\sigma_A^2 + \frac{1}{4}\sigma_D^2$
Endogâmicos (S1)	$\sigma_A^2 + \frac{1}{4}\sigma_D^2$
Endogâmicos (S2)	$\frac{3}{2}\sigma_A^2 + \frac{3}{16}\sigma_D^2$
Endogâmicos (Sn)	$2\sigma_A^2$

σ_A^2 é variância aditiva; σ_D^2 é variância de dominância



Os tipos de progénies usados na recombinação afectam a resposta à selecção entre famílias. Na recombinação de meios-irmãos as famílias individuais são tornadas linhas femininas e o bulk balanceado de todas as constitui o polinizador. Na colheita, a semente das famílias seleccionadas é misturada para ser usada na geração seguinte.

Usando irmãos germânicos ou irmãos completos a selecção ocorre em ambos parentais (macho e fêmeas). A resposta à selecção é, portanto idêntica quando as sementes auto-fecundadas, ou seja, quando as sementes remanescentes das famílias de irmãos completos seleccionados são usadas em recombinação. Assim, a variância aditiva entre as famílias aumenta com as gerações de endogamia (Secção 1.1 e Tabela 1).

A selecção de famílias endogâmicas visa explorar o aumento da variância aditiva entre as famílias. Quando a frequência do alelo dominante é igual a frequência do alelo recessivo (considerando dominância completa), o coeficiente da variância aditiva na variância das famílias S_1 e S_2 como é descrito na Tabela 7.

A selecção entre as famílias nas gerações avançadas de auto-fecundação explora mais a variância aditiva. Mas, a selecção recorrente além da geração S_2 tem pouco valor por dois motivos. Primeiro, o aumento no coeficiente aditivo diminui a cada geração adicional de autofecundação e segundo, a necessidade de gerações adicionais de autofecundação reduz a resposta anualmente (Tabela 1).

A selecção recorrente inter-populacional visa melhorar o desempenho do cruzamento entre duas populações. As duas populações geralmente compreendem grupos heteróticos complementares. O procedimento clássico de selecção inter-populacional é a selecção recorrente recíproca, uma forma de selecção de família de meios-irmãos na qual a população 1 e população 2 são usadas como testadores uma da outra. No entanto, o testecross com uma ou duas linhas de origem endogâmica como testadoras é o procedimento de selecção inter-populacional mais prático no contexto do programa de melhoramento para obtenção de híbridos. Pois, espera-se que a variância do testecross seja, em média, maior quando o testador é uma linha e não uma população segregante e que também haja chance de se identificar de imediato o novo híbrido.

- Considerando a variância aditiva, algumas acções podem ser usadas no incremento para dar resposta à selecção:
- Seleccionar uma pequena porção de indivíduos ou famílias, contudo a quantidade seleccionada dos mesmos para ser recombinada na geração seguinte deve ser suficiente para evitar a deriva genética. Por exemplo, se pretende seleccionar os melhores 0,10% de famílias recombinando 20 famílias para formar o próximo ciclo, então 20.000 famílias precisam ser avaliadas em cada ciclo. Mas, por outro lado, avaliar um número tão grande de famílias não é viável. Portanto, existem limites práticos para seleccionar uma proporção menor de famílias;
- Aumentar o coeficiente da variância aditiva através de recombinação das progénies endogâmicas na fase avançada em vez de usar gerações precoces de endogamia;
- Fazer uma introgressão de germoplasma na população;
- Reduzir os efeitos não genéticos como são os casos da variância do erro e da variância da interacção progénies por ambientes.

A variabilidade genética é determinada no momento que a população é escolhida para selecção. Desenvolver compostos a partir de populações divergentes é muito importante como primeiro passo no programa de melhoramento. Uma vez desenvolvida a população, a influência da variância aditiva no ganho esperado pode ser controlada apenas pela selecção (controlo parental) ou eventualmente, pela limitação da variedade de ambientes.

3.5. REDUZIR A VARIÂNCIA AMBIENTAL

Se a variância da interacção genótipos-por-ambientes for grande a participação de número de ambientes deve ser maior do que de repetições. Num trabalho apresentado por Bos & Caligari (2008), ficou claro que, para características de baixa herdabilidade, quando se aumenta o número de repetições durante a avaliação os ganhos tendem a ser crescentes. Contudo, quando a herdabilidade vai aumentando, o número de repetições se torna pouco importante. Isto é sinal de quão interferência do ambiente é para características de baixa herdabilidade. Para a selecção por famílias, o aumento de repetições e o número de plantas por talhão lideram a redução da variância fenotípica e consequentemente aumenta o ganho genético.

O delineamento experimental é o plano de distribuição dos tratamentos nas parcelas experimentais o que permite a identificação das fontes de variação em que a soma de quadrados totais será decomposta. Entre os objectivos do delineamento, a estimativa do erro experimental contribui para aumentar a precisão dos experimentos e fornecer informações sobre procedimento mais apropriado para se fazer os testes de significância.



O tipo de tratamento a ser aplicado e o local de condução de experimento, a heterogeneidade dos solos, níveis de significância desejada e o número de tratamentos avaliados constam dos factores que afectam o delineamento (Ramalho, Ferreira, & Oliveira, 2005). Para atenuar os problemas descritos, deve-se usar delineamentos que tenham o controlo local. A eficiência dos delineamentos amplamente conhecidos como blocos completos casualizados quando adoptados em situações de maior número de tratamentos é sensivelmente prejudicada e diminui à medida que o número de parcelas por blocos aumenta. A heterogeneidade dentro do bloco tende a aumentar o erro experimental, dificultando assim a discriminação das famílias em razão de menor precisão experimental.

Os cuidados na colecta de dados, na análise e no manuseio de material experimental devem ser considerados para reduzir a variância ambiental. A colecta de dados é tarefa que leva muito tempo e exige paciência, esforço pessoal, disciplina quanto ao tempo e local, treinamento, critério e muita atenção no registo da informação. Deve ser realizada baseada no cronograma compatibilizando a execução do trabalho com os objectivos do mesmo (Ferrão, 2008).

3.6. REDUZIR O NÚMERO DE ANOS POR CICLO

Uma das formas de reduzir o número de anos de selecção é usar todo o ano para actividades de cruzamento e avaliação. Em termos práticos, consistiria em conduzir o viveiro fora da época principal da produção da cultura (avançar gerações e gerar híbridos e populações) e avaliar o material gerado durante a época principal. Uma disciplina é necessária, especialmente na gestão do tempo, de forma a, que depois da colheita dos ensaios, seja possível analisar os dados colectados e tomar decisões sobre o que semear e que actividade para esse material semeado.

3.7. USO DE MARCADORES MOLECULARES

A selecção assistida por marcadores será superior à selecção baseada no fenótipo quando a estimativa de herdabilidade do carácter for pequena. Portanto, o benefício máximo da selecção assistida por marcadores é quando a característica de interesse é de difícil mensuração (Bernardo, 2010; Dudley, 1993).

Mais recentemente, a selecção indirecta tem sido realizada empregando-se marcadores moleculares associados a outros caracteres de interesse agronómico ou económico. O emprego dessa técnica, possibilita por exemplo, aumentar a intensidade de selecção mantendo a variabilidade, aumentar o controlo parental seleccionando antes da polinização, reduzir o número de anos por ciclo por seleccionar fora de ambiente de estudo como também é eficiente para características de baixa herdabilidade onde o marcador molecular explica a alta porção da variância fenotípica. Portanto, para aumentar o ganho genético pode-se aumentar a intensidade de selecção (i), o controle parental (C) e a variância genética, reduzindo anos por ciclos de selecção e reduzir a variância fenotípica.

3.7.1. MARCADORES MOLECULARES

No melhoramento genético de plantas, tem-se buscado, cada vez mais, a manipulação assistida por marcadores moleculares, visando a obtenção de maior eficiência na transferência de genes, tratando-se, portanto, de ferramentas utilizadas para detectar variações no genoma, aumentando o poder da análise genética das plantas (Borém & Caixeta, 2016).

Por volta dos anos 1960, os marcadores utilizados em estudos de genética e melhoramento eram aqueles determinados por loci associados a características morfológicas, sendo estas, geralmente de fácil identificação visual. Portanto, alguns marcadores morfológicos causam efeitos indesejáveis, ao contrário dos moleculares, que apresentam vantagens como o alto nível de polimorfismo para cada locus estudado, facilitando o desenvolvimento de mapas a partir de populações segregantes e de cruzamentos específicos; a neutralidade em relação aos efeitos de ambientes, com pouco ou nenhum efeito de epistasia ou pleiotropismo; e são em geral, codominantes, permitindo a obtenção de maior quantidade de informação sobre o locus estudado (Cruz, Salgado, & Bhering, 2013).

3.7.1.1. TIPOS DE MARCADORES MOLECULARES

Marcadores de Proteínas – Bioquímicos

Os marcadores de proteínas são também denominados marcadores bioquímicos e os mais usados são representados pelas isoenzimas – esterase, fosfatase, peroxidase, etc. e pelas proteínas de reserva de sementes (Ramalho, et al., 2012). De acordo com os mesmos autores o procedimento para o uso desses marcadores consiste basicamente na extração da proteína e no uso de reações apropriadas para que a identifique.



No caso do marcador ser uma isoenzima por exemplo, primeiro ela deve ser isolada do indivíduo que queremos avaliar e, em seguida, colocada em contacto com o seu substrato específico para ser transformado. O produto é normalmente identificado por coloração. Em diversas espécies, tanto vegetais quanto animais esses marcadores vêm sendo empregues, especialmente por serem de menor custo. Em cevada por exemplo, tem sido utilizada a isoenzima esterase para seleccionar, de forma indirecta, plantas resistentes ao vírus da mosaico amarelo, decorrente do alelo dominante Ym.

Marcadores RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Os marcadores denominados RFLP que quer dizer “polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição” surgiram após a descoberta das enzimas de restrição por Linn e Arber (1968) e Meselson e Yuan (1968). Essas enzimas, consideradas “tesouras” moleculares, clivam o DNA em locais específicos, denominados sítios de restrição, constituídos por quatro a oito pares de bases, distribuídos ao longo da molécula do DNA (Borém & Caixeta, 2016). Esta técnica baseia-se no polimorfismo gerado por digestão do DNA genómico das plantas com enzimas de restrição. Após essa digestão ocorre a separação de fragmentos de DNA por eletroforese em gel de agarose, ou poliácridamida, que, em seguida, são transferidos por uma membrana de nylon e hibridizado com uma sonda marcada (Cruz, Salgado, & Bhering, 2013).

A principal vantagem dos marcadores RFLP é a sua expressão codominante, o que possibilita distinguir os indivíduos homocigóticos dos heterocigóticos, gerando volume maior de informação para estudos genéticos e aplicação no melhoramento. Além disso, os marcadores RFLP não são afectados por pleiotropia, epistasia ou variações ambientais. O DNA a ser analisado pode ser extraído de qualquer parte do organismo, independentemente do estágio de desenvolvimento. Estes marcadores apresentam resultados altamente estáveis e reproduzíveis entre laboratórios (Borem & Caixeta, 2016).

Marcadores Baseados em PCR

Com o desenvolvimento da técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction, ou reacção em cadeia da DNA polimerase) na década da 80, novos tipos de marcadores surgiram. Por meio dessa técnica, podem-se amplificar porções específicas do genoma, desde que as sequências em torno dessas regiões sejam conhecidas. Desse modo é possível sintetizar comercialmente oligonucleotídeos iniciadores ou primers (cerca de 20 nucleotídeos) franqueando essas regiões, e amplificá-las *in vitro* pela acção da DNA polimerase. Uma pequena quantidade do DNA genómico é colocada em um tubo ao qual são adicionados uma solução tampão contendo magnésio, dois primers específicos, os quatro desoxinucleosídeos trifosfato (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) e a enzima DNA polimerase. O tubo é colocado em um termociclador e submetido a vários ciclos de amplificação (30 a 40) min. a 94° C as duas fitas do DNA se separam (desnaturação), a 55° C os primers pareiam aos sítios e flanqueiam a região a ser amplificada, a 72° C a enzima DNA polimerase estende o primer, isto é, adiciona os nucleotídeos ao terminal 3'-OH dos primers, copiando as duas fitas molde. No segundo ciclo as fitas do DNA irão se separar novamente a 94° C e o processo se repetirá. A cada ciclo dobra-se a quantidade do DNA da região flanqueada pelos primers. Portanto obtém-se uma amplificação exponencial do DNA molde, o que produz uma quantidade de DNA molde que pode ser visualizada em um gel de eletroforese (Viana, Cruz, & Barros, 2012).

A principal desvantagem da técnica da PCR é o facto de ela requerer o isolamento e o sequenciamento de um dado alelo, para se obter o par de primers, tornando a técnica onerosa. Entretanto, com a disponibilidade de grande número de sequências de alelos em bancos públicos de DNA, essa dificuldade vem sendo eliminada (Ramalho, et al., 2012).

Marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

Uma das primeiras modificações do PCR surgiu em 1990, pela utilização de primers de sequência aleatória, dispensando-se assim a necessidade de informação de sequência para síntese do primer. O procedimento passou a ser chamado de RAPD, do inglês Random Amplified Polymorphic DNA, que significa DNA polimórfico amplificado e aleatório (Ramalho, et al., 2012).

Os marcadores RAPD apresentam como característica básica a dominância, ou seja, este tipo de marcador não permite distinguir indivíduos homocigóticos dominantes de heterocigóticos em uma população. As grandes vantagens da técnica RAPD são a simplicidade, pois é fácil de ser executada; a rapidez na obtenção de dados, o custo relativamente reduzido, em relação a outras técnicas moleculares; a aplicabilidade imediata a qualquer tipo de organismo por usar primers universais (Borém & Caixeta, 2016).

Microssatélites ou SSR

Os genomas eucariotes são densamente povoados por sequências simples repetidas, as quais consistem em um a seis nucleotídeos repetidos em tandem. Essas regiões são denominadas microssatélites, SSR (Simple Sequence Repeats) ou STR (Short Tandem Repeat). As sequências de DNA que flanqueiam os microssatélites são



geralmente conservadas entre os indivíduos de uma mesma espécie, permitindo seleção de primers específico que amplificam, via PCR, fragmentos contendo o DNA repetitivo em todos os genótipos. Cada microsatélite constitui um locus genético altamente variável, multi-alélico, de grande conteúdo informativo.

SNPs

Os mais recentes marcadores moleculares desenvolvidos, os SNPs (Single nucleotide polymorphism), baseiam na detecção de polimorfismos resultantes da alteração de uma única base no genoma. Eles passaram a ter maior importância com o sequenciamento dos genomas. Os marcadores SNPs possuem natureza bi-alélica e são abundantes no genoma, podendo ocorrer tanto em regiões expressas como regiões não expressas. Esse tipo de marcador genético é estável do ponto de vista evolucionário.

Seleção Assistida Por Marcadores Moleculares

Actualmente, a utilização de marcadores moleculares em programas de introgressão de genes por meio de retrocruzamento é o exemplo mais concreto de melhoramento genético assistido por marcadores.

O emprego da utilização da tecnologia de marcadores moleculares nos programas de melhoramento genético de plantas, em suma no processo seletivo através da procura de alelos desejáveis indiretamente por meio do uso de marcadores ligados, é conhecida como seleção assistida por marcadores moleculares (Toppa & Jadoski, 2013). Um dos exemplos mais concretos é a utilização de marcadores moleculares em programas de introgressão de genes por meio de retrocruzamentos.

As vantagens que são observadas da seleção assistida por marcadores moleculares em relação apenas a seleção fenotípica reside no facto de que para a realização de piramidação de genes, ou seja, a busca de concentração em um único genótipo diferentes características de interesse, pode-se reduzir o tempo necessário para que tal aconteça quando se usa seleção assistida por marcadores moleculares (Toppa & Jadoski, 2013).

Para os programas de melhoramento genético de plantas, uma outra estratégia de selecção que pode ser utilizada, principalmente para aqueles caracteres mais complexos, é a selecção combinada, que considera informações do genótipo e do fenótipo para o mapeamento de locos controladores de caracteres quantitativos – QTL's (Quantitative trait loci). No entanto, existem alguns factores que dificultam a aplicação da selecção assistida por marcadores moleculares neste processo, afectando a precisão no mapeamento do QTL, como o facto de existirem lacunas nos mapas genéticos, além de os modelos disponíveis para o mapeamento de QTL's considerarem a presença de apenas um QTL por locus, e ainda a existência de efeitos epistáticos entre os loci, e a ocorrência de interação QTL's e ambiente (Toppa & Jadoski, 2013).

Mapeamento Genético

O mapeamento genético de uma espécie consiste na geração de um conjunto ordenado de informações sobre as sequências do DNA que cobrem a totalidade ou parte do seu genoma. O processo de mapeamento baseia-se na hipótese de que a cotransmissão de dois marcadores reflete a proximidade entre eles, uma vez que a probabilidade de ocorrer permutas genéticas entre dois marcadores é menor quanto mais próximo eles estiverem localizados. Contudo, o mapa genético consiste na representação da ordem e da distância entre genes em grupos de ligação genética (Cruz, Salgado, & Bhering, 2013).

O primeiro mapa genético do milho foi constituído por 116 loci RFLP, cuja a sigla é derivada de Restriction Fragment Length Polymorphism. A partir de então mapas genéticos cada vez mais saturados com diferentes tipos de marcadores foram construídos objectivando principalmente o mapeamento de QTLs. Um marco importante no mapeamento genético do milho foi a definição do bin como um segmento de aproximadamente 20 centiMorgans entre dois marcadores RFLPs definidos como core (Lima & Borém, 2018).

Seleção Genómica Ampla

A Seleção Genómica ou Seleção Genómica Ampla (Genome Wide Selection) consiste na predição simultânea (sem o uso de teste de significância para marcas individuais) dos efeitos genéticos de grande número de marcadores genéticos dispersos em todo o genoma de um organismo, de forma a capturar os efeitos de todos os locos, de pequenos e grandes efeitos e explicar grande parte da variação genética de um carácter quantitativo (Lima & Borém, 2018).

No melhoramento do milho, diversos métodos de obtenção de progénies, avaliação e selecção podem ser empregues. Estes mudam em função do objectivo do programa, como por exemplo desenvolvimento de sintéticos, introdução de novas características, ou ainda a obtenção de combinações híbridas. Alguns desses métodos convencionais de melhoramento, como o da selecção recorrente, são muito trabalhosos e apresentam



baixos ganhos com a selecção por unidade de tempo, tornando-se muitas vezes, inviáveis económica e tecnicamente (Lima & Borém, 2018).

Estes factos podem ser amenizados com a utilização da selecção genómica ampla, a qual permite identificar precocemente genótipos superiores sem utilizar métodos destrutivos, aumentando os ganhos com a selecção e diminuindo o intervalo entre gerações. Por meio deste método, a predição e a selecção podem ser realizadas em fazes muito juvenil das plantas, acelerando assim o processo de melhoramento genético. Adicionalmente, a própria predição tende a ser mais acurada por considerar o real parentesco genético dos indivíduos em avaliação, em detrimento do parentesco médio esperado matematicamente (Borém, Miranda, & Fritzsche-Neto, 2017).

3.8. PRINCÍPIOS E TÉCNICAS DE EXPERIMENTAÇÃO

Para a maioria dos caracteres de maior valor económico, onde o carácter é controlado por vários genes, a probabilidade de se associar a um indivíduo todos os alelos favoráveis é muito pequena e isso faz com que a chave do sucesso seja avaliar maior número de indivíduos (Ramalho, Ferreira, & Oliveira, 2005). Com maior número de indivíduos a serem avaliados surge outro problema, a eficiência dos delineamentos que não usam o controlo local pode ser prejudicada. Assim, para contornar este problema, vários autores (Dean, Voss, & Draguljic, 2017; Ramalho, Ferreira, & Oliveira, 2005; Pimentel-Gomes & Garcia, 2002) sugerem o uso de delineamento de blocos incompletos.

Dean, Voss, & Draguljic (2017) e Ramalho, Ferreira, & Oliveira, (2005), comentaram que os princípios básicos da experimentação envolvem três técnicas fundamentais: replicação, controlo local (blocagem) e randomização. Os dois primeiros ajudam a aumentar a precisão no experimento e o último é usado para diminuir o viés.

Repetição

Um experimento envolve a aplicação de tratamentos para avaliar os seus efeitos. Os tratamentos que podem ser variedades, insumos, condições, entre outros, e as unidades experimentais induzirão variações às respostas. Essas variações nas unidades experimentais podem ser intencionais, pois as condições experimentais em que uma experiência é realizada deve ser representativa daqueles para os quais as conclusões do experimento devem ser aplicadas. Para que as inferências tenham amplo escopo, as condições experimentais devem variar adequadamente (Dean, Voss, & Draguljic, 2017).

A pesquisa visa testar uma hipótese e que o teste está dependente do erro experimental, o qual só pode ser obtido se os tratamentos forem repetidos. Importa aqui realçar, que o erro experimental não significa engano, mas qualquer desvio aos vários factores aleatórios do ambiente (Ramalho, Ferreira, & Oliveira, 2005).

Controlo local

O controlo local (blocagem) é uma técnica geralmente usada para controlar e ajustar algumas das variações em unidades experimentais. Portanto, é juntar os tratamentos em grupos chamados blocos de modo que os integrantes de cada bloco sejam alocados em unidades experimentais relativamente semelhantes. Nisso, os tratamentos do mesmo bloco podem ser comparados sob condições relativamente semelhantes. Se a blocagem for bem-sucedida, comparações de dois ou mais tratamentos são mais precisas do que em outros delineamentos sem controlo local.

Randomização

Um dos princípios da análise de variância é que os erros sejam independentes. Para que isso ocorra, deve se fazer a randomização dos tratamentos porque caso contrário, as parcelas adjacentes podem ser correlacionadas e os erros automaticamente correlacionados. Portanto, o objectivo da randomização é impedir que vieses sistemáticos e pessoais sejam introduzidos no experimento pelo experimentador. Uma atribuição aleatória de material experimental para as unidades experimentais, garante que as observações favoráveis ou adversas afectadas por fontes desconhecidas de variação não sejam sistematicamente seleccionadas.

IV: REALIDADES PRÁTICAS

Seleção é arte. Os produtores de milho desde os tempos tem usado esta arte de selecção para criarem inúmeras entidades biológicas. Os melhoradores de plantas têm adicionado ciência nesta arte para acelerarem as mudanças biológicas. É preciso uniformidade ambiental para se poder detectar diferenças devidas à diferenças genéticas e um bom melhorador de plantas, deve ser primeiro, um bom agrónomo e um observador atento.

Com a arte, a selecção é efectiva usando o método pedigree quando as características apresentarem herdabilidade alta. A habilidade com a qual a selecção é praticada nas gerações segregantes determina se o



potencial do híbrido será realizado. Um julgamento preciso exige que o melhorador conheça bem a cultura. E, como ciência, uma boa colecta de dados em campo tem contribuído na redução do erro experimental e torna fidedignas as comparações feitas.

Actualmente, existe vários softwares para fazer todas as análises possíveis cabendo a cada melhorador escolher o que melhor resultado lhe dá. Um outro aspecto seria a disponibilidade de maquinaria, equipamento e infra-estruturas que lhe permitiria uma melhor planificação, preparação dos ensaios, maneiio e colecta de dados.

Os princípios básicos de experimentação (repetição, casualização e controlo local) são aplicados. Para se testar uma hipótese é preciso que exista erro experimental (qualquer desvio aos vários factores de ambiente), daí a necessidade de um certo tratamento aparecer repetido. E, quanto maior o numero de repetições menor é o erro experimental. Mas, os delineamentos comumente usados nos programas de melhoramento vão até três repetições devido às várias razões, tais como: disponibilidade de semente e maior número de tratamentos avaliados. Para que os erros sejam independentes é necessário que se faça uma aleatorização dos tratamentos. A aleatorização evita a correlação de parcelas adjacentes e que com isso os erros tenderiam a ser correlacionados. Por isso, a maioria dos delineamentos usados em melhoramento de plantas em campo usam o controlo local (blocagem) na distribuição dos tratamentos para atenuar os problemas de heterogeneidade de solos ou mesmo a distribuição de água quando o experimento é irrigado.

Em melhoramento de plantas, a avaliação das variedades ocorre em mais de um ambiente e a manifestação do fenótipo, neste caso, é resultado da acção do genótipo, do ambiente e da interacção dos genótipos por ambientes ($G \times E$). Esta última componente, $G \times E$, tem complicado o trabalho dos melhoradores de plantas, pois o valor genótipo não tem sido coincidente nos diferentes ambientes, o que exige altos investimentos em condução de ensaios multi-locais e multi-ambientais.

Ciente das complicações que a componente $G \times E$ tem trazido no melhoramento de plantas, os especialistas desta área têm procurado atenuar os efeitos negativos desta componente, (i) identificando variedades específicas em cada ambiente, (ii) estratificando os ambientes. Neste caso um grupo de locais com componente de variância associada ao efeito da interacção genótipos-por-ambiente estatisticamente idêntico se considera apenas uma avaliação e, (iii) seleccionando variedades com maior estabilidade fenotípica. Esta ultima, tem sido a mais usada e com uma série de metodologias disponíveis para a identificação de tais variedades.

4.1. PERFIL DOS PRODUTOS GERADOS PELO IIAM

Os produtos de melhoramento gerados pelo Programa de Milho do IIAM (Tabela 8), estão directamente ligados aos objectivos estabelecidos e que são modificados ou actualizados de tempo em tempo, em função da dinâmica dos constrangimentos de produção e necessidades nutricionais emergentes. Assim, os objectivos do IIAM no melhoramento do milho estão orientados especificamente para criar, avaliar e seleccionar germoplasma e/ou variedades com as seguintes características:

- Resistência ou tolerância às principais doenças de milho no campo;
- Resistência às pragas de insectos;
- Resistência à aflatoxina;
- Tolerância aos estresses abióticos (hídrico, calórico e baixa fertilidade de solos)
- Melhor qualidade/valor nutricional (milho bio-fortificado).



Tabela 8. Variedades de milho libertas pelo IIAM pós-independência

Variedade	Tipo	Ano de libertação	Adaptabilidade	Potencial (t.ha-1)	Ciclo (dias)	Características importantes	Situação actual
Obregon-flint	OPV	1988	R10 e R9		130-150	Quase variedade local. Resultou do cruzamento ao acaso entre Obregon 7643 (dentada) com alguma variedade local muito flint. Foi seleccionada para o grão duro e alto rendimento. Tem adaptabilidade restrita para regiões de altitude elevada.	Em circulação
Matuba	OPV	1986	R3 e R4 (Zonas baixas).	1 – 6	100-120	Resistente ao míldio pulverulento e tolerante ao vírus do listrado da folha. Grão duro. Maturação precoce-intermédia. Recomendada para cultivo sob condições de baixos insumos.	Em circulação
Sussuma	O P V QPM	2001	R1 e R2, R4, R6, R7 (Zonas médias a altas)	3 – 8	130- 150	Qualidade protéica melhorada (QPM). Alto potencial de rendimento. Tolerante ao vírus do listrado.	Fora circulação
Changalane	OPV	2003	R3 e R4	2 – 5	100 - 110	Resistente ao míldio pulverulento e tolerante ao vírus do listrado. Precoce. Grão duro. Tolerância marginal à seca.	Fora circulação
Djandza	OPV	2003	R2 , R3 e R4 (Zonas de baixa a média altitudes)	2 – 6	100 - 110	Precoce, tolerante à seca e ao vírus do listrado. Boa sob condições de baixa fertilidade de solos.	Fora circulação
Chinaca	OPV	2003	R1 e R2, R4, R6, R7 (Zonas médias a altas)	2,5 – 7	110 - 120	Tolerante à seca. Maturação precoce-intermédia. Tolerante ao vírus do listrado e resistente à mancha cinzenta da folha. Boa sob condições de baixa fertilidade dos solos.	Em circulação



Variedade	Tipo	Ano de libertação	Adaptabilidade	Potencial (t.ha-1)	Ciclo (dias)	Características importantes	Situação actual
Tsangano	OPV	2003	R1 e R2, R4, R6, R7 (Zonas médias a altas)	3 - 8	120 - 130	Tolerante à seca. Maturação intermédio-tardia. Tolerante ao vírus do listrado e resistente à mancha cinzenta da folha. Boa sob condições de baixa fertilidade dos solos.	Em circulação
Hluvukane	Híbrido	2008	R2, R3 e R4 (Zonas de baixa a média altitudes)	3 - 7	135 - 145	Potencial em rendimento intermédio. Maturação precoce-intermédia. Grão semi-duro. Resistente ao míldio pulverulento e tolerante ao vírus do listrado. Resistência moderada à queima da folha (turcicum).	Em circulação
Olipa	Híbrido	2008	Alta adaptabilidade ao longo ecológicas	3 - 10	135 - 145	Qualidade protéica melhorada (QPM). Potencial de rendimento muito alto. Maturação intermédio-tardia. Tolerante ao vírus do listrado.	Fora da circulação.
Dimba	OPV	2011	R3 e R4 (Zonas baixas).	2 - 5	90-100	Extra-precoce. Grão muito duro e vítreo. Resistente ao míldio pulverulento e tolerante ao vírus do listrado.	Em circulação
Gema	OPV	2011	R3 e R4 (Zonas baixas).	2 - 6	100 - 110	Endosperma de cor laranja. Provitamina A1. Grão muito duro e vítreo. Precoce. Resistente ao míldio pulverulento e tolerante ao vírus do listrado.	Em circulação
Molocue	Híbrido	2011	R2, R3 e R4 (Zonas de baixa a média altitudes)	4 - 9	120 - 130	Tolerante à seca. Alto potencial de rendimento. Maturação intermédia. Resistente ao vírus do listrado e manchas foliares.	Em circulação
ZM 523	OPV	2011	R2, R3 e R4 (Zonas de baixa a média altitudes)	3 - 7	110 - 120	Tolerante à seca. Boa sob condições de baixa fertilidade do solo. Potencial de rendimento intermédio. Maturação intermédia. Resistente ao vírus do listrado e manchas foliares.	Em circulação
SP-1	Híbrido	2013	R1 e R2, R4, R6, R7 (Zonas médias a altas)	4 - 10	125 - 140	Tolerante à seca. Alto potencial de rendimento. Maturação intermédia-tardia. Resistente ao vírus do listrado e manchas foliares.	Em circulação



Variedade	Tipo	Ano de libertação	Adaptabilidade	Potencial (t.ha-1)	Ciclo (dias)	Características importantes	Situação actual
Gogoma	OPV	2013	R4, R5, R6 e R7 (Zonas de baixa a média altitudes do Centro e Norte do País)	2 - 5	110 - 120	Precoce e tolerante à seca. Potencial de rendimento baixo a intermédio. Resistente ao vírus do listrado e manchas foliares.	Em circulação
IIAM 1001	Híbrido	2016	R1 e R2, R4, R6, R7 (Zonas médias a altas)	3 - 11	130 - 150	Tolerante à seca. Potencial de rendimento muito alto. Maturação tardia. Resistente ao vírus do listrado e manchas foliares.	Em circulação
IIAM 1002	Híbrido	2016	R1 e R2, R4, R6, R7 (Zonas médias a altas)	4 - 10	125 - 140	Tolerante à seca. Alto potencial de rendimento. Maturação intermédio-tardia. Resistente ao vírus do listrado e manchas foliares.	Em circulação
IIAM 1003	Híbrido	2016	R1 e R2, R4, R6, R7 (Zonas médias a altas)	4 - 10	125 - 140	Tolerante à seca. Potencial de rendimento intermédio a alto. Maturação intermédia. Resistente ao vírus do listrado e manchas foliares.	Em circulação
WE 2101	Híbrido	2016	R1 e R2, R4, R6, R7 (Zonas médias a altas)	4 - 10	125 - 140	Alto potencial de rendimento. Maturação tardia. Resistente à mancha cinzenta e queima da folha e ferrugem.	Em circulação
WE 3128	Híbrido	2016	R1 e R2, R4, R6, R7 (Zonas médias a altas)	4 - 10	125 - 140	Bom potencial de rendimento. Comporta-se bem sob condições de múltiplo estresse. Maturação intermédia.	Em circulação



4.1.1. Melhoramento genético para resistência às doenças foliares

Moçambique é um país que apresenta condições favoráveis para o cultivo de diversas culturas. Em contrapartida, tem também condições favoráveis para o desenvolvimento de doenças que contribuem para a redução de rendimento das culturas no campo dos agricultores. Uma das principais culturas produzidas no país é o milho, cultivado em todas as regiões agro-ecológicas, por uma maioria de agricultores das zonas rurais que produzem sem o controle efectivo de pragas e doenças.

As doenças mais notórias na cultura de milho em Moçambique são míldio (*Peronosclerospora sorghi*), listrado da folha (*Maize streak vírus*), cercosporiose (*Cercospora zea-maydis*), Helmintosporiose (*Exserohilum turcicum*) e ferrugem (*Puccinia sorghi*). A sua ocorrência, incidência e severidade varia de região para região e de ano para ano, onde nos últimos anos tem-se notado o aparecimento de doenças de zonas baixas, em zonas médias e altas e vice-versa.

Segundo Casela, Ferreira, & Silva e Pinto (2006), existem várias medidas para o manejo das doenças na cultura de milho, destacando-se:

- A sementeira na época adequada (ultimamente difícil por causa da imprevisibilidade sazonal do início das chuvas);
- Uso de sementes de boa qualidade e tratadas com fungicidas;
- Maneio adequado do campo, de preferência com rotação de culturas;
- Amanhos culturais a tempo, dentre todas as adubações, a densidade populacional, controle de pragas e doenças.

O controlo das doenças foliares nas variedades existentes no mercado é feito com base no manejo integrado da cultura e na resistência genética, pois esta última mostra-se mais eficiente nas condições da presença da doença, não apresenta problemas ao ambiente, e o mais importante, é que não exige nenhum custo adicional ao produtor para o seu controle após compra de semente certificada.

Um aspecto a tomar em consideração é o facto de ser difícil ter uma variedade resistente à várias doenças, pois algumas delas não apresentam correlações entre elas (Arnhold, 2008).

Míldio (*Peronosclerospora sorghi*)

É uma doença de extrema importância económica no país, principalmente nas zonas de alta humidade e com períodos de temperaturas amenas (Casela, Ferreira, & Silva e Pinto, 2006). Em Moçambique, nas províncias de Maputo, Gaza e parte de Inhambane, durante muito tempo era encontrada a doença em abundância durante a época fresca. Na região centro e norte não era frequente encontrar a doença até a alguns anos atrás, mas ultimamente já se nota a sua distribuição em locais que não apresentavam a doença.

Os sintomas característicos são o amarelecimento progressivo desde a base da folha (lígula) para o topo e o aparecimento de esporos em forma de pó branco na superfície do limbo, principalmente na página inferior (Figura 2). Plantas infestadas precocemente morrem antes de florir. Plantas infestadas tardiamente podem emitir as inflorescências, mas estas ficam muito deformadas e geralmente, suas bandeiras não chegam a produzir, nem pólen, nem suas maçarocas chegam a emitir estigmas (barba). Ou seja, plantas infestadas com míldio dificilmente gerem um único grão.



Figura 2. Sintomas de ataque de míldio no milho



O uso de variedades resistentes é a melhor e mais barata alternativa de solução para o problema de infestação por míldio nas regiões quentes e húmidas de Moçambique, especificamente no Sul do País. O outro método eficaz e prático para quem tem recursos é o tratamento de sementes com fungicidas contendo Metalaxil na sua composição.

Listrado da folha (*Maize streak vírus*)

É uma doença muito generalizada, ocorrendo em todas as regiões agroecológicas do país principalmente em cultivos semeados ao meio da época chuvosa e na época seca quando se tem condições de rega.

Os sintomas característicos são riscas formadas por numerosos pontos cloróticos ao longo das nervuras (Figura 3 A e C). O vírus ocorre sistemicamente na planta de milho e é transmitido pelo vector *Cicadulina mbila* (Figura 3 B) que, ao se alimentar em plantas doentes, adquire o vírus que é transmitido para plantas saudas (Cisneros Delgadillo, 2013).

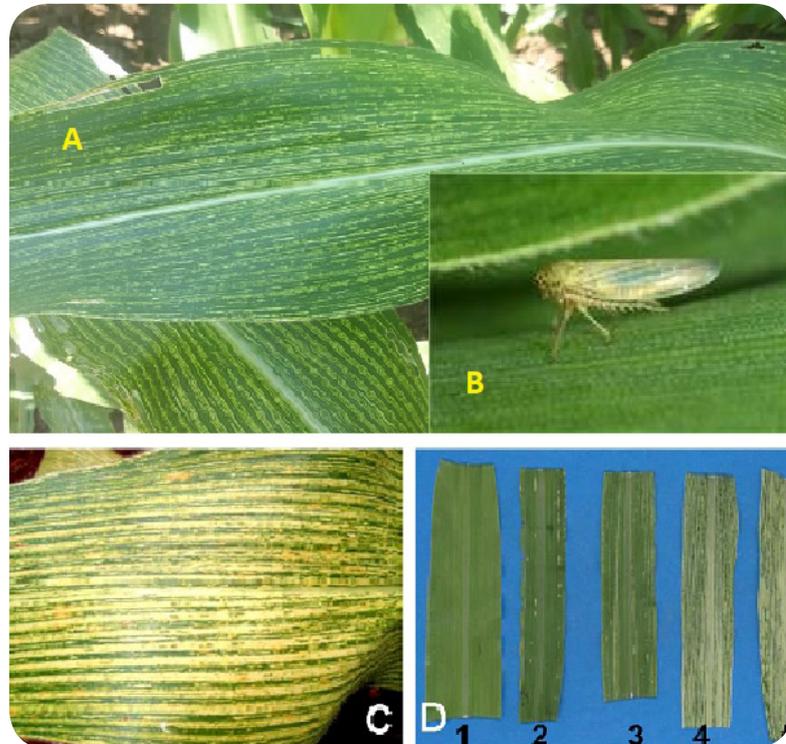


Figura 3. A e C Sintomas de ataque de listrado. B. Jassideo, vector transmissor de listrado. D pontuação da gradação

A incidência e a severidade dessa doença é influenciada pelo grau de susceptibilidade da variedade, sementeiras tardias e população elevada do vector coincidente com fases iniciais de desenvolvimento da cultura de milho. O milho é o principal hospedeiro tanto do vírus como do vector.

O método mais eficiente e económico para controlar o vírus do listrado da folha é a utilização de variedades resistentes (Tabela 8). Aspráticas culturais recomendadas que reduzem a incidência dessa doença são: eliminação de plantas voluntárias de milho, fazer o pousio por um período de dois a três meses sem a presença de plantas de milho, alterar a época de sementeira, evitando as sementeiras tardias e sucessivas de milho.

Helmintosporiose (*Exserohilum turcicum*)

Em Moçambique, esta doença é frequentemente encontrada nas regiões centro e norte, em locais com alta humidade e temperaturas médias à baixa. Esta condição favorável tem sido encontrada no período chuvoso, principalmente para os agricultores que semeiam entre Janeiro e Fevereiro.



Os sintomas característicos são lesões alongadas, elípticas, de coloração cinza ou amarelas (Figura 4). A doença ocorre inicialmente nas folhas inferiores.

Figura 4. Infestação por Helmintosporiose



Figura 4. Infestação por Helmintosporiose

O patógeno sobrevive em folhas e colmos infectados. A disseminação ocorre pelo transporte de conídios pelo vento a longas distâncias. As temperaturas moderadas são favoráveis à doença bem como a presença de orvalho. O patógeno tem como hospedeiros, para além do milho, a mapira, o capim sudão, entre outras.

O controlo da doença é feito através da sementeira de variedades com resistência genética. A rotação de culturas é também uma prática recomendada para o manejo desta doença.

Mancha cinzenta (*Grey leaf Spot – GLS*)

As plantas atacadas apresentam manchas de coloração cinza, predominantemente rectangulares, com as lesões, desenvolvendo-se paralelas às nervuras. Com o desenvolvimento dos sintomas da doença, pode ocorrer necrose de todo o tecido foliar (Figura 5).



Figura 5. Sintomas de ataque da mancha cinzenta (GLS - Gray Leaf Spot)

A principal medida de manejo da cercosporiose é a utilização de variedades resistentes. Recomenda-se também:

- (i) a evitar a permanência de restos da cultura de milho em áreas em que a doença ocorreu com alta severidade para reduzir o inóculo do patógeno na área;
- (ii) a realizar a rotação com culturas não hospedeiras como a soja, a mapira, o girassol, o algodão e outras, uma vez que o milho é o único hospedeiro de *C. zeae-maydis*;
- (iii) para evitar o aumento do potencial de inóculo de *C. zeae-maydis*, deve-se evitar sementeiras em épocas consecutivas o milho na mesma área; semear variedades diferentes em uma mesma área e em cada época de sementeira;
- (iv) a realizar adubações de acordo com as recomendações técnicas, com vista a evitar desequilíbrios nutricionais nas plantas, favoráveis ao desenvolvimento desse patógeno, principalmente a relação nitrogénio/potássio. Em áreas de sementeiras de variedades suscetíveis e sob condições ambientais favoráveis para a ocorrência da doença, o controlo químico deve ser avaliado como uma opção para o manejo da doença.

Ferrugem (*Puccinia sorghi*)

A ferrugem é comum na cultura de milho, seu aparecimento é frequente em todo país, principalmente em locais com altitude inferior a 700 metros do nível do mar. Adicionalmente, a alta humidade relativa e temperaturas entre 26-30 °C favorecem o aparecimento da doença.

Para esta doença verifica-se a formação de pústulas em todas as partes da planta principalmente nas folhas. É notável a sua presença em ambas superfícies da folha. Durante a sua formação, esta doença apresenta um formato circular alongado e com coloração castanho claro a escuro (Figura 6), a medida que as pústulas amadurecem, podendo romper e libertar os uredósporos (esporos deste patógeno).



Figura 6. Sintomas de ataque da ferrugem no milho



A forma de controlo desta doença, tem sido o uso de variedades melhoradas com resistência genética. Alternativamente, pode-se escolher a época e local de sementeira com condições menos favoráveis para a doença e/ou eliminação de todos os hospedeiros alternativos. Em caso de incidência severa e em variedades muito susceptíveis, pode-se aplicar fungicida como forma de controlo.

Avanços na investigação de doenças foliares

Nos últimos anos a investigação em particular, a área de melhoramento da cultura de milho no mundo, tem trabalhado no sentido de potenciar a cultura associado ao controlo de pragas e doenças. Um dos destaques verifica-se no aumento do rendimento ao nível do agricultor de 700 kg/ha em 2007 para 1.200kg/ha em 2012 (Guanziroli & Guanziroli, 2015).

Com o avanço da tecnologia, muitas das dificuldades ficaram fáceis de resolver e ajudar ao agricultor a monitorar seu campo. Destas tecnologias é de destacar: o manejo da irrigação, uso de sistema de sensores, drones e imagens de satélites para dados georeferenciados. Contudo, muitas destas tecnologias ainda não estão disponíveis para o pequeno agricultor, devido ao preço de aquisição bem como a falta de conhecimento de manejo e manutenção. Por estas dificuldades, ainda se aconselha ao agricultor a adquirir variedades com resistência as doenças foliares associadas ao manejo do campo. A investigação da cultura está procurando investir nas novas tecnologias por forma a responder as dificuldades que aumentam a medida que o tempo passa.

Desafios no controlo de doenças foliares

Devidas as condições edafo-climáticas de Moçambique, as doenças foliares têm condições favoráveis para o seu desenvolvimento, principalmente nos últimos anos. O impacto e importância da doença varia de região para região e em função do nível de resistência apresentada pela variedade (Costa, Silva, Cota, & Aguiar, 2017). Um dos grandes desafios para alavancar a produção de milho ao nível do agricultor é a questão de preço de venda de grão e o problema da dependência da época chuvosa para a produção. Estes factores se associam ao período de maior ataque de doenças foliares que torna difícil o seu controlo usando produtos químicos.

As doenças como micotoxinas em maior destaque para aflotoxinas que precisa de um serviço de fiscalização rigoroso principalmente quando for para consumo e exportação. O aparecimento de novas doenças foliares é confundido com as existentes devido a deficiência de actualização de identificadores de pragas e doenças no país.

O controlo fitossanitário das doenças é fundamental para obtenção de produção de qualidade, mas existe ainda desafios de monitoria dos níveis de infecção das doenças. Por outro lado, deve-se monitorar o sistema de rotação das culturas de modo a não colocar culturas que apresentam doenças comuns ao milho.

Recomendação para controlo de doenças foliares

Recomenda-se para o controlo das doenças foliares:

- Utilização de variedades resistentes;
- Sementeira em períodos adequados (que não apresente condições favoráveis a doença);
- Utilização de semente de qualidade e tratada com insecticida e fungicida;
- Rotação de culturas associado ao uso de variedades não susceptíveis as doenças;
- Adubações equilibradas (principalmente nitrogenadas e de potássio);
- Respeitar a densidade de plantas e controlo de pragas;

4.1.2 Podridões de maçaroca por *Fusarium* e *Diplodia*

A doença é também conhecida como Podridão-da-espiga e Podridão-dos-grãos. Esta doença causa podridão de colmo e pode ocasionar prejuízos quando a incidência do patógeno ocorrer próximo ao período do florescimento. Porém, em Moçambique a podridão das maçarocas (Figura 7 e Figura 8) é a mais frequente.



Figura 7. Espigas atacadas com fungos do Fusarium



Figura 8. Espiga atacada com fungo Diplodia

Estes fungos de solo são capazes de sobreviver nos restos de cultura na forma de micélio e frequentemente, podem ser encontrados associados às sementes. A disseminação dos conídios se dá através do vento ou da chuva.

Como a maioria das doenças, o uso de variedades resistentes é o método mais eficiente de controlo. A adubação equilibrada, principalmente com potássio, densidade de semeneteira adequada e colheita na hora apropriada minimizam os danos provocados pela doença. No caso da podridão devida à Diplodia, para além de todas estas práticas culturais, adiciona-se também a rotação do milho com outras culturas, pois o milho é o seu único hospedeiro.

4.1.3. MELHORAMENTO GENÉTICO PARA RESISTÊNCIA A PRAGAS

O ataque por insectos, principalmente as brocas-do-colmo do milho, a lagarta-do-funil do milho no campo, e os gorgulhos no armazém, reduzem a produtividade e também afectam a qualidade do grão, consequentemente ao valor comercial, a germinação e a qualidade de semente. Existem também os riscos associados ao consumo de milho atacado por pragas de armazém, pois os grãos contaminados são vulneráveis ao ataque por aflotoxina (Kankolongo, Hell, & Nawa, 2009; Pingali & Pandey, 2001). O milho é mais susceptível a pragas do armazém quando armazenado com humidade acima de 15% (Dari, Pixley, & Setimela, 2010; CIMMYT, 2001).

Em Moçambique, tal como em muitos países da região, não tinham os programas de melhoramento de milho, para pragas como prioridade, assumindo que este constrangimento não era muito importante e que facilmente podia ser resolvido com uso de pesticidas.

Insecticidas sintéticos para o controlo de pragas em forma de pó ou líquidos, são desenvolvidos e promovidos no Mundo inteiro. Contudo, em muitos países pobres principalmente em África, são pouco adoptados, em virtude principalmente dos custos envolvidos (Fato, Chauque, Ecolé, & Cugala, 2008; Cugala, Sidumo, Santos, & Givá, 2007; Golob, 2002).



Nos países onde são usados, existem relatórios dos seus efeitos negativos para o ambiente, bem como o desenvolvimento de resistência por parte dos insectos (Isman, 2007; Talukder, 2006).

Para fazer face às pragas, vários métodos culturais, tal é o caso de uso do suco, fumo ou cinzas de folhas com algumas propriedades de insecticidas que são usadas pelos produtores, mas a sua eficácia é muito baixa ou não efectiva para o controlo económico das pragas (Mariqule, 2006). Por isso, métodos baratos, eficientes e bons para o ambiente são precisos. Tal como nas doenças, a estratégia de desenvolvimento de resistência genética é vista como uma das opções mais fortes para o controlo de pragas e que facilmente podem beneficiar aos produtores de pequena escala (Arora & Sandhu, 2017).

Principais pragas de Campo

Em Moçambique, as pragas de campo mais importantes na cultura de milho sempre foram as brocas-de-colmo e mais recentemente a lagarta-do-funil (*Spodoptera frugiperda*). As brocas-do-colmo que são lepidópteras que atacam poáceas, com mais preferência para o milho, causando vários danos significativos na cultura, as lagartas das brocas têm uma parte ou todo o seu desenvolvimento no interior do colmo ou da espiga. Existem diferentes tipos de brocas no mundo, contudo em Moçambique as brocas mais importantes são: broca-ponteada-do-colmo (*Chilo partellus*), broca africana de colmo (*Busseola fusca*) e broca rosada de colmo (*Sesamia calamistis*) (Nuñgulu, 2014).

A broca-ponteada-do-colmo é de origem asiática e terá chegado à África antes de 1930. As lagartas dessa broca são de cor branca-creme a castanha-amareladas e apresentam ao longo do dorso quatro listras longitudinais castanha-arroxeadas com manchas castanha-escuras muito evidentes (Figura 9), as quais dão às larvas o nome de broca-ponteada-do-colmo (Khan, Khan, Ul Ain, Raqib, & Xing, 2020). É a espécie mais abundante na maioria das localidades do país.



Figura 9. Broca ponteada do colmo (*Chilo partellus*)



A broca africana do colmo (Figura 10) é uma praga de milho indígena da África que ocorre em toda região da África Subsaariana, no sul e leste da África. A sua distribuição é limitada a altitudes mais altas (Ng'ang'a, 2014). Moçambique é somente dominada das maiores altitudes do Centro e Norte (Malate, 2013).

Figura 10. Broca africana (*Busseola fusca*)



A broca rosada é uma espécie polífago de menor expressão no país, contudo pode ser encontrada em toda extensão do país. Esta broca pode infectar cerca de 55 espécies pertencentes a família Poaceae. Em Moçambique encontramos maior expressividade na época fresca comparativamente com as outras espécies de brocas. A maior parte do dano causado ocorre nos estágios preliminares da planta (Van Den Berg & Van Wyk, 2007; Ong'amo, Khadioli, Le Ru, Mujica, & Carhuapoma, 2016). A larva é lisa, brilhante e não tem pêlos nem marcas evidentes (Figura 11). A cor das larvas é geralmente branco-cremoso com uma distinta cor rosa (Ong'amo, Khadioli, Le Ru, Mujica, & Carhuapoma, 2016).



Figura 11. Broca-rosada (*Sesamia calamistis*)

A *Spodoptera frugiperda* é uma raça nativa das regiões tropicais e subtropicais das Américas. É considerada uma praga devido ao seu comportamento altamente polífago e foi registada pela primeira vez em Janeiro de 2016 no continente Africano (Goergen, Kumar, Sankung, Togola, & Tamò, 2016), 2016). Estudos subsequentes revelam que a praga é a principal causa de elevados danos principalmente para o milho (FAO, 2019). É uma praga polífaga sendo uma das espécies mais destrutivas que afecta mais de 80 espécies de plantas causando danos economicamente importantes (Araújo, De Oliveira, De Lacerda, De Luna Batista, & Lopes, 2019).

As características taxonómicas que facilitam a determinação visual dessa lagarta são: a presença de um Y invertido na parte frontal da cabeça, pontos amarelados e esbranquiçados nos lados, a presença de quatro manchas escuras no dorso do penúltimo segmento abdominal, formando os vértices de um quadrado e a presença de bandas pretas laterais (Figura 12). chamada de lagarta-do-funil por ter maior preferência aos funis das plantas jovens, que proporciona protecção para a praga dificultando assim o seu controlo (Prasanna, et al., 2018).



Figura 12. Lagarta-do-funil do milho (*Spodoptera frugiperda*)

Como o nome diz, esta lagarta provoca mais danos no funil (Figura 13) milho causando enormes prejuízos económicos na cultura.



Figura 13. Funil do milho danificado pelo ataque da lagarta-do-funil



Melhoramento do milho para resistência de insectos de campo

A pesquisa para o desenvolvimento de germoplasma resistente às pragas de insectos de campo, em Moçambique iniciou em 2014 com a criação de populações usando linhas puras provenientes do CIMMYT. Estas linhas foram desenvolvidas no âmbito do projecto IRMA, onde encontramos o milho resistente a insectos, com as linhas puras moçambicanas resistentes ao míldio pulverulento e adaptadas as condições locais. Para este processo, foram extraídas linhas a partir dessas populações.

Outra actividade característica foi a introdução e avaliação de híbridos resistentes a brocas-de-colmo, desenvolvidas no âmbito do próprio projecto IRMA. As avaliações foram feitas em todo o país e o teste para resistência à brocas-de-colmo foi feito em Inhacoongo em condições de infestação natural, sem aplicação de nenhum insecticida. Pelo menos cinco híbridos mostraram bom desempenho no conjunto dos locais e ambientes de avaliação. Os cinco híbridos foram eleitos para integrarem os ensaios avançados. Contudo, devido a eclosão da doença de Necrose Letal do Milho (MLN) no Quênia, o processo de importação das linhas parentais foi abortado, porque esta doença impediu a movimentação de semente dos países da África Oriental para outros países que ainda não haviam reportado a ocorrência de MLN.

Principais pragas de Armazém

Gorgulho (*Sitophilus zeamais*, Motschulsky) e gorgulho gigante (*Prostephanus truncatus*, Horn) são as pragas de armazém mais importantes para a cultura de milho nas regiões tropicais (Bett & Nguyo, 2007; Jayas & White, 2003)

O gorgulho (Figura 14) é a principal praga de milho nos países tropicais de longa data em África, causando perdas extensivas entre os pequenos produtores na ordem de 20 a 50% são registadas mundialmente em grão não tratado, causados por gorgulho (Giga & Mazarura, 1991; Delima, 1987). Em Moçambique, perdas acima de 20% causados por gorgulho nos celeiros dos pequenos produtores foram reportados (Cugala, Sidumo, Santos, & Givá, 2007).



Os adultos são pequenos gorgulhos medindo cerca de 2,4 a 6,0 mm de comprimento, de cor marrom escuro a preta com quatro manchas marrom-avermelhadas. Nas tampas das asas (éltra), encontram-se as antenas em cotovelo, cabeça projectada em um focinho longo e fino (tromba) que é usado para fazer furos em grãos. No final do focinho, eles possuem um par de mandíbulas, geralmente utilizadas para mastigar e esmagar o caroço (Tefera, 2010; Roberts e Douce, 1999).

Figura 14. Gorgulho

O gorgulho gigante (Figura 15) foi introduzido em África na década 70 a partir de México (Markham, Wright, & Rios Ibarra, 1991). O Gorgulho gigante pode causar perdas de colheita de 9 a 90% do grão/semente armazenada, dependendo do período de armazenamento (Gueye, 2008; Markham, Wright, & Rios Ibarra, 1991; Bett & Nguyo, 2007; Tefera, Mugo, Tende, & Likhayo, 2010)



Os adultos são pequenos com cerca de 2,0 - 3,5 mm de comprimento, 1,0 - 1,5 mm de largura, cor de marrom escuro com corpo cilíndrico, cabeça deflexionada, mandíbulas fortes e parte terminal quadrada. As suas características típicas são de insectos xilófagos (aqueles que se alimentam do cerne de plantas lenhosas) ((Tefera, Mugo, Tende, & Likhayo, 2010)). O pronoto maior protege a cabeça durante a tunelização e fornece um forte suporte para os músculos mandibulares (Li, 1988). O gorgulho gigante tem notável capacidade de criar um túnel através de materiais duros.

Figura 15. Gorgulho - gigante

Os gorgulhos podem atacar os grãos inteiros em espigas antes e depois da colheita. Os adultos frequentemente começam os seus ataques perfurando as espigas (Roberts & Douce, 1999). As larvas completam o seu desenvolvimento dentro do grão e consomem o endosperma, muitas vezes deixando o pericarpo oco. As larvas e os adultos infestam os grãos armazenados, frequentemente, causando destruição completa e conseqüentemente a redução do seu valor comercial (Figura 16).



Figura 16. Milho completamente estragado por causa do ataque de gorgulhos

Melhoramento do milho para resistência de insectos de armazém

A pesquisa para o desenvolvimento de variedades resistentes a pragas do armazém, começou em 2010, quando cerca de 15 genótipos na geração F1 e F2, entre variedades locais, variedades libertas e em processo de libertação foram submetidos ao “screening” no Quênia, para se apurar o seu estado de resistência e desenhar estratégias para o desenvolvimento de linhas puras e posteriormente de híbridos ou OPVs resistentes. Os genótipos foram submetidos ao screening usando infestação artificial em dois métodos: escolha (Figura 17) e não-escolha (Figura 18) para cada insecto. Diferentes índices (índice de susceptibilidade de Dobie, índice de selecção e índice relativo à selecção) foram usados para apurar a resistência (Dobie, 1977, 1974; Fleurat-Lessard & Ducum, 1991).



Figura 17. Teste de diferentes genótipos de milho para reacção perante ataques de gorgulhos como método escolha.



Figura 18. Teste de diferentes genótipos de milho para sua reacção perante gorgulhos com o método não-escolha

Esta pesquisa demonstrou que os genótipos moçambicanos apresentaram diferentes níveis de resistência para ambos insectos, mostrando o potencial para o melhoramento genético de resistência à pragas de armazém. As variedades locais e OPVs melhoradas resistentes, foram recomendadas ou descritas para o efeito enquanto os híbridos foram usados para o desenvolvimento de linhas puras.

Em 2013, foram solicitados do CIMMYT, no âmbito do projecto IRMA, linhas puras doadoras de resistentes aos 2 insectos para serem cruzadas com as linhas moçambicanas resistentes a outros constrangimentos em particular ao míldio pulverulento e adaptáveis as condições ambientais, para a criação de novas populações e posterior criação de linhas puras. No mesmo contexto do projecto IRMA foram disponibilizados fundos para começar com o desenvolvimento de um laboratório para a criação de insectos pós-colheita. Estas actividades continuaram em 2017, na senda do APPSA-Programa para aumento da Produtividade Agrícola na Africa Austral, tendo sido adquirido algum equipamento para o laboratório de criação de insectos. Contudo, o laboratório ainda não está completo para sua operacionalização.



Desafios e Perspectivas para melhoramento genético de pragas

- Terminar o laboratório de criação de insectos de armazém para permitir screening em condições de infestação artificial em Moçambique;
- Desenvolver condições para uma avaliação eficiente de pragas de campo em Inhacoongo e futuramente um laboratório para a criação de insectos de campo, incluindo lagarta-do-funil;
- Usar a tecnologia de duplo haplóide para o desenvolvimento de novas linhas puras para acelerar o processo de geração de novas variedades resistentes às pragas de campo e de armazém.

4.1.3. Melhoramento do Milho para Resistência a Aflatoxina em Moçambique

As aflatoxinas são toxinas inodoras, incolores e insípidas produzidas pela cepa de fungos *Aspergillus* e são altamente tóxicas para humanos e animais (CRS, 2018). Para o consumo humano, os limites variam de 4 ppb (partes por bilhão) a 20 ppb, e para animais pode conter com segurança até 100 ppb. No entanto, há muitos países que não possuem limites regulamentares para as aflatoxinas ou não têm capacidade para fazer cumprir tais regulamentações.

As aflatoxinas são mais predominantes na região tropical e subtropical. Embora o *Aspergillus* seja encontrado no solo antes da colheita, a contaminação também pode ocorrer durante ou após a colheita.

No entanto, as aflatoxinas são mais prevalentes no milho e no amendoim porque essas culturas são as mais susceptíveis e têm altas taxas de consumo (CRS, 2018). A contaminação de campos agrícolas pela aflatoxina é uma grande preocupação para a segurança alimentar global. O melhoramento para resistência ainda é considerado uma das melhores estratégias actualmente disponíveis para diminuir a aflatoxina no milho. Uma nota interessante é que a resistência ao acúmulo de múltiplas micotoxinas, como aflatoxina, já foi documentada, e essa resistência seria um passo significativo para potencialmente reproduzir híbridos com resistência à aflatoxina (Ubwa, Asemave, & Igbum, 2012).

Na maioria das vezes, o milho pode secar ao sol, antes da colheita em meio a condições climáticas imprevisíveis. Além disso, a forma de armazenamento é preocupante, uma vez que o milho é armazenado em sacos e amontoado nas lojas, tanto em casa como no mercado. Isso é capaz de criar um conteúdo de humidade congênita no milho que pode favorecer altamente o crescimento da aflatoxina. Considerando a implicação disso, será apropriado determinar os níveis de aflatoxina no milho produzido neste país. As aflatoxinas são micotoxinas de ocorrência natural que são produzidas por muitas espécies de *aspergillus*, um fungo, sendo a maioria *aspergillus flavus* e *aspergillus parasiticus*. As aflatoxinas são substâncias mais cancerígenas conhecidas. Depois de entrar no corpo, as aflatoxinas podem ser metabolizadas pelas conhecidas substâncias tóxicas de micotoxinas produzidas por fungos, aflatoxinas no milho e outros itens alimentares como leite, amendoim, farelo de algodão, etc, geram mais preocupação quando ocorrem em níveis altos (Ubwa, Asemave, & Igbum, 2012).

Importância do melhoramento para resistência a Aflatoxina

A exposição crônica à aflatoxina pode levar ao câncer de fígado, imunidade reduzida, agravamento de certas doenças, como hepatite B e HIV/SIDA, e tem sido associada ao nanismo infantil (Leszczyńska, Masłowska, Owczarek, & Kucharska, 2001). Além disso, a exposição aguda com níveis extremamente elevados de aflatoxinas pode levar à morte. Também pode afectar os meios de subsistência agrícola de várias maneiras. Em primeiro lugar, pode causar perda de colheita devido ao baixo rendimento. Em segundo lugar, o valor de mercado e os usos de uma colheita contaminada diminuem dramaticamente. Como também, os animais podem ter crescimento atrofiado e baixa produção de subprodutos, como leite e ovos, quando recebem ração contaminada e por último, há custos de saúde associados à exposição à aflatoxina, e famílias de pequenos agricultores têm maior probabilidade de consumir culturas contaminadas.

Identificação da Aflatoxina

É importante o uso de ferramentas diagnósticas para verificar se há contaminação por aflatoxina e em qual nível (Leszczyńska, Masłowska, Owczarek, & Kucharska, 2001). A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e a Cromatografia em Camada Delgada (HPLC/TLC) são consideradas o melhor suporte para a detenção de aflatoxina (também chamada de metodologia de referência). Na prática, outras tecnologias de detenção são medidas contra HPLC/TLC para determinar a sua precisão. Essa tecnologia de detenção é muito cara, requer um laboratório bem equipado e um técnico qualificado.

O método ELISA (Enzyme, Linked Immunosorbent Assays) também requer um técnico qualificado e um laboratório nacional. Esta tecnologia não é tão cara quanto o HPLC, mas os resultados são considerados comparáveis.



Os testes Diostick podem ser feitos em campo para o diagnóstico de aflatoxina. Não requer um laboratório, tornando a detenção mais acessível e económica de agricultores, comerciantes e processadores de alimentos em países em desenvolvimento. Os resultados são qualitativos - os kits de teste são calibrados para determinar se os níveis de aflatoxina estão acima ou abaixo de um nível específico, como 10, 20 ou 100ppb. O kit de teste da vareta também exigiria outros itens necessários para conduzir o teste, como um moinho para moer a amostra e solvente (metanol ou etanol) para realizar a extracção.

INOCULAÇÃO ARTIFICIAL

No laboratório

Existem vários métodos de inoculações artificiais que podem ser usadas, uma delas é uso de placas que são incubadas a 30°C por 5 a 7 dias. Assim que as placas esporularem, são cobertas com parafilm e armazenadas a 4°C. Uma amostra de um (01) cm² é cortada da placa de origem e colocada em um tubo de ensaio com 15 ml de água estéril mais 0,01 ml de Tween 20 e agitada em vórtex. Este método foi usado por Guo et al. 2017.

Avanços feitos no melhoramento da Aflatoxina

Foram introduzidas do Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA), três OPVs resistentes à aflatoxina para o uso como fonte para extracção de linhas. As populações foram autofecundadas em 2019 e resultaram em 60 famílias S1. Até a fixação final e confirmação da resistência à aflatoxina, as linhas deste viveiro deverão ser sempre avançadas em separado com as linhas do viveiro anterior, porque as populações iniciais foram geradas de maneira diferente. No grupo anterior as populações resultaram da combinação de linhas não-resistentes e linhas resistentes. Por isso, há probabilidade de existirem muitos indivíduos não resistentes naquele grupo.

Perspectivas do melhoramento da aflatoxina

Libertar variedades resistentes à aflatoxina e com altos rendimentos, disponibilização de mais informação detalhada da doença, identificação dos fungos que mas afectam o milho causando a toxinas.

A identificação de germoplasma resistente e a quantificação da resistência para fornecerem base para um programa de melhoramento projectado para desenvolver e liberar híbridos de milho com resistência a aflatoxina. O uso de marcadores moleculares para facilitar ainda mais a transferência de resistência à contaminação por aflatoxina. A selecção indirecta para reduzir a contaminação por aflatoxina também pode ser alcançada através da criação de características associadas, como resistência a danos por insectos.

4.1.4. Melhoramento do milho para tolerância combinada aos estresses hídrico e térmico em Moçambique

A produção e produtividade de milho em Moçambique e em muitos outros países dos climas tropicais e subtropical é severamente afectada pela ocorrência simultânea de calor e seca, para além do acentuado declínio da fertilidade dos solos. A seca, como constrangimento abiótico importante no cultivo de milho, vem merecendo especial atenção dos governos e cientistas já há bastante tempo. Ao contrário da seca e da baixa fertilidade dos solos, apenas na última década o estresse devido a altas temperaturas também começou a ser reconhecido como tendo um grande impacto negativo na produtividade do milho. Desde logo, o Programa de Milho do IIAM desencadeou algumas actividades tendentes a encontrar soluções que possam ajudar a minimizar os impactos destes fenómenos naturais na produtividade deste cereal muito importante na dieta das famílias moçambicanas.

Avanços já alcançados na pesquisa e melhoramento de milho para tolerância combinada à seca e calor

Em 2010, o IIAM iniciou contactos com o CIMMYT para aquisição de germoplasma tolerante ao calor para, juntamente com gemoplasma elite tolerante à seca, servir como material genético parental no desenvolvimento de germoplasma resiliente às mudanças climáticas em Moçambique.

O primeiro passo, foi o screening para se classificar todo o germoplasma de tipo linha pura em termos de grau de tolerância ao efeito combinado dos estresses hídrico e calórico. Um estudo feito em 2014 e 2015 identificou 15 linhas puras de milho com desempenho agronómico superior nas condições de estresse combinado (Tabela 9).

Como pouco se sabia em relação à herança genética para tolerância do milho ao efeito do estresse combinado de calor e seca, foi feito um estudo nesse sentido em 2015. Foi apurado que, como se esperava, a herança das características correlacionadas à tolerância era quantitativa com acção génica variando de aditiva para não-aditiva dependendo da característica. Para o rendimento do grão foi revelado que as duas acções génicas eram importantes, embora com tendência da aditiva mostrar-se predominante.



Tabela 9. Linhas de milho identificadas como tolerantes ao efeito combinado de seca e calor em 2014/15.

Entrada	Pedigree	Origem
92	CZL04007	CIMMYT-Zimbabwe
107	DTPYC9-F46-1-2-1-1-B	CIMMYT-Mexico
53	MATUBASG-14-1-4-3-3-1-9-5-B	IIAM-Moçambique
101	IITA1	IITA
102	IITA2	IITA
31	ZM521-13-3-2-3-1-1-B*2-B	IIAM-Moçambique
47	ZM621-24-3-1-1-1-1-1-B	IIAM-Moçambique
76	CHINACAFS-75-1-1-3-1-B	IIAM-Moçambique
33	ZM521-15F	IIAM-Moçambique
108	DTPYC9-F46-1-2-1-2-B	CIMMYT-Mexico
10	ZM421-12-1-1-2-2-1-6-1-B	IIAM-Moçambique
100	IRMA3 = CML444	CIMMYT-Zimbabwe
22	ZM421-22-2-2-1-2-1-4-B*2-B	IIAM-Moçambique
16	ZM421-12-3-3-1-4-1-1-B	IIAM-Moçambique
86	CML445	CIMMYT-Zimbabwe

Desafios enfrentados

- Para a utilização do material identificado e do conhecimento gerado, é necessário fazer combinações das linhas e criar-se variedades. Esta tarefa está enfrentando muitas dificuldades. Os desafios actuais resumem-se nos seguintes:
- Necessidade de campos experimentais que possibilitam gerar dados com o mínimo erro experimental possível;
- Necessidade de ter técnicos de campo das unidades experimentais muito bem treinados para auxiliar os investigadores da área;
- Disponibilidade atempada de recursos financeiros para aquisições de materiais de campo e serviços necessários para se conseguir avançar gerações de melhoramento em curto espaço de

Perspectivas

O IIAM tem disponível material genético suficiente para gerar germoplasma tolerante ao efeito combinado dos estresse hídrico e calórico. O Programa de Milho está a desenhar alguns projectos nacionais e também está integrado num projecto regional de melhoramento de milho. Há perspectivas de se desencadear várias actividades, de entre as quais:

- Uso do material identificado para criação de novas variedades e rapidamente encontrar-se alguns produtos recomendáveis para as regiões específicas;
- Recurso à tecnologia de duplo-haplóide para gerar novas linhas de alta qualidade genética e tolerantes ao efeito do estresse devido às mudanças climáticas em muito curto espaço de tempo;
- Melhorar a ligação com a Autoridade Nacional e empresas de sementes para rápida libertação das variedades superiores e garantir disponibilidade da sua semente no primeiro ano pós-libertação.



4.1.5. Melhoramento do milho para a bio fortificação em Moçambique: Avanços, desafios e perspectivas

A bio-fortificação é o enriquecimento dos teores de micronutrientes em culturas alimentares básicas usando práticas de melhoramento genético. As vantagens resumem-se em (i) capitaliza a dieta diária das famílias que têm num determinado alimento, a base da sua alimentação; (ii) com apenas um investimento, pode-se desenvolver variedades que vão produzir comida para fortalecer a população a custos correntes baixos e constituir-se num meio viável de alcançar populações bem nutridas nas regiões mais remotas (Stevens & Winter-Nelson, 2008; Nestel, Bouis, Meenakshi, & Wolfgang Pfeiffer, 2006).

Alguns autores defendem que a bio-fortificação do milho começou com a descoberta do gene opaco-2 na década de 1960, que levou ao desenvolvimento do milho de alta qualidade protéica (QPM) (Gunaratna, de Groot, Nestel, Pixley, & McCabe, 2009; Krivanek, de Groot, Gunaratna, Diallo, & Fresen, 2007; Long, Banziger, & Smith, 2004; Del-Angel & Sotelo, 1982). Este tipo de milho, QPM, combina a boa qualidade (grãos vítreos e maior densidade) de milho não-QPM e a melhor qualidade da proteína do milho opaco.

A bio-fortificação já vem sendo usada para melhorar a qualidade nutricional do arroz, milho, trigo, feijão, mandioca e batata-doce. A prática já logrou impacto positivo no estado nutricional da população em geral nos países como Filipinas, Guatemala, Índia e vários outros em África, Ásia e América Latina (Gunaratna, de Groot, Nestel, Pixley, & McCabe, 2009).

A desnutrição crónica em Moçambique afecta quase 43% das crianças menores de cinco anos. As razões são muitas e complexas. Sabe-se que a maior fonte de energia são alimentos de origem vegetal (cerca de 90%), donde se obtém carboidratos, lípidos e proteínas ingeridos diariamente. Contudo, mais de 70% dos produtos ingeridos são ricos em carboidratos. Portanto, a percentagem de energia diária fornecida pelos carboidratos está acima do recomendado, deixando os outros nutrientes abaixo do que se espera (FAO, 2015).

Alguns estudos sobre QPM foram feitos em Moçambique, dos quais se destacam os seguintes: (i) trabalho que sumarizou os ensaios agrónómicos conduzidos pelo programa de milho do ex- INIA entre 1998 a 2000 e 2002 a 2004 que culminaram, entre outros resultados com a libertação da variedades Sussuma e Olipa (Cháuque, 2005); (ii) dois estudos com a variedade Sussuma feitos para verificar a viabilidade de dietas formuladas para suínos e frangos, como alternativa alimentar. No estudo com suínos, observou-se que, comparada com a ração à base de milho não-QPM (Figura 19), houve redução do tempo para o abate e boa conversão alimentar que se reflectiu na redução do consumo quando a ração continha milho QPM (Tabela 10) (IPA, 2004).

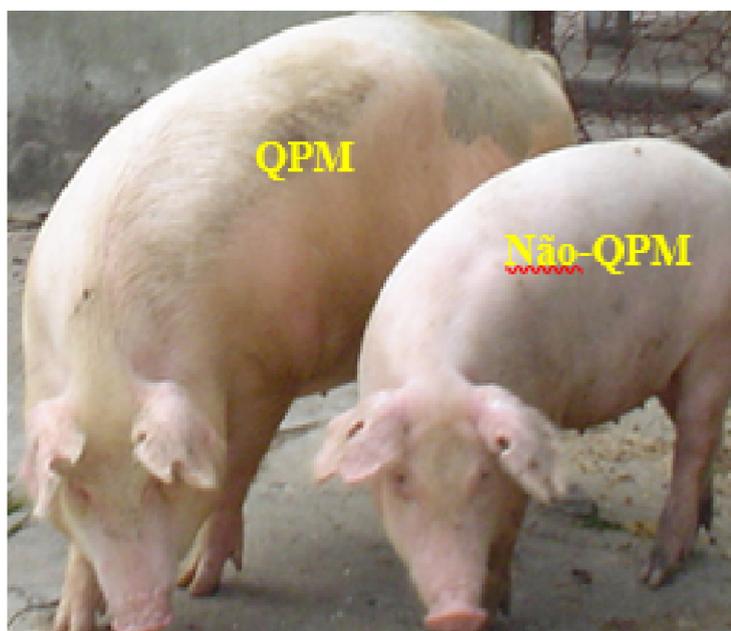


Figura 19. Eficácia da ração à base do milho QPM na engorda de Suínos no ex-IPA.

Leitões nascidos da mesma mãe e no mesmo dia foram divididos em dois grupos. Um grupo alimentado com ração à base de milho não-QPM e o outro na base de QPM.

O ensaio durou 139 dias de engorda.



Tabela 10. Resultados do ensaio de engorda de suínos na comparação milho QPM versus não-QPM.

	Machos		Fêmeas	
	Normal	Sussuma	Normal	Sussuma
Peso inicial	9,6	9,8	9,6	9,8
Peso final	72,5	97,2	73,0	97,5
Ganho de Peso	62,9	87,4	63,4	87,7
Diferença N-S	24,7		24,5	
Consumo	231,7	310,8	205,7	325,6
Conversão	3,7	3,6	3,2	3,7
Ganho diário	0,453	0,629	0,452	0,630

N-S = diferença do peso final e entre os animais alimentados com Susuma (QPM) e milho não-QPM.

Em relação aos frangos alimentados com milho QPM, houve maior consumo da ração, maior peso corporal, maior taxa de conversão alimentar, maior rendimento da coxa, peito (Figura 20) e de carcaça (Figura 21) e menor gordura abdominal (Baptista, 2005).



Figura 20. Comparação da coxa e peito de frangos alimentados com QPM versus não-QPM



Figura 21, Comparação da carcaça inteira de frangos alimentados com QPM versus não-QPM.

(iii) outros trabalhos abordaram estratégias no melhoramento genético de milho QPM (Fernando, 2014); (iii) estudo preliminar da avaliação agronómica e conteúdo de triptofano em 150 top crosses, envolvendo linhas QPM na geração S4 (Senete, Fato, Massitela, Tamele, & Souza, 2016).

O milho laranja e amarelo são ricos em carotenóides que o corpo humano converte em vitamina A (pró-vitamina A) durante o processo metabólico (Harjes, et al., 2008; Wong, Lambert, Wurtzel, & Rocheford, 2004; Ford, 2000).

Na pesquisa feita para investigar a aceitabilidade do milho com carotenóides com actividade pró-vitamina A, em Maputo, por meio de testes de sabor, textura, aparência do milho branco local e de uma variedade biofortificada laranja (Figura 22), observou-se que depois do teste, houve uma grande parte dos participantes no teste que escolheu levar farinha de milho biofortificado em vez da farinha de milho branco local. Os resultados sugerem que as preferências existentes para o milho branco não impedem a aceitação do milho laranja/amarelo (Stevens & Winter-Nelson, 2008).



Figura 22. Teste de sabor do milho laranja



Um outro estudo foi feito para verificar se o milho da variedade Gema (laranja) poderia substituir a vitamina A, sintética na ração de frangos. Os parâmetros avaliados foram o consumo da ração e peso corporal vivo. A quantidade média da ração à base do milho gema consumida por frango ao longo do ciclo de crescimento, não diferiu estatisticamente da quantidade de ração à base do milho branco com inclusão de vitaminas. Igualmente, o peso vivo ao longo das quatro semanas foi estatisticamente igual para os frangos que consumiram ração à base do milho laranja (variedade gema) assim como os que consumiram a ração do milho branco com inclusão de vitaminas. O resultado sugere que o uso deste milho pode reduzir o custo de rações, pois não haveria necessidade de adição de vitamina A (Castro, 2019).

4.2. ATRIBUTOS DE UM BOM MELHORADOR

Ramalho, Santos, Abreu, & Nunes (2012) , escreveram com muito detalhe as habilidades requeridas para ser um bom melhorador. Tais habilidades resumem-se em: gostar do que faz, persistência (lembrar que para libertar uma variedade pode precisar de muitos anos de trabalho), capacidade e coragem de eliminar, conhecimentos básicos de agronomia e da cultura, capacidades gerenciais (todos os dias precisa tomar decisões), flexibilidade para trabalhar em equipa, empreendedor (ser futurista), habilidade para expressar resultados e ter sensibilidade social e política (responder ao investimento que a sociedade está fazendo ao pagar imposto que paga seu salário).



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abate, T., Alene, A., Bergvinson, D., Silim, S., Orr, A., & Asfaw, S. (2011). *Tropical Legumes in Africa and South Asia: knowledge and opportunities*. ICRISAT. Nairobi: ICRISAT.
- Acquaah, G. (2007). *Principles of Genetics and Breeding*. Blackwell.
- AGRA. (2016). *Early Generation Seed study*.
- Araújo, I. S., De Oliveira, G. M., De Lacerda, L. B., De Luna Batista, J., & Lopes, G. N. (2019). Perspectivas atuais da utilização de bioinseticidas em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), *Revista Brasileira de Meio Ambiente*, :. 7(3), pp. 020-027.
- Arnhold, E. (2008). Seleção para resistência a doenças foliares em famílias S1 de milho pipoca. *Ceres*, 55(2), pp. 089-093.
- Arora, R., & Sandhu, S. (2017). *Breeding Insect Resistant Crops for Sustainable Agriculture*. Singapura: Springer.
- Bänziger, M., Edmeades, G. O., Beck, D., & Bellon, M. (2000). *Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance in Maize: From Theory to Practice*. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Baptista, J. A. (2005). Potencial do milho de qualidade proteica (Sussuma) no desempenho de frangos de corte. Universidade Eduardo Mondlane. Maputo: Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal.
- Bernardo, R. (2002). *Breeding for quantitative traits in plants*. Woodbury: Stemma.
- Bernardo, R. (2010). *Breeding for Quantitative Traits in Plants (Second ed.)*. Woodbury: Stemma.
- Bett, C. & (2007). Post-harvest storage practices and Techniques used by Farmers in Semi-arid Eastern and Central Kenya. *African Crop Science Conference Proceedings*, 8, pp. 1023 - 1027.
- Bison, O., Ramalho, M. A., & Raposo, F. V. (2003). Potencial de Híbridos Simples de Milho Para Extração de Linhagens. *Ciência e Agrotecnia*, 27 (2), pp. 348-355.
- Borém, A. (2001). *Melhoramento de plantas*. Viçosa: UFV.
- Borém, A., & Caixeta, E. (2016). *Marcadores Moleculares*. Viçosa, MG: UFV.
- Borém, A., Miranda, G., & Fristsche-Neto, R. (2017). *Melhoramento de Plantas*. Viçosa, MG: UFV.
- Bos, I., & Caligari, P. (2008). *Selection Methods in Plant Breeding (Second ed.)*. Dordrech: The Netherlands.
- Bucuana, G. (2009). *Agriculture: Future Scenarios for Southern Africa – Food Production in Mozambique and Rising Global Food Prices*. Canada.
- Bueno, L. d., Mendes, A. N., & Carvalho. (2006). *Melhoramento Genético de plantas*. Lavras.
- Casela, C. R., Ferreira, A., & Silva e Pinto, N. F. (2006). *Doenças da cultura de milho, Embrapa Milho e Sorgo*.
- Castro, A. (2019). *Desempenho de Frango de Corte Alimentados com Ração à Base do milho Gema*. Faculdade de Ciências Agrárias. Maputo: Universidade Nachingwea.
- Chao-Ying, Z., Lu-Jiang, L., Ke-Cheng, Y., Guang-Tang, P., & Ting-Zhao, R. (2010). Effects of Mass Selection on Synthetic Populations. *Acta Agronomica Sinica*, 36(1), pp. 76-84.
- Cháuque, P. (2005). *Desenvolvimento do Milho de Alta Qualidade Protéica (QPM) em Moçambique*. Universidade Eduardo Mondlane, Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal. Maputo: FAEF.



- CIB. (2013, Novembro 27). 2013, Novembro), Guia de milho: Milho Biotecnologia, Tecnologia do campo à mesa. Retrieved Novembro 27, 2013, from http://www.cib.org.br/pdf/guia_do_milho CIB, pdf.
- CIMMYT. (2001). Maize research highlights 1999-2000. Mexico City: CIMMYT.
- CIMMYT. (2013, Novembro 27). Strengthening maize technicians' capacity in Mozambique. Retrieved Novembro 27, 2013, from <http://blog.cimmyt.org/?p=11016>.
- Cisneros Delgadillo, F. (2013). Maize fine streak virus (MFSV) gene expression and protein interaction. Ohio: The Ohio State University.
- Costa, R. V., Silva, D. D., Cota, A. L., & Aguiar, F. M. (2017). Manejo de doenças na cultura do milho. In C. KAPPES, Boletim de pesquisa 2017/2018: soja, algodão, milho (pp. 274 – 309). Rondonópolis: Fundação MT.
- Crow, J. F. (1998). Anecdotal, Historical and Critical Commentaries on Genetics 90 Years Ago: The Beginning of Hybrid Maize. *Genetics*, 148, pp. 923–928.
- CRS. (2018, November 1). Retrieved from <https://www.crs.org/our-work-overseas/research-publications/aflatoxin-management-smallholder-farmers-maize>
- Cruz, C. D. (2012). Princípios de genética quantitativa. Viçosa: UFV.
- Cruz, C. D., & Carneiro, P. S. (2006). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético (Vol. 2). Viçosa-MG: UFV.
- Cruz, C. D., Salgado, C. C., & Bhering, L. L. (2013). Genômica Aplicada. Viçosa: Editora. Viçosa: UFV.
- Cugala, D., Sidumo, A., Santos, L., & Givá, N. (2007). Uso do método de controlo biológico contra a broca maior do grão do milho armazenado, *Prostephanus truncatus* (horn) (coleoptera: bostrichidae) nos celeiros das famílias rurais em Moçambique. Maputo.
- Daehnhardt, E. (1973). Resultados dos ensaios de soja efectuados em Moçambique. *Agronomia moçambicana*, 7(3), pp. 159-169.
- Dari, S., Pixley, K., & Setimela, P. (2010). Resistance of early generation maize inbred lines and their hybrids to maize weevil [*Sitophilus zeamais* (Motschulsky)]. *Crop Science Society of America*, 50, pp. 1310-1317.
- Dean, A., Voss, D., & Draguljic, D. (2017). Design and Analysis of Experiments (Second ed.). Switzerland Springer International Publishing.
- Del-Angel, A., & Sotelo, A. (1982). Nutritive value of mixtures using chick-peas with wheat, triticale, normal and opaque-2 corns. *The Journal of Nutritional*, 112, 1474–1480.
- Delima, C. (1987). Insect pests and post-harvest problems in the tropics. *Insect Science and its Applications*(8), 673-676.
- Denic, M., Chauque, P., Fato, P., Senete, C., Mariote, D., & Haag, W. (2007). Breeding approaches in simultaneous selection for multiple stress tolerance of maize in tropical environments. *Genetika*, 39(2), pp. 113 – 124.
- Dobie, P. (1974). The laboratory assessment of the inherent susceptibility of maize varieties to postharvest infestation by *Sitophilus zeamais*. *Journal of Stored Products Research*, 10, 183-197.
- Dobie, P. (1977). The contribution of the tropical stored products center to the study of insect resistance in stored maize. *Tropical Stored Products Information*, 34, 7-22.
- Doná, A. A., Miranda, G. V., Lima, R. O., Chaves, L., & Gomes e Gama, E. E. (2012). Genetic Parameters and Predictive Genetic Gain in Maize with Modified Recurrent Selection Method. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(1), pp. 33-39.



- DTMA. (2013). O milho tolerante a seca para o projecto África: seis anos satisfazendo as necessidades dos pequenos produtores africanos.
- Dudley, J. (1993). Molecular marker in plant improvement: Manipulation of genes affecting quantitative traits. *Crop Science*, 33, pp. 660-668.
- Esteves, A. B. (1967). Planeamento e organização do Instituto de Investigação Agronómica de Moçambique. *Agronomia Moçambicana*, 1(1), pp. 1-6.
- Falconer, D. S. (1987). *Introdução a genética quantitativa*. Viçosa- MG: UFV.
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. (1996). *Quantitative Genetics*, England: Pearson Education Limited.
- FAO. (2015, September 2). FAO. Retrieved from FAO: <ftp://ftp,fao.org/ag/agn/nutrition/ncp/moz.pdf>
- FAO. (2019). GIEWS: Global Information and Early Warning System on Food and Agriculture: Crop prospects and food situation, FAO. FAO.
- Fato, P., Chaúque, P., Ecole, C., & Cugala, D. (2008). The Status of Development of Maize Resistant to Field and Storage Pests in Mozambique. In S. Mugo, J. Geth, J. Ouma, G. Murenga, M. Mulaa, P. Lihkhayo, . . . H. & de Groote, Book of abstract of the Insect Resistant Maize for Africa (IRMA) ." Consolidating Experiences from IRMA I and II: Achievements, Prospects and Lessons", IRMA project ect End-of-Phase II Conference. Nairobi- Kenya.
- Fato, P., Derera, J., Tangoona, P., Makanda, I., & Sibiyi, J. (2011). Heterotic orientation of tropical maize inbred lines towards populations ZM523 and Suwan-1 under downy mildew infestation. *Euphytica*, 187 (3), pp. 381-392.
- Fehr, W. (1983). *Applied plant breeding*. Ames (Vol. 4).
- Fernando, L. C. (2014). Avaliação preliminar do rendimento e valor nutricional de top crosses de milho de qualidade proteica (QPM) na Estação Agrária de Chokwe,. Chokwe: Instituto Politécnico de Gaza.
- Ferrão, R. (2008). *Metodologia científica para iniciantes em pesquisa*. Vitoria-ES : Incaper.
- Fleurat-Lessard, F., & Ducum. (1991). 5th International Working Conference on Stores- Product Protection, Imprimeriedu Medoc, . In L. a.-f. germplasm, Mazarura, U.; Giga, D. (pp. 11-19). France: Bordeaux.
- Ford, R. (2000). Inheritance of kernel color in corn: Explanations and investigations. *The American Biology Teacher*, 6(3), 181–188.
- Giga, D., & Mazarura, U. (1991). Levels of resistance to the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motsch,) in exotic, local open-pollinated and hybrid maize germplasm. *Insect Science and its Applications*, 12, 159-169.
- Goergen, G., Kumar, P., Sankung, S., Togola, A., & Tamò, M. (2016). First report of outbreaks of the fall army-worm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. *PloS one*, 11, p. e0165632.
- Golob, P. (2002). Chemical, physical and cultural of *Prostephanus truncatus*. *Integrated Pest Management Reviews* , 7, pp. 245–277.
- Guanziroli, C., & Guanziroli, T. (2015). Modernização da Agricultura em Moçambique: determinantes da renda agrícola. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, 53 (1), pp. S115-S128.
- Gueye, M. G. (2008). First report on occurrence of the larger grain borer *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) in Senegal. *African Entomology*, 16, 309-311.
- Gunaratna, N., de Groote, H., Nestel, P., Pixley, K., & McCabe, G. (2009). A meta-analysis of community-based studies on quality protein maize. *Food Policy* , 35, 202–210.



- Halauer, A. (1990). Methods used in developing maize inbreds. *Maydica*, 35, pp. 1-16.
- Hallauer, A. R., & Miranda Filho, J. B. (1988). *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. Switzerland: Springer Nature.
- Harjes, E., Rocheford, T., Bai, L., Brutnell, T., Kandianis, C., Sowinski, S., . . . Buckler, E. (2008). Natural genetic in lycopene epsilon tapped for maize biofortification. *Science*, 319, 330–333.
- Howard, J., Low, J., Jeje, J. J., Boughton, D., Massingue, J., & Maredia, M. (2001). *Constrangimentos e Estratégias para o Desenvolvimento do Sistema de Sementes em Moçambique*. Relatório de Pesquisa, Svalof, Maputo.
- IIAM. (2013, Novembro 27). Áreas de Investigação. Retrieved Novembro 27, 2013, from http://www.iiam.gov.mz/index.php?option=com_content&view=article&id=194:areas-de-investigacao&catid=14&Itemid=8827.
- INE. (2011). *Censo agro – pecuário. 2009 – 2010: Dados definitivos– Moçambique*. Maputo, Moçambique.
- IPA. (2004). *Milho de Qualidade Protéica: Viabilidade de dietas formuladas para suínos usando o milho QPM (Sussuma) como alternativa alimentar*. Maputo: Instituto de Produção Animal.
- IRRI. (2013, Novembro 25). http://www.irri.org/index.php?option=com_k2&view=item&id=11562:irri-and-mozambique&lang=em>. Retrieved Novembro 25, 2013
- Isman, M. (2007). Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Management. Crop Science Society of America*, 64, pp. 8-11.
- ISSD-África. (2013, Novembro 27). Avaliação do sector de sementes em Moçambique em 2012. Retrieved Novembro 27, 2013, from http://api.ning.com/files/KIMW5Zcr44giScr1QX5cWIHANOVdKn92U-bPGX-zDkSXIAvxVng8G*Ri*qzTWk7k0V2KCni8ICk5kjb8yZttyE*UZZA9XR2AF/ISSDnotainformativoDISSMozambiquePort.pdf.
- Jayas, D., & White, N. (2003). Storage and drying of grain in Canada: low cost approaches. *Food Control*, 14 (4), pp. 255-261.
- Jenkins., Robert, A. L., & Findley Jr, W. R. (1954). Recurrent selection as a method for concentrating genes for resistance to *Helminthosporium turcicum* leaf blight in corn. *Agronomy Journal*, 48, pp. 89-94.
- Kankolongo, M., Hell, K., & Nawa, I. (2009). Assessment for fungal, mycotoxin and insect spoilage in maize stored for human consumption in Zambia. *Journal of Food Science and Agriculture*, 89, pp. 1366–1375.
- Khan, Z., Khan, M. S., Ul Ain, Q., Raqib, A., & Xing, L. (2020). Chemical control of *Chilo partellus* on maize crop in district Mansehra. *International Journal of Tropical Insect Science*, 40, pp. 1-12.
- Krivanek, A. F., de Groote, H., Gunaratna, N. S., Diallo, A. O., & Fresen, D. (2007). Breeding and disseminating quality protein maize (QPM) for Africa. *African Journal of Biotechnology*, 6(4), pp. 312-324.
- Lamkey, K. R., & Edwards, J. W. (1999). Quantitative Genetics of Heterosis. . In J. G. Coors, & S. Pandey, *The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops* (pp. 31-48).
- Langyintuo, A., Mwangi, W., Diallo, A. O., Macrobert, J., Dixon, j., & Bänziger, M. (2008). An analysis of the bottlenecks affecting the production and deployment of maize seed in eastern and southern Africa. Harare, Zimbabwe: CIMMYT.
- Leszczyńska, J., Masłowska, J., Owczarek, A., & Kucharska, U. (2001). "Determination of aflatoxins in food products by the ELISA method." . *Czech Journal of Food Science*, 19, 8-12.
- Li, L. (1988). *Behavioral ecology and life history evolution in the Larger Grain Borer, Prostephanus truncatus (Horn)*. UK: University of Reading.



- Lima, R., & Borém, A. (2018). *Melhoramento de Milho*. Viçosa: Editora. UFV.
- Long, J., Banziger, M., & Smith, M. (2004). Diallel analysis of grain iron and zinc density in southern Africa-adapted maize inbreds. *Crop Science*, 44, 2019–2026.
- Magaua, E. M. (2012). *ContrySTAT para países da Africa Subsaariana. Relatório Panorama*, FAO, Maputo.
- Malate, A. M. (2013). *Análise de custos de produção de milho no distrito de Chókwè de 2009 a 2013. Estudo de caso*. Universidade Eduardo Mondlane.
- Mariquiele, B. (2006). *Ocorrência da broca maior do grão Prosthepanus truncatus: Horn (Coleoptera: Bostrichidae) em Moçambique: O caso do distrito de Manica. Monografia*. Universidade Eduardo Mondlane.
- Markham, R., Wright, V., & Rios Ibarra, R. (1991). A selective review of research on *Prosthepanus truncatus* (Horn) (Col.: Bostrichidae) with an annotated and updated bibliography, CEIBA 32,.
- Martins, C. M., Ventura, S., & Quilambo, O. A. (2010). *Agriculture: Africa's "engine for growth" - Plant science and biotechnology hold the key*. Plant biotechnology and agricultural production: the experience of Mozambique. *Aspects of Applied Biology*, 96, pp. 149-154.
- MASA. (2014). *Anuário de Estatísticas Agrárias 2012-2014*. Maputo, Moçambique.
- Mertz, E. T., Bates, L. S., & Nelson, O. E. (1964). Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145, pp. 279-280.
- Mocumbe, S. (2009). *EAU 100 Anos na Vanguarda da Pesquisa Agrária em Moçambique*. Boletim do IIAM(13), 1-3.
- Nestel, P., Bouis, H. E., Meenakshi, J. V., & Wolfgang Pfeiffer, W. (2006). Biofortification of Staple Food Crops. *The Journal of Nutrition*, 136(4), 1064–1067.
- Ng'ang'a, M. M. (2014). *Toxicity effects of δ -endotoxins obtained from Native Bacillus thuringiensis isolates against maize stalk borer (Busseola fusca FULLER)*. Master Dissertation. Kenya: University of Nairobi.
- Nunes, E., Sousa, D., & Sataric, I. (1985). *Research on the constraints to maize production in Mozambique*. Proceedings of the first eastern, central and Southern Africa Regional Maize Workshop, 1, pp. 67-79. Lusaka.
- Nuñgulu, A. (2014). *Monitorização das espécies de brocas do milho em Angola, Gestão das suas populações com recurso a plantas-isca e plantas repelentes*. Tese-doutoramento. Universidade de Lisboa.
- Ong'amo, G., Khadioli, N., Le Ru, B., Mujica, N., & Carhuapoma, P. (2016). African pink stemborer, *Sesamia calamistis* (Hampson 1910). In J. Kroschel, N. Mujica, P. Carhuapoma, & M. Sporleder, *Pest distribution and risk atlas for Africa. Potential global and regional distribution and abundance of agricultural and horticultural pests and associated biocontrol agents under current and future climates*. Lima (Peru). International Potato Center.
- Palwal, R. (2000). *Introduction to maize and its importance: Tropical maize: Improvement and production*. Plant production and protection, 1-3.
- Paterniani, E., & Campos, M. S. (1999). *Melhoramento de Milho*. In A. Borém, *Melhoramento das espécies cultivadas* (pp. 429-485). Viçosa-MG, Brasil.
- Pereira, I. F. (2012). *Programa africano de semente e biotecnologia. Desenvolvimento integrado do sector de semente em África. Avaliação do sector de semente em Moçambique*. Relatório de Pesquisa.
- Pierre, P. M., Davide, L. M., Couto, E. G., Silva T, N. T., & Ramalho, M. A. (2011). Duplo-haploides: estratégias para obtenção e importância no melhoramento genético do milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 10, pp. 1-16.



- Pimentel-Gomes, F., & Garcia, C. H. (2002). Estatística aplicada a experimentos agrícolas e florestais: Exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos (Vol. 11). Piracicaba: FEALQ.
- Pingali, P., & Pandey, S. (2001). Meeting world maize needs: Technology opportunities and priorities for the private sector. In P. PINGALI, CIMMYT 1999-2000 world maize facts and trends, Meeting world maize needs: Technology opportunities and priorities.
- Prasanna, B., Chaikam, V., & Mahuku, G. (2012). Doubled Haploid Technology in Maize Breeding: Theory and Practice. CIMMYT. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Prasanna, B., Huesing, J., Eddy, R., Peschke, V., Cruz, I., & Parentoni, S. (2018). Lagarta do funil do milho em África: um guia para o manejo integrado de pragas: Primeira edição, Feed the Future.
- Ramalho, M. A., Santos, J. B., Abreu, A. F., & Nunes, J. A. (2012). Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas. Lavras: UFLA.
- Ramalho, M., Abreu, A., Santos, J., & Nunes, J. (1993). Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas (1ª edição ed.). Lavras.
- Ramalho, M., Ferreira, D., & Oliveira, A. (2005). Experimentação em Genética e Melhoramento de plantas (2ª ed.). Lavras: UFLA.
- Roberts, P., & Douce, G. (1999). Weevils and Borers. A County Agent's Guide to Insects Important to Agriculture in Georgia. USA.
- Saraiva, T. (2013, Novembro 26). Laboratories and Landscapes: the Fascist New State and the Colonization of Portugal and Mozambique. Retrieved Novembro 26, 2013, from http://www.johost.eu/vol3_fall_2009/vol3_ts2.htm.
- Senete, C., Fato, P., Massitela, J., Tamele, O. H., & Souza, J. (2016). Selection of Maize Progenies for Tryptophan Content and Grain Yield. African Journal of Crop Science, 4(2), 257-267.
- Silva, G. J., Guimarães, C. T., Parentoni, S. N., Rabel, M., Lana, U. G., & Paiva, E. (2009). Produção de haplóides androgenéticos em milho. Sete lagoas.
- Silva, M. A., Alves, T., Tember, J., Munisse, P., Souza, C. C., Pancas, M., . . . Barreiros, A. (1995). Mozambique: Country Report to the FAO. International Technical Conference on Plant Genetic Resources.
- Souza Jr, C. L. (2001). Melhoramento de Espécies Alógamas. In L. Nass, A. C. Valois, I. Melo, & Valadares-Inglis, Recursos Genéticos e Melhoramento-Plantas (pp. 159-199). Rondonópolis, Mt, Brasil: Fundação MT.
- Stevens, R., & Winter-Nelson. (2008). Consumer acceptance of provitamin A-biofortified maize in Maputo, Mozambique. Food Policy, 33, 341–351.
- Svalöv. (2013, Novembro 20). Consulting – Mozambique and seed programme. Retrieved Novembro 20, 2013, from <http://Svalöf consulting.se/references-5/Mozambique/>.
- Talukder, F. (2006). Plant Products as potential stored product insect pest management agents-A mini review. 18, pp. 17- 32.
- Tefera, T., Mugo, S., Tende, R., & Likhayo, P. (2010). Mass Rearing of Stem Borers, Maize Weevil and Larger Grain Borer Insect Pests of Maize,. Nairobi- Kenya: CIMMYT.
- Toppa, E. V., & Jadoski, C. J. (2013). O uso dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. Scientia Agraria Paranaensis, 1-5.
- Troyer, A. (1994). Breeding early corn. In A. Hallauer, Speciality corns, Ames (pp. 342-96).



- Ubwa, S., Asemave, K., & Igbum, G. (2012). Preliminary screening of aflatoxin level in maize (*Zea mays* L.) in some selected markets in Benue State, Nigeria,. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 6(14), 159-163.
- Van Den Berg, J., & Van Wyk, A. (2007). The effect of Bt maize on *Sesamia calamistis* in South Africa. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 122, pp. 45-51.
- Vencosvsky, R., & Barriga, P. (1992). *Genética biométrica no fitomelhoramento*. Riberão Preto: USP.
- Vencovsky, R. (1987). Herança quantitativa, Melhoramento e produção de milho. *SciELO*, 2, pp. 137-214.
- Viana, J. M., Cruz, C. D., & Barros, E. G. (2012). *Genética - Fundamentos*. Viçosa: Editora. Viçosa: UFV. Viçosa, MG: UFV.
- Vigário, C. D. (1973). Milho híbrido em Moçambique. *Agronomia moçambicana*, 7(3), pp. 171-183.
- Vizcayno, J. F., Hugo, W., & Alvarez, J. S. (2014, Novembro 27). Variedades de sementes apropriadas para pequenos agricultores: práticas fundamentais para implementadores de rrc. Retrieved 27 Novembro, Roma: FAO, 2014. Disponível em: from <http://www.fao.org/3/a-i3768o.pdf>.
- Wong, J., Lambert, R., Wurtzel, E. T., & Rocheford, T. (2004). QTL and candidate genes phytoene synthase and d-carotene desaturase associated with the accumulation of carotenoids in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 108, 349–359.
- Zacarias, A. M., Cuambe, C., Macia, R., Jamisse, J., Avijala, M., Mutaca, A., . . . Mate, L. (2007). Programa de mandioca. Seminário sobre Tecnologias Promissoras Nampula. Nampula.
- Zacarias, A., & Labuschane, M. T. (2010). Diallel analysis of cassava brown streak disease, yield and yield characteristics in Mozambique. *Euphytica*, 176, pp. 309-320.

(Footnotes)

1 Teores de β -caroteno variando de 1,70 – 1,95 mg.kg⁻¹, de luteína variando de 23,30 -26,66 mg.kg⁻¹ e o equivalente da actividade de retinol teores igual a 111,3 μ g/100g.



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DESENVOLVIMENTO RURAL



IIAM
Instituto de Investigação Agrária de Moçambique

Endereço: Av. das FPLM, nº 2698

Caixa Postal: 3658

Telefone: (+258) 21 462 241

Fax: (+258) 21 461 581

Maputo-Moçambique