

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA E AVALIAÇÃO
DE FAMÍLIAS S₁ E TOP CROSSES DE
MILHO, UTILIZANDO-SE CARACTERES
AGRONÔMICOS E MARCADORES RAPD**

EVERTON DIEL SOUZA

2000

EVERTON DIEL SOUZA

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA E AVALIAÇÃO DE FAMÍLIAS S₁ E
TOP CROSSES DE MILHO, UTILIZANDO-SE CARACTERES
AGRONÔMICOS E MARCADORES RAPD**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração em
Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do
título de "Doutor".

Orientador

Prof. Dr. Samuel P. de Carvalho

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

2000

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA

Souza, Everton Diel

Divergência genética e avaliação de famílias S₁ e top crosses de milho,
utilizando-se caracteres agrônômicos e marcadores RAPD / Everton Diel Souza. --
Lavras : UFLA, 2000.

88 p. : il.

Orientador: Samuel Pereira de Carvalho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Milho. 2. Divergência genética. 3. Família S₁. 4. Top cross. 5. Marcador
RAPD. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.153

EVERTON DIEL SOUZA

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA E AVALIAÇÃO DE FAMÍLIAS S₁ E
TOP CROSSES DE MILHO, UTILIZANDO-SE CARACTERES
AGRONÔMICOS E MARCADORES RAPD**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, área de concentração em
Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do
título de "Doutor".

APROVADA em 18 de dezembro de 2000

Prof. Dr. Glauco Vieira Miranda

UFV

Dr. Manoel Xavier dos Santos

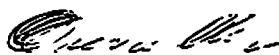
EMBRAPA /CNPMS

Prof. Dr. Renzo Garcia Von Pinho

UFLA

Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf

UFLA



Prof. Dr. Samuel Pereira de Carvalho

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

Para ler e refletir:

“Se acaso alguém me houvesse alertado o interesse, se antes de cada matéria, lesse um prefácio estimulante, que me despertasse a inteligência, me oferecesse fantasias em lugar de fatos, me divertisse e intrigasse com o malabarismo dos números, romantizasse mapas, me desse um ponto de vista a respeito da história, e me ensinasse a música da poesia, talvez eu tivesse sido um erudito”.

CHARLIE CHAPLIN

“Os dias prósperos não vêm por acaso, nascem de muita fadiga e muita persistência”.

HENRY FORD

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”.

CORA CORALINA

À memória de meu pai, Luiz,
por tudo o que fez por mim
enquanto esteve conosco
e pelo exemplo de vida que nos deixou.

À minha mãe, Nair,
pelo carinho, dedicação, amor
e pelo apoio em todas as etapas da minha vida.

DEDICO

À minha esposa, Amélia,
por tudo o que passamos juntos,
pelos frutos que Deus nos deu e
por aqueles que ainda vamos colher.

Aos meus lindos e amados filhos,
Eveline, Aline e Luiz Gustavo,
por serem a razão de todo
o meu esforço, dedicação e viver.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por tê-lo reencontrado através do meu trabalho, pelo dom da vida e por ter estado presente em todos os momentos da minha vida, mesmo que eu não percebesse.

À Empresa Mato-Grossense de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural S/A, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Biologia, pela excelência e oferecimento do curso de Genética e Melhoramento de Plantas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão das bolsas de estudos.

Ao amigo e orientador Samuel Pereira de Carvalho, pela dedicação, pelo estímulo, pelo apoio nos momentos difíceis, pelos ensinamentos, pela disponibilidade e, acima de tudo, pela confiança em mim depositada.

Ao professor João Bosco dos Santos, pela orientação nos primeiros dois anos, pela co-orientação até o final do curso, pelos ensinamentos, disponibilidade e também pela confiança em mim depositada.

Aos professores César, Magno, Elaine, Daniel, Nazareno, José Eduardo e Jaqueline, pela amizade e conhecimentos adquiridos.

Ao pesquisador Dr. Júlio Daniels, pelo primeiro experimento e apresentação em congresso.

Ao pesquisador Dr. Álvaro Eleutério da Silva, pelo incentivo à pesquisa e ao aprimoramento profissional.

Ao Diretor de Pesquisa da EMPAER-MT, Márcio Castrillon, pelo apoio decisivo no final do curso e pela confiança profissional.

Aos amigos do Laboratório de Genética Molecular: Lamartine, Juliano, Márcia, Viviane, Wagner, Jair, Cristina, Eigo, Sidney, Graciela, Marinei e Taislene, pela colaboração e amizade.

Aos colegas do curso de Doutorado: Moacil, Delly, Renzo, Giovana, Leonardo e Patrícia, pelo convívio, amizade e pela troca de experiências.

Aos demais colegas do curso de Genética e Melhoramento de Plantas: Haroldo, Glauber, Jaime, Gustavo, Wilton, Luís Antônio, Juscélio, Claudomiro, Fausto, Gabriela, Flávia Teixeira e Antônio Carlos.

Aos funcionários do Departamento de Biologia, pelos auxílios prestados.

Aos funcionários da Biblioteca Central da UFLA, pelo atendimento e correções das referências bibliográficas.

Ao Núcleo de Estudos em Genética (GEN), pelo apoio e oportunidades oferecidas.

À Associação de Pós-Graduação, por representar-nos como estudantes.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

MEU MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Histórico do milho híbrido.....	4
2.2 Obtenção de linhagens de milho.....	5
2.3 Avaliação de linhagens de milho.....	7
2.3.1 Utilização de top cross para avaliação de linhagens de milho.....	9
2.4 Correlações entre linhagens S_1 <i>per se</i> e em top cross.....	11
2.5 Divergência genética e heterose.....	15
2.6 Seleção assistida por marcadores moleculares.....	17
2.6.1 Marcadores PCR e RAPD.....	19
2.6.2. Marcadores moleculares e divergência genética.....	22
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1 Local.....	26
3.2 Material.....	26
3.3 Metodologia.....	26
3.3.1 Obtenção das famílias S_1	27
3.3.2 Obtenção dos híbridos top crosses.....	27
3.3.3 Avaliação dos top crosses e das famílias S_1	28
3.3.4 Análise estatística e genética dos dados.....	29
3.3.4.1 Estimadores dos componentes de variância e parâmetros genéticos e fenotípicos.....	31
3.3.4.2 Estimativa do intervalo de confiança da herdabilidade.....	32
3.3.5 Estudo de correlações entre caracteres.....	33

3.3.6 Estimativa da distância genética utilizando caracteres agronômicos.....	35
3.3.7 Estimativa da divergência genética utilizando marcadores RAPD.....	36
3.3.7.1 Extração de DNA.....	36
3.3.7.2 Amplificação do DNA e eletroforese.....	37
3.3.7.3 Análise de similaridade genética.....	38
3.3.8 Obtenção de híbridos teóricos gerados por meio de cruzamento simulado entre pares de famílias S_1	40
3.3.8.1 Obtenção das matrizes de distâncias genéticas.....	40
3.3.9 Correlações entre as estimativas obtidas.....	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1 Desempenho das famílias S_1 e dos top crosses.....	42
4.1.1 Análise de variância.....	43
4.1.2 Correlações entre caracteres.....	49
4.2 Divergência genética.....	51
4.2.1 Estimativa da divergência utilizando caracteres agronômicos.....	52
4.2.2 Divergência genética baseada em marcadores RAPD.....	57
4.2.3 Obtenção das matrizes de distâncias genéticas.....	58
4.2.4 Estimativas dos coeficientes de correlação.....	63
5 CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
ANEXOS.....	78

RESUMO

SOUZA, Everton Diel. Divergência genética e avaliação de famílias S_1 e top crosses de milho, utilizando-se caracteres agronômicos e marcadores RAPD. Lavras: UFLA, 2000. 88p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)*

A pressão pelo rápido desenvolvimento de híbridos comerciais leva à busca de novas alternativas que sejam eficientes a curto prazo. Populações de base genética estreita, como gerações F_2 de híbridos comerciais, quando comparadas com variedades de polinização aberta, têm sido utilizadas como fonte de linhagens porque apresentam bom desempenho para as características importantes no melhoramento. A avaliação das linhagens é feita, normalmente, com base na capacidade de combinação estimada em cruzamentos dialélicos ou em top crosses, sendo estes os mais utilizados. Outro método consiste na avaliação da divergência genética, estimada por meio de caracteres agronômicos ou por marcadores moleculares. Dessa forma, os objetivos deste trabalho foram: avaliar famílias de milho S_1 *per se* e em top cross, obtidas de um híbrido simples modificado e verificar se a distância genética estimada por marcadores RAPD e por meio de caracteres agronômicos são preditivas na escolha de genitores promissores para a obtenção de híbridos de milho. Este estudo foi realizado na área experimental e no Laboratório de Genética Molecular do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, durante os anos agrícolas 96/97, 97/98 e 98/99. Foram utilizadas 100 espigas F_2 autofecundadas de plantas F_1 obtidas de uma população constituída pelo híbrido simples modificado Pioneer 3072. O trabalho foi realizado em quatro etapas: a) obtenção das famílias S_1 , b) obtenção dos híbridos top crosses, c) avaliação dos top crosses e das famílias S_1 *per se* e d) análise molecular de uma amostra de 20 famílias S_1 mais o testador, utilizando marcadores RAPD. Foram estimados os parâmetros genéticos e fenotípicos dos top crosses e das famílias S_1 , além das correlações entre alguns caracteres. Foram constatadas herdabilidades relativamente altas para o caráter peso de espigas despalhadas e correlações genotípicas também altas entre alguns caracteres. Além disso, estimou-se a divergência genética entre as famílias S_1 e os respectivos híbridos top crosses, utilizando-se caracteres agronômicos e marcadores RAPD. Finalmente, foram calculadas as correlações entre as diversas estimativas da divergência genética e da produtividade encontrando-se valores altos e significativos. Verificou-se que a utilização do testador possibilitou a identificação de genótipos superiores e promissores entre as

* Comitê Orientador: Samuel Pereira de Carvalho - UFLA (Orientador), João Bosco dos Santos - UFLA (Co-orientador).

famílias S₁ e que as distâncias genéticas obtidas pelos marcadores, embora não tenham apresentado capacidade preditiva, identificaram as famílias que originaram os híbridos mais divergentes e, dentre estes, os mais produtivos.

ABSTRACT

SOUZA, Everton Diel. Genetic divergence and evaluation of S_1 and topcross families of maize by utilizing agronomic characteristics and RAPD markers. Lavras: UFLA, 2000. 88p. (Thesis - Doctorate in Genetic and Plant Breeding)*

The pressure for the fast development of commercial hybrids leads to the search for new alternatives which may be efficient in the short run. Populations of narrow genetic base such as F_2 generations of commercial hybrids when compared with open-pollinated varieties, have been utilized as the source of lines because they show good performance for the important characteristics in breeding. The evaluation of lines is done, normally, on the basis of the combining capacity estimated in diallel crossing or in topcrosses, the latter being the most utilized. Another method consists into the evaluation of genetic divergence, estimated by means of agronomic characters or by molecular markers. Thus, the objectives of this work were: to evaluate S_1 maize families *per se* and in top cross obtained from a modified single hybrid and verify whether the genetic distance estimated by RAPD markers and by means of agronomic characters are predictive in the choice of promising parents for obtaining corn hybrids. This study was accomplished in the experimental area and in the Molecular genetic laboratory of the Department of Biology of the UFLA over the agricultural years 1996/97, 97/98 and 98/99. 100 F_2 ears selfed from F_1 plants, obtained from a population made up of the modified single hybrid Pioneer 3072. The work was carried out in four stages: a) obtaining of the S_1 families, b) obtaining of topcross hybrids, c) evaluation of the S_1 and topcross families and d) molecular analysis of a sample of 20 S_1 families plus the tester by utilizing RAPD markers. The genetic and phenotypic parameters of the topcrosses and S_1 families were estimated in addition to the correlations among some characters. Relatively high heritabilities for the trait strawless ear weight and genotypic correlations also high among some characters. In addition, the genetic divergence among S_1 families and their respective topcross hybrids, by utilizing agronomic traits and RAPD markers was estimated. Finally, the correlations among the several estimates of genetic divergence and yield were calculated, high and significant values being found. It was verified that the utilization of the tester enabled the identification of superior and promising genotypes among the S_1 families and that the genetic distances obtained by the markers, although they had not presented predicting ability, identified the

* Guidance Committee: Samuel Pereira de Carvalho - UFLA (Major Professor),
João Bosco dos Santos - UFLA (Co-adviser)

families which gave rise to the most divergent hybrids and among these, the highest yielding ones.

1 INTRODUÇÃO

O uso da geração F_1 de cruzamentos intervarietais para a produção comercial de milho foi sugerido por Beal com base em estudos realizados no final do século XIX (Allard, 1971). A utilização do milho híbrido, a partir de 1920, proporcionou um enorme impulso à agricultura moderna. Os estudos subseqüentes trouxeram muitas contribuições de importância, tanto prática como científica. As contribuições dos melhoristas foram de importância extraordinária e resultaram em aumentos constantes na produtividade do milho híbrido (Miranda Filho e Viégas, 1987).

O desenvolvimento do milho híbrido dentro de um programa de melhoramento está fundamentado na obtenção de linhagens e avaliação da capacidade de combinação dessas. A escolha adequada das fontes de linhagens pode determinar o sucesso do programa. O germoplasma disponível de milho é muito amplo e, com a facilidade de cruzamento, as fontes se tornam praticamente inesgotáveis.

A utilização de cultivares de polinização aberta, como fonte de germoplasma para a obtenção de linhagens, tem diminuído significativamente nos últimos anos, principalmente devido ao baixo potencial de produção e à presença de características indesejáveis nestes cultivares (Hallauer, 1990). Dessa forma, a maioria dos melhoristas de milho no mundo tem preferido utilizar populações de base genética estreita, incluindo sintéticos de linhagens elites relacionadas ou não, populações F_2 de híbridos simples e populações obtidas por meio de retrocruzamentos (Hallauer, Russel e Lankey, 1988; Hallauer, 1990; Troyer, 1994).

A geração F₂ de híbridos comerciais tem sido utilizada como fonte para a obtenção de linhagens em vários programas de melhoramento. Isto se deve ao fato de que os híbridos comerciais têm sido amplamente avaliados, tanto com relação ao seu desempenho *per se* como também das suas linhagens genitoras, apresentando bom desempenho para aquelas características importantes para o melhoramento, quando comparados, por exemplo, com as variedades de polinização aberta, que são germoplasmas pouco melhorados (Troyer, 1994).

A avaliação da capacidade combinatória das linhagens é muito importante porque permite a utilização dos efeitos gênicos aditivos para melhorar os ganhos obtidos com a seleção. Essa avaliação pode ser feita cruzando-se as linhagens em fase inicial de endogamia com um testador comum, comparando-se em seguida, os híbridos obtidos. Os resultados obtidos podem ser utilizados para selecionar as melhores linhagens que surgem no programa e/ou que podem ser recombinadas para formar uma nova população.

Além dos cruzamentos em top crosses utilizando testadores, os cruzamentos dialélicos têm sido utilizados após a endogamia ter sido alcançada, mas apresentam o inconveniente de aumentar em muito o número de cruzamentos, quando o número de linhagens disponível é grande, dificultando as avaliações. A justificativa para a avaliação da capacidade combinatória das linhagens está no baixo relacionamento entre o desempenho das linhagens *per se* e seus híbridos (Hallauer, 1990; Troyer, 1994). Dessa forma, até o momento, os top crosses têm sido fundamentais para avaliar o desempenho das linhagens em combinações híbridas.

Uma outra metodologia que tem sido utilizada pelos melhoristas para auxiliar na seleção de linhagens é a avaliação da divergência genética, que pode ser estimada por meio de caracteres morfo-agronômicos ou por marcadores moleculares.

O desenvolvimento de técnicas da biologia molecular permitiu a avaliação da divergência genética por meio de marcadores moleculares que apresentam algumas vantagens sobre os outros métodos, pois além de identificarem grande polimorfismo, não apresentam interação com ambientes, podendo ainda ser avaliados em qualquer estágio de desenvolvimento (Williams et al., 1990).

Dentre os marcadores utilizados atualmente, o RAPD ("Random Amplified Polymorphic DNA") é o mais simples, além de permitir identificar uma ampla variabilidade genética, ter custo mais acessível e, por isso, vem sendo um dos mais usados (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Além disso, os programas de melhoramento de populações ou de obtenção de linhagens endogâmicas demandam considerável tempo e recursos. A pressão pelo rápido desenvolvimento de híbridos comerciais faz com que se busquem novas alternativas que possam ser eficientes a curto prazo.

Nesse contexto, os objetivos deste trabalho foram: 1) avaliar famílias de milho S_1 *per se* e em top cross, obtidas de um híbrido simples modificado; 2) verificar se as distâncias genéticas estimadas por marcadores RAPD e por meio de caracteres agronômicos são preditivas na escolha de genitores promissores para a obtenção de híbridos de milho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico do milho híbrido

Como já foi mencionado, partiu de Beal a sugestão para a utilização da geração F_1 de cruzamentos intervarietais para a produção comercial de milho, com base em estudos realizados no final do século XIX (Allard, 1971). No entanto, foram East (1908) e Shull (1909) que demonstraram, em trabalhos diferentes, que o cruzamento entre linhagens endogâmicas de milho resultava numa geração F_1 mais vigorosa e produtiva. Apesar disso, tal prática não foi disseminada na época, devido ao elevado custo das sementes híbridas, que eram produzidas utilizando-se linhagens endogâmicas normalmente pouco produtivas.

O milho híbrido só se tornou economicamente viável, após a sugestão de Jones (1918) de utilizar as linhagens endogâmicas para a formação de híbridos duplos, os quais resultam do cruzamento de dois híbridos simples. Uma vez que as sementes de híbridos duplos eram produzidas com uma certa facilidade e economia, o interesse dos melhoristas se voltou para o método de híbridos de linhagens e a hibridação intervarietal foi praticamente esquecida.

Mesmo assim, os primeiros híbridos comerciais só apareceram por volta de 1930 e, gradativamente, foram substituindo as variedades de polinização livre. Já em 1939, a área plantada com milho híbrido nos Estados Unidos, na faixa conhecida como “cinturão do milho”, alcançava 75% do total (Miranda Filho e Viégas, 1987).

Inicialmente, as linhagens empregadas para obtenção de híbridos apresentavam limitada capacidade específica de combinação entre si. A partir de 1940, quando o progresso destes programas de obtenção de híbridos duplos

parecia ter atingido o seu máximo e os resultados não correspondiam aos esforços empregados, o interesse voltou-se para os cruzamentos entre linhagens extraídas de diferentes populações. Tal mudança só foi possível, principalmente em virtude do grande impulso dado aos estudos da Genética Quantitativa, os quais permitiram uma melhor compreensão e detecção dos tipos de ação gênica em populações de ampla base genética (Gorgulho, 1997).

Paterniani (1993) relata que, de todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo onde o milho híbrido tem sido utilizado, é no Brasil que se constata a sua contribuição mais significativa para a agricultura. O mesmo autor cita uma série de vantagens apresentadas pelas sementes híbridas, entre as quais relaciona a possibilidade de: 1) associar características de genitores distintos; 2) obter genótipos superiores num prazo relativamente curto; 3) utilizar interações gênicas na geração híbrida; 4) produzir genótipos uniformes; 5) conseguir menor interação com o ambiente (maior homeostase) na geração F_1 ; 6) produzir sementes de milho híbrido em escala comercial, com reflexos gerais favoráveis sobre a economia da região.

2.2 Obtenção de linhagens de milho

Uma linhagem pode ser definida como um grupo de indivíduos idênticos obtidos por sucessivas autofecundações e, conseqüentemente, homozigóticos (Ramalho, Santos e Pinto, 1989).

Segundo Miranda Filho e Viégas (1987) e Hallauer (1990), existem vários métodos para obtenção de linhagens endogâmicas, que são: a) método padrão: a seleção é feita entre e dentro das progênies à medida que avança o processo de endogamia, baseada em caracteres fenotípicos; b) método de cova única: difere do método padrão porque cada progênie é representada por uma

cova única com três plantas, em vez de uma linha com várias plantas; c) método genealógico: consiste inicialmente na escolha e no cruzamento de duas linhagens elites que combinam bem e, a partir do segundo ciclo do híbrido resultante por endogamia, realiza-se o isolamento de novas linhagens como no método padrão; d) métodos alternativos: desenvolvimento de linhagens homozigóticas diplóides, partindo de monoplóides (cultura de tecidos), seguido de duplicação do número de cromossomos.

O método padrão, que é o mais empregado, consiste inicialmente na autofecundação de centenas de plantas selecionadas de variedades ou híbridos promissores, descartando-se as piores. Na etapa seguinte, são semeadas, em fileiras individuais, cerca de 30 sementes de cada espiga obtida, efetuando-se a autofecundação de duas a cinco plantas escolhidas de cada progênie, selecionando entre e dentro das progênies e escolhendo até três das melhores espigas por progênie. Finalmente, são semeadas de uma a três fileiras das espigas selecionadas, autofecundadas e selecionadas, repetindo o processo até que as linhagens atinjam relativa homozigose (Miranda Filho e Viégas, 1987).

Hallauer (1990) comenta que uma das críticas ao método padrão para o desenvolvimento de linhagens está no tempo requerido para a obtenção da linhagem homozigótica. O mesmo autor relata que os métodos alternativos têm sido sugeridos por não incluir os 5 a 7 ciclos de autofecundações, apesar desses métodos terem sido testados com limitações, pois a ocorrência de monoplóides e de homozigotos diplóides derivados de monoplóides é baixa.

As linhagens, após obtidas, podem ser melhoradas. Um método, utilizado com freqüência, para essa finalidade é o retrocruzamento. Miranda Filho e Viégas (1987) afirmam que esse método é eficiente tanto na transferência de alelos específicos entre genótipos como para caracteres quantitativos.

2.3 Avaliação de linhagens de milho

Entre 1920 e 1930, poucas linhagens estavam disponíveis para os programas de melhoramento. Em vista disso, as avaliações das combinações híbridas eram feitas em todas as $n(n - 1)/2$ combinações possíveis de um conjunto de linhagens. Porém, à medida que a disponibilidade das linhagens foi aumentando, os cruzamentos e os testes de linhagens por este procedimento foram se tornando impraticáveis (Hallauer e Miranda Filho, 1988).

Quanto maior o número de linhagens para serem avaliadas maior deverá ser o número de F_1 's a serem testados em ensaios comparativos, o que fez com que os melhoristas logo percebessem que a obtenção de linhagens de milho constituía um problema muito pequeno em comparação com o da avaliação de linhagens. Esta conclusão conduziu a uma intensa busca por procedimentos adequados para a avaliação das linhagens (Allard, 1971).

No processo de avaliação de linhagens, o cruzamento entre quaisquer duas linhagens não selecionadas certamente proporcionará algum aumento de vigor em relação aos parentais. Todavia, apenas algumas das milhares de linhagens que têm sido testadas exibem heterose em nível suficiente para tornar-se viável, sob o ponto de vista econômico. Em 1951, Kiesselbach, citado por Allard (1971), estimou que, de um total de mais de 100.000 linhagens que foram avaliadas até aquela data nos Estados Unidos, apenas 60 eram suficientemente boas para serem empregadas na produção comercial de milhos híbridos.

De acordo com Ide (1983), no desenvolvimento de linhagens endogâmicas a serem utilizadas na obtenção de híbridos, a maior dificuldade está na sua avaliação, de modo que um dos pontos principais reside em qual estágio de endogamia os testes de capacidade de combinação devem ser realizados para se ter uma maior eficiência.

A avaliação precoce *early testing* das linhagens para capacidade geral de combinação foi proposta inicialmente por Jenkins, em 1935 (Allard, 1971). No esquema do teste precoce, as plantas originais (S_0) ou as plantas da primeira geração de autofecundação (S_1) são cruzadas com um testador, permitindo assim avaliar a capacidade de combinação e o comportamento geral dos top crosses. O primeiro descarte permite concentrar maiores esforços nas famílias selecionadas com o decorrer das autofecundações.

As linhagens podem ser testadas tanto em estágios iniciais (S_0 - S_1) de desenvolvimento, como em estágios mais avançados (S_4 ou mais). Os defensores do teste em gerações iniciais acreditam que a alta produtividade é tão importante e tão difícil de se obter que deveria ser identificada o mais cedo possível, enquanto os defensores do teste em gerações mais avançadas acham que a produtividade muda durante o desenvolvimento da linhagem devido à segregação genética, de modo que testes em gerações avançadas são melhores que em gerações iniciais, pois a maioria dos locos está em homozigose (Troyer, 1994).

O estágio de teste para a avaliação da capacidade combinatória das linhagens não tem sido um fator decisivo no desenvolvimento de linhagens elites, visto que excelentes linhagens têm sido desenvolvidas tanto em estágios iniciais como em estágios mais avançados (Hallauer, 1990; Troyer, 1994).

A justificativa para a avaliação da capacidade combinatória das linhagens está no baixo relacionamento entre o desempenho das linhagens *per se* e seus híbridos (Hallauer, 1990; Troyer, 1994), o que tem sido demonstrado teórica e empiricamente (Hallauer e Lopez Perez, 1979; Smith, 1986). Deste modo, até o momento, os top crosses têm sido necessários para avaliar o desempenho das linhagens em combinações híbridas.

2.3.1 Utilização de top cross para avaliação de linhagens de milho

Sugerida por Davis (1927), a introdução do uso de top crosses, que são cruzamentos de linhagens com variedades de polinização livre, foi adotada como uma prática usual e eficiente para avaliar a capacidade geral de combinações das linhagens. Vários autores têm discutido a eficiência desse método, principalmente, quanto à escolha do tipo de testador para a determinação da capacidade de combinação (Matzinger, 1953; Lonquist e Rumbaugh, 1958; Rawlings e Thompson, 1962; Allison e Curnow, 1966).

Ao verificar que algumas linhagens destacavam-se pelo seu comportamento em combinação, Lindstrom (1931) recomendou o uso do top cross para a avaliação. No ano seguinte, Jenkins e Brunson (1932), trabalhando com variedades de polinização aberta utilizadas como testadores, encontraram altas correlações entre a produção das linhagens e dos top crosses.

Jenkins (1934) comparou quatro métodos para avaliar o desempenho de híbridos duplos de milho, sendo três utilizando informações dos híbridos simples e um utilizando apenas as informações dos top crosses das linhagens genitoras. Os resultados validaram as informações obtidas com os top crosses na avaliação do desempenho dos híbridos duplos entre as linhagens.

Segundo Hallauer e Miranda Filho (1988), a utilização de top cross no melhoramento tem como objetivos: 1) a avaliação da capacidade de combinação de linhagens endogâmicas num programa de melhoramento de híbridos e 2) a avaliação do valor genético dos genótipos da população a ser melhorada.

A capacidade geral de combinação (CGC) foi definida por Sprague e Tatum (1942) como o comportamento de uma linhagem quando cruzada com várias outras, ou seja, o comportamento médio dessa linhagem numa série de híbridos. Os mesmos autores associaram a CGC com a ação aditiva dos genes,

enquanto a capacidade específica de combinação (CEC) referia-se ao comportamento de uma linhagem quando cruzada com outra, originando um híbrido simples e associaram a CEC aos efeitos de dominância, epistasia ou interação genótipo x ambiente.

A avaliação final de uma linhagem é feita com base no seu comportamento em híbridos. No início, o valor de uma linhagem só era avaliado depois que a mesma atingisse um avançado grau de homozigose e essa avaliação era feita por meio de cruzamentos, o que tornava o trabalho demorado e dispendioso, pois, mesmo com um pequeno número de linhagens, é grande o número de híbridos possíveis de serem sintetizados (Miranda Filho e Viégas, 1987).

Miranda Filho e Viégas (1987) relatam que o uso do top cross se tornou um método geral para avaliar o comportamento preliminar das linhagens, principalmente a capacidade geral de combinação e que o emprego do híbrido simples como testador tem sido muito utilizado, pois permite avaliar muitas linhagens e dá informações de uso mais imediato.

Bellucci (1995), utilizando a metodologia proposta por Chaves e Miranda Filho (1993) em populações derivadas de híbridos comerciais, a qual não considera o efeito de heterose específica e permite a avaliação de um número bem maior de cultivares que no dialelo, obteve boa avaliação de cultivares utilizadas no top cross, mostrando ser este um bom método quando não se deseja identificar cruzamentos específicos. O autor concluiu também que os híbridos comerciais são uma fonte muito boa de germoplasma para programas de melhoramento que busquem cultivares com bom potencial de produtividade.

Comparando três testadores para a discriminação e avaliação da capacidade de combinação de 64 famílias S_2 de milho, provenientes do composto

CMS-39, Elias (1997) constatou que só foi possível discriminar os testadores em função da capacidade de combinação e das estimativas das heteroses.

2.4 Correlações entre linhagens S_1 *per se* e em top cross

O estudo de correlações entre caracteres em milho tem sido muito intenso e envolve diversos germoplasmas, tais como linhagens, híbridos e progênies de populações. No caso específico de linhagens, o sentido e a magnitude das correlações devem interferir mais ou menos intensamente no critério de seleção das linhagens (Miranda Filho e Viégas, 1987).

As correlações envolvendo caracteres de progênies endógamas S_1 ou S_2 , com seus respectivos top crosses, têm chamado a atenção dos melhoristas de milho. Vários são os trabalhos abordando este assunto, entre os quais verifica-se o de Jenkins (1929), citado por Miranda Filho e Viégas (1987), no qual apresenta uma ampla lista de correlações, sendo as de maior interesse aquelas que envolvem a produção de grãos. O autor encontrou algumas correlações positivas mas que não apresentaram valores suficientemente altos para assegurar uma previsão dos caracteres nos híbridos, com base nos mesmos caracteres nas linhagens.

Lonnquist e Lindsey (1964) compararam 169 progênies S_1 *per se* e em top cross com um testador aparentado e outro não aparentado. Os resultados mostraram que o progresso na seleção para a produção utilizando S_1 *per se* e top cross com um testador não aparentado foi dependente de diferentes efeitos genéticos, principalmente aditivos e a correlação encontrada entre a produção das S_1 e seus respectivos top crosses foi significativa, mas não de magnitude suficiente para ter valor preditivo.

Posteriormente, Lonnquist (1968) relatou que a seleção das linhagens baseada no comportamento dos top crosses, utilizando a população parental como testador, originou variedades sintéticas com rendimento superior ao das baseadas em progênes S_1 , selecionadas por meio de um testador não aparentado.

Genter e Alexander (1966) compararam o comportamento das linhagens S_1 *per se* e em cruzamentos *testcross* da população *Corn Belt Southern Synthetic* (CBS). O comportamento das linhagens S_1 *per se* foi superior aos *testcrosses* para aumentar a produção e a capacidade geral de combinação das populações. No entanto, a seleção feita com base nos *testcrosses* foi eficiente apenas no aumento da frequência alélica, contribuindo para elevar a produção nos cruzamentos, mas não nas populações.

Ao correlacionarem a produção das 153 linhagens S_1 , da população CBS, com seus top crosses, os mesmos autores (Genter e Alexander, 1966) encontraram valores de $r = 0,61^{**}$, sendo que seis das 10 linhagens mais produtivas estavam entre as que originaram os 10 top crosses mais produtivos. Correlacionando a produção das 60 linhagens S_1 , derivadas da população CBS-TC1, com seus top crosses, obtiveram $r = 0,47^{**}$, sendo que quatro das 10 linhagens S_1 mais produtivas estavam entre aquelas que originaram os top crosses com maior produção.

Por sua vez, Duclos e Crane (1968), estimando a correlação fenotípica das progênes S_1 com seus top crosses para a produção de grãos, encontraram valores de $r = 0,42^{**}$, o que, segundo os autores, evidencia a relação entre os métodos de avaliação, apesar deste valor ser pequeno para fins de predição.

Correlacionando a produção de grãos entre progênes de meios irmãos avaliados *per se* e em top cross das variedades de milho Piramex e Cateto, Illg (1969) obteve valores de $r = 0,48^*$ para a variedade Piramex e $r = 0,26^*$ para a variedade Cateto.

Carangal et al. (1971) relataram que a seleção de progênies S_1 para produção de grãos foi melhor na população *per se* e semelhante à seleção de *testcross* para melhorar a capacidade geral de combinação.

Gama e Hallauer (1977) determinaram as correlações de oito caracteres entre linhagens endogâmicas e seus híbridos, e encontraram valores muito baixos para serem utilizados para a predição.

Por outro lado, Hallauer e Miranda Filho (1988) apresentaram um resumo dos estudos de correlação entre linhagens e híbridos, tendo alguns estudos evidenciado que certas linhagens têm maior capacidade de transmitir seus caracteres aos híbridos. No entanto, geralmente, as correlações, embora positivas em muitos casos, não foram altas o suficiente para serem consideradas no processo de seleção; em outros casos, entretanto, as correlações positivas foram suficientes para serem consideradas na seleção. Estes autores afirmam que o valor real de uma linhagem deve ser avaliado em combinação híbrida, porém, o processo de seleção deve conduzir à obtenção de linhagens com certos padrões de vigor e produtividade antes de serem testadas nessas condições.

De acordo com Santos (1985), as comparações entre progênies S_1 avaliadas *per se* e em top cross apresentam divergência nos resultados. Entretanto, vários trabalhos evidenciam a existência de uma alta correlação entre os dois métodos de avaliação. O emprego de um testador que não discrimina eficientemente as linhagens testadas provavelmente mascara as diferenças entre os genótipos.

Smith (1986) estudou teoricamente a relação entre o comportamento das linhagens *per se* e em top cross para explicar as possíveis razões para os baixos valores das correlações. Os resultados mostraram que, para caracteres condicionados por um grande número de locos exibindo dominância completa, espera-se que as correlações sejam menores que 0,5, provavelmente devido aos

efeitos mascaradores de alelos favoráveis dominantes no testador. A baixa correlação encontrada parece indicar que a quantidade de ação gênica não aditiva está afetando o comportamento dos top crosses.

Na mesma linha, Bernardo (1991) verificou que as correlações genéticas esperadas entre top cross de linhagens em diferentes gerações e nas F_{∞} , variavam de 0,71 a 1,00, de modo que esta correlação aumentou quando as diferenças entre seus coeficientes de endogamia diminuíram. Os resultados mostraram que a correlação entre top crosses de linhagens S_3 e de linhagens S_6 já é suficientemente alta para possibilitar que a seleção seja praticada em gerações precoces como S_3 .

Arias, Takeda e Souza Júnior (1994) estimaram os coeficientes de correlação fenotípica entre linhagens S_1 e top crosses intra e interpopulacionais de 0,20* e 0,17*, respectivamente, para a população BR-105. Para a população BR-106, os valores encontrados foram 0,38** e 0,42**, respectivamente, indicando uma relação mais estreita entre os top crosses e as progênies S_1 para a população BR-106.

Elias (1997) verificou que as estimativas das correlações do desempenho das progênies dos testadores BR-201, CMS-39 e CMS-50 e também *per se* foram praticamente nulas, evidenciando que o comportamento das famílias em top cross varia com o testador e que o seu comportamento *per se* não possibilita prever o comportamento em combinações híbridas, embora algumas progênies se destacaram tanto *per se* como nessas combinações.

Pelo que se pode constatar, o top cross é um procedimento muito utilizado no processo de seleção precoce de linhagens, embora existam muitos resultados discordantes, decorrentes, principalmente, da escolha de testadores que não discriminam eficientemente as linhagens testadas. Dessa forma, outros procedimentos que venham a contribuir para aumentar a sua eficiência

certamente serão benéficos para a obtenção de linhagens superiores. O emprego de marcadores moleculares, por exemplo, poderá oferecer esta contribuição.

2.5 Divergência genética e heterose

O conhecimento da distância genética entre genótipos é muito útil em um programa de melhoramento porque permite uma melhora na eficiência da amostragem e utilização de germoplasmas. Os melhoristas podem usar estas informações para tomar decisões como a escolha de genótipos para o desenvolvimento de populações ou para facilitar a identificação de diversos genitores para a obtenção de combinações híbridas, a fim de maximizar a expressão da heterose (Santos et al., 1994).

A diversidade genética entre um grupo de genitores tem sido avaliada com o objetivo de identificar combinações híbridas de maior efeito heterótico e maior heterozigose, de modo que, nas suas gerações segregantes, seja possível a recuperação de genótipos superiores (Cruz e Regazzi, 1997).

A divergência genética pode ser quantificada por meio da realização de cruzamentos ou avaliada por meio de métodos preditivos. Os métodos preditivos, por dispensarem a obtenção prévia das combinações híbridas, têm merecido considerável destaque (Cruz e Regazzi, 1997).

Apesar de a divergência genética ser uma condição necessária para que haja heterose, ela não é suficiente para que a heterose se manifeste, pois depende da magnitude das diferenças de frequências alélicas e da dominância para todos os locos envolvidos (Cress, 1966).

A heterose pode ser definida como sendo o vigor manifestado em cruzamentos entre indivíduos geneticamente divergentes, aumentando o valor dos

caracteres quantitativos observados nos híbridos em relação aos pais (Suresh e Khanna, 1975).

Segundo Falconer (1981), a heterose é função dos efeitos de dominância dos genes para o caráter em questão e do quadrado da diferença das frequências alélicas dos genitores, além dos efeitos epistáticos que, geralmente, não são considerados. A predição da medida da distância, antes que qualquer cruzamento seja realizado, poderá auxiliar os melhoristas a concentrar seus esforços apenas nas combinações mais heteróticas, pois a heterose manifestada nos cruzamentos está diretamente relacionada à distância genética.

Na prática, a estimativa de correlações entre heterose da produção de híbridos F_1 's e as distâncias multivariadas entre os genitores correspondentes têm sido utilizadas por vários autores. Dentre eles, destacam-se Maluf, Ferreira e Miranda (1983) que, num trabalho sobre tomate, encontraram correlações de 0,81 e 0,89 para as distâncias euclidianas e de Mahalanobis, respectivamente, com a heterose da produção, ficando demonstrada a eficiência da técnica utilizada neste estudo.

Em relação ao milho, os melhoristas freqüentemente consideram os grupos heteróticos, para os quais não há nenhuma definição clara e objetiva nos relatos encontrados na literatura. Este termo foi estabelecido empiricamente pela relação da heterose observada nos cruzamentos envolvendo diferentes cultivares de polinização aberta (Hallauer, Russel e Lamkey, 1988). Sua importância para o melhorista reside no fato de que os cruzamentos entre grupos heteróticos distintos resultam em uma alta heterose.

Segundo Vencovsky (1987), a capacidade geral de combinação (CGC) depende da diferença nas frequências alélicas das populações envolvidas e do tipo de ação gênica. Para um único loco, são esperadas altas CGCs, geralmente para materiais com maior frequência de alelos favoráveis em relação à frequência

alélica média dos genitores utilizados. Por outro lado, a capacidade específica de combinação (CEC) depende apenas dos efeitos de dominância. Desse modo, quando dois genitores forem semelhantes ou apresentarem pouca divergência genética, ou seja, possuírem altas ou baixas frequências alélicas nos mesmos locos, é de se esperar um baixo valor para a CEC.

O estudo de divergência genética surgiu como um método alternativo para selecionar aqueles materiais mais promissores e diminuir os gastos e o tempo necessário para a realização de várias combinações híbridas que, muitas vezes, são desnecessárias. Isto faz com que se concentrem os esforços apenas nas combinações mais promissoras, ou seja, entre os genitores mais divergentes. É opinião de alguns autores que quanto maior a divergência genética entre os materiais a serem cruzados, maior será a heterose e, em consequência, também a produtividade. Sendo assim, os trabalhos sobre divergência genética objetivam avaliar sua intensidade entre os cruzamentos e verificar as relações entre divergência genética, capacidade de combinação e heterose (Ferreira, 1993; Fuzzato, 1999; Melo, 2000).

2.6 Seleção assistida por marcadores moleculares

As estimativas de divergência genética obtidas pela análise das informações fornecidas pelos marcadores moleculares têm aparecido com uma certa frequência nos trabalhos mais recentes. Elas são obtidas por vários tipos de marcadores moleculares e analisadas por um grande número de metodologias. Diversos estudos já foram realizados para verificar se é possível fazer predições, tendo como base a divergência genética.

Quatro tipos de marcadores genéticos têm sido utilizados em plantas: morfológicos, citológicos, bioquímicos e moleculares (Borém, 1998). Um

marcador molecular pode ser definido como todo e qualquer fenótipo derivado de um gene expresso, como no caso de proteínas e caracteres morfológicos, ou de um segmento específico de DNA (correspondente a regiões expressas ou não do genoma), cuja seqüência e função podem ser conhecidas ou não e cujo comportamento está de acordo com as leis básicas de herança (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Até meados da década de 1960, os marcadores utilizados em estudos de genética e melhoramento eram controlados por genes associados a caracteres morfológicos. Em geral, são fenótipos de fácil identificação visual, como nanismo, deficiência de clorofila, cor de pétala ou morfologia foliar, de acordo com Ferreira e Grattapaglia (1998). Segundo os mesmos autores, os marcadores morfológicos contribuíram significativamente para o desenvolvimento teórico da análise de ligação gênica e para a construção das primeiras versões de mapas genéticos. Entretanto, o pequeno número de marcadores, restrito às poucas espécies de plantas utilizadas nestes estudos, limitaram cada vez mais o seu emprego.

Os marcadores citológicos são de difícil monitoramento em cruzamentos e capazes de alterar o fenótipo da planta originando indivíduos que não podem ser utilizados e, por isso, de uso menos difundido (Hu e Quiros, 1991).

Mais recentemente, os marcadores bioquímicos, principalmente as isoenzimas e proteínas de reserva, têm sido utilizados na caracterização de germoplasma e, de forma mais limitada, na seleção indireta. À semelhança dos marcadores morfológicos e citológicos, os marcadores bioquímicos também existem em número limitado e com baixo nível de polimorfismo (Borém, 1998).

Os marcadores moleculares surgiram com o advento das técnicas de biologia molecular e por meio de diversos métodos de detecção de polimorfismo genético obtidos diretamente do DNA. O número de marcadores disponíveis

passou a ser virtualmente ilimitado, podendo ser obtido em qualquer organismo vivo e a sua utilização ampliada para a grande maioria das espécies até então pouco estudadas (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Os marcadores moleculares vêm sendo utilizados na construção de mapas genéticos e na seleção de germoplasma em programas de melhoramento, permitindo a caracterização de diferentes genótipos *fingerprint* na determinação de relacionamentos filogenéticos e da similaridade entre genótipos e na clonagem de genes baseada em mapeamento *positional cloning* ou *map-based cloning* (Tsaftaris, 1995; Ajmone Marsan et al., 1998).

Os diferentes tipos de marcadores moleculares, atualmente disponíveis, distinguem-se pela tecnologia utilizada para revelar variabilidade pela análise do DNA. Os principais tipos de marcadores moleculares podem ser classificados em dois grupos, conforme a metodologia utilizada para identificá-los: hibridação ou amplificação de DNA. Entre os identificados por hibridação estão os marcadores RFLP *Restriction Fragment Length Polymorphism* e minissatélites ou locos VNTR *Variable Number of Tandem Repeats*. Já aqueles revelados por amplificação incluem os marcadores do tipo RAPD *Random Amplified Polymorphic DNA*, SCAR *Sequence Characterized Amplified Regions*, microssatélites ou SSR *Simple Sequence Repeats* e AFLP *Amplified Fragment Length Polymorphism* (Milach, 1998).

2.6.1 Marcadores PCR e RAPD

A tecnologia da reação da polimerase em cadeia (“PCR – Polymerase Chain Reaction”) foi concebida por Mullis em meados da década de 80 (Mullis e Faloona, 1987 e Saiki et al., 1985, citados por Ferreira e Grattapaglia, 1998). Desde sua concepção, esta tecnologia causou uma verdadeira revolução na

biologia, tanto na pesquisa visando o entendimento dos processos biológicos fundamentais, como nas áreas aplicadas envolvendo diagnósticos de doenças e melhoramento genético de plantas e animais domésticos.

O grande avanço no uso de marcadores moleculares na caracterização biológica, baseados em PCR, ocorreu em 1990, com a idéia de utilizar iniciadores mais curtos e de seqüência arbitrária para dirigir a reação de amplificação, eliminando assim a necessidade do conhecimento prévio da seqüência-alvo. Esta técnica, mais conhecida pelo nome RAPD, do inglês Random Amplified Polymorphic DNA, foi desenvolvida independentemente por Williams et al. (1990) e Welsh e McClelland (1990). Constitui-se em uma variação da PCR, diferenciando-se por utilizar um iniciador único em vez de um par de iniciadores, possuindo uma seqüência de nucleotídeos arbitrária (Tingey, Rafalski e Williams, 1992).

Um ciclo de PCR envolve três etapas: desnaturação da molécula de DNA (ao redor de 94°C), anelamento do iniciador (ao redor de 36°C) e extensão do iniciador pela DNA polimerase (ao redor de 72°C). Esta última envolve a adição de nucleotídeos utilizando como molde a seqüência-alvo, de modo que uma cópia desta seqüência é feita no processo. Este ciclo é repetido algumas dezenas de vezes. Uma vez que a quantidade de DNA da seqüência-alvo dobra a cada ciclo, depois de apenas 20 ciclos são produzidas mais de um milhão de cópias da seqüência-alvo. Essa escala de amplificação possibilita que se inicie com quantidades mínimas de DNA (na ordem de alguns picogramas ou nanogramas) e termine a reação com grandes quantidades de DNA de uma seqüência específica de interesse (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

A síntese de DNA *in vitro* em alta velocidade (40 ciclos entre 1 a 4 horas) só foi possível graças à descoberta de uma DNA polimerase especial denominada Taq polimerase, isolada da bactéria *Thermus aquaticus* que vive em

fontes térmicas e que resiste à temperatura de até 95°C, necessária para a desnaturação do DNA durante o processo de síntese (Santos, 1998).


A reação de RAPD é realizada em um termociclador programado para fornecer as temperaturas e respectivos tempos adequados para completar cada ciclo de amplificação. O termociclador, além de efetuar as mudanças na temperatura, também a mantém na faixa desejada pelo tempo mínimo necessário a cada fase da reação. O tempo de duração da reação varia de acordo com o termociclador e o número de ciclos utilizados (Milach, 1998).

Os produtos de amplificação são normalmente separados em um gel de agarose e visualizados sob luz ultravioleta, quando corados com brometo de etídio ou por coloração com prata em géis de poliacrilamida (Williams et al., 1990).

Além das vantagens já descritas para os marcadores de DNA, os marcadores RAPD apresentam ainda as vantagens adicionais de serem tecnicamente mais acessíveis e possuírem um custo mais baixo (Santos et al., 1994).

Os problemas de repetibilidade do RAPD entre laboratórios, devido às diferentes condições da reação de amplificação, podem ser superados pela padronização da técnica (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Atualmente, é possível aumentar a repetibilidade de um marcador RAPD de interesse, convertendo-o em um marcador mais específico denominado SCAR (Milach, 1998).

Outra característica fundamental dos marcadores RAPD é o fato de eles comportarem-se como marcadores genéticos dominantes, embora a dominância neste caso não se refira ao conceito clássico de interação entre alelos de um mesmo loco e sim puramente do ponto de vista da interpretação relativa entre genótipo e fenótipo de um indivíduo (Ferreira e Grattapaglia, 1998).



Desde que foram descritos, a utilização de marcadores RAPD na análise genética e no melhoramento de plantas tem tido uma difusão extremamente rápida, sendo, provavelmente, hoje, o marcador molecular de maior utilização na área vegetal. Ferreira e Grattapaglia (1998) citam a aplicação dos marcadores RAPD na obtenção de *fingerprints* genômicos de indivíduos, cultivares e populações; na análise da estrutura e diversidade genética em populações naturais, populações de melhoramento e bancos de germoplasma; na determinação de relacionamentos filogenéticos entre diferentes espécies; na construção de mapas genéticos de alta cobertura genômica e na localização de genes de interesse econômico.

2.6.2 Marcadores moleculares e divergência genética

Em trabalhos com milho, a técnica RAPD tem sido utilizada para a identificação das linhagens genitoras de híbridos (Ajmone-Marsan et al., 1998), estudos de diversidade e distância genética (Heun e Helentjaris, 1993; Souza, 1996; Lanza et al., 1997; Pinto, 2000) e identificação de polimorfismo e de alelos de resistência a pragas (Silva, 1997).

Diversos estudos demonstraram que a distância genética quantificada por meio de isoenzimas não era um eficiente prognóstico para a produtividade de grãos ou a resposta heterótica (Frei, Stuber e Goodman, 1986) e que relacionamento de pedigree era um indicador mais eficiente (Smith e Smith, 1989). Em programas de melhoramento, a previsão da produtividade dos híbridos com base no conhecimento das linhagens genitoras ou alocação das linhagens em grupos heteróticos tem importantes aplicações práticas.

O grande número de marcadores disponíveis permite uma amostragem extensiva dos genomas de interesse pela análise de DNA, sem influência do

ambiente. Na maioria dos modelos utilizados, cada marcador é analisado como tendo um caráter distinto e independente dos demais. A interpretação deste tipo de dado é feita de maneira simples: bandas em comum entre genótipos representam similaridades genéticas, enquanto que bandas não comuns representam diferenças genéticas. Vários métodos estatísticos (análise multivariada de coordenadas principais, análise de agrupamento, etc.) podem ser aplicados sobre matrizes de coeficientes de distância ou similaridade (Nei, Rogers, Jaccard, etc.) para a análise e discussão destes tipos de dados (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Estudando vários coeficientes de similaridade, Duarte (1998) verificou que os resultados do agrupamento das cultivares com os coeficientes de Jaccard e Dice foram idênticos, embora o segundo tenha sido considerado mais adequado para o estudo da divergência genética entre os cultivares de feijão, utilizando marcadores RAPD.

A importância da heterose e a necessidade de desenvolver metodologias confiáveis para identificar populações ou linhagens com caracteres desejáveis, identificação e mapeamento desses caracteres em linhagens e populações divergentes, realização da introgressão desses caracteres em linhagens elites e predição do comportamento de híbridos sem a necessidade de testar todas as combinações possíveis são temas abordados por Stuber (1994). O mesmo autor relata ter utilizado retrocruzamentos em milho para fazer a introgressão de segmentos específicos, associados a características de herança complexa como a produtividade de grãos. Nesse estudo, demonstrou que o sucesso da introgressão foi facilitado pelo uso de marcadores isoenzimáticos.

Os marcadores moleculares do tipo RFLP, RAPD ou microssatélites permitem a confecção de mapas que cobrem o genoma com rapidez e uma certa facilidade. Souza Jr. (1997) considera que, uma vez mapeado o genoma de

espécies ou populações, pode-se mapear os locos que controlam características quantitativas, ou seja, o mapeamento de QTL's (Quantitative Trait Loci), os quais podem auxiliar os processos de melhoramento permitindo a seleção precoce ou o aproveitamento destas informações em índices de seleção, facilitando o uso da seleção assistida por marcadores moleculares (MAS - Marker Assisted Selection).

Na cultura do milho, alguns autores verificaram uma forte associação entre a divergência genética obtida por marcadores moleculares e a divergência obtida pelos caracteres morfo-agronômicos. Entre eles, destacam-se os trabalhos de Smith et al. (1990) e de Smith e Smith (1991) que encontraram altas correlações ($r = 0,90$) e ($r = 0,91$), respectivamente, entre os dois tipos de divergência, trabalhando com híbridos de milho.

Na cultura do feijão, Duarte (1998), também encontrou uma alta correlação (0,89), da estimativa da divergência genética usando marcadores RAPD, com a estimativa da divergência genética utilizando caracteres morfo-agronômicos (distâncias de Mahalanobis).

Utilizando linhagens endogâmicas de germoplasma tropical, Lanza et al. (1997) encontraram correlações diretas e positivas entre as distâncias genéticas baseadas em RAPD e a produtividade de grãos de híbridos simples de milho. Os mesmos autores relatam que estas distâncias poderiam ser usadas para prever cruzamentos de maior desempenho na produção de grãos e para alocar genótipos em diferentes grupos heteróticos, reduzindo sensivelmente o número de cruzamentos para serem avaliados.

Ajmone-Marsan et al. (1998) compararam o uso de marcadores RFLP e AFLP com o objetivo de determinar a divergência genética entre 13 linhagens de milho, assim como verificar a relação entre distância genética e o desempenho dos híbridos em cruzamentos dialélicos. Os resultados mostraram que houve uma

que houve uma variação considerável entre as linhagens, detectada pelos dois tipos de marcadores. Entretanto, a eficiência em detectar polimorfismos foi maior nos AFLP's comparados com os RFLP's. As correlações entre distância genética com o desempenho dos híbridos simples para o caráter produção de grãos foram positivas, mas pequenas. Os autores concluíram que as correlações das distâncias genéticas específicas, utilizando dados de AFLP como os efeitos da capacidade específica de combinação para a produção de grãos, podem ser úteis na predição de híbridos.

As estimativas das distâncias genéticas obtidas por meio de marcadores moleculares foram tão eficientes quanto aquelas obtidas pelas distâncias generalizadas de Mahalanobis na escolha de genitores promissores para cruzamentos em feijão, principalmente quando o interesse é por populações segregantes em vários caracteres agronômicos (Machado, 1999).

Por outro lado, Melo (2000) estudando a correlação entre a estimativa da divergência genética avaliada por meio de caracteres morfo-agronômicos e a estimada por meio de marcadores RAPD para 10 híbridos de milho, encontrou um valor de pequena magnitude, apesar de significativo, indicando que estas medidas são distintas e complementares.

Trabalhando com linhagens adaptadas e não adaptadas de soja, Barroso (2000) concluiu que a distância genética baseada em marcadores RAPD e a distância genética geral pode ser utilizada como método preditivo para selecionar genitores de populações mais promissoras e para identificar a linhagem não adaptada mais adequada, com relação a alguns caracteres, incluindo a produção de grãos, principalmente quando as linhagens não foram avaliadas em experimentos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Os experimentos de campo foram conduzidos na área experimental do Departamento de Biologia, localizado no Campus da Universidade Federal de Lavras - UFLA e as análises de RAPD foram realizadas no Laboratório de Genética Molecular do mesmo departamento. O município de Lavras está situado a 21° 14' de Latitude Sul, 45° 00' de Longitude Oeste e altitude de 910 m. A temperatura média anual é de 18,5°C.

3.2 Material

Foram utilizadas 100 espigas F_2 obtidas por autofecundação de plantas F_1 , escolhidas em uma população constituída pelo híbrido simples modificado P 3072 (super precoce, duro e alaranjado) da Pioneer, produzidas no ano agrícola de 1994/95, como parte do programa de melhoramento de milho da Universidade Federal de Lavras-MG.

3.3 Metodologia

O trabalho foi conduzido em quatro etapas: a) obtenção das famílias S_1 ; b) obtenção dos híbridos top crosses por meio do cruzamento das famílias S_1 com um testador; c) avaliação dos top crosses e das famílias S_1 em ensaio de campo e d) análise molecular de uma amostra de 20 famílias S_1 mais o testador, utilizando marcadores RAPD.

3.3.1 Obtenção das famílias S₁

No ano agrícola 1996/1997 foram semeadas 100 espigas da população S₀, ou seja, a geração F₂ do híbrido P 3072, em linhas de 5m, espaçadas de 0,90 m com a densidade, após o desbaste, de 5 plantas/metro linear. A adubação e os tratos culturais foram realizadas de acordo com as recomendações técnicas para a cultura do milho na região.

Por ocasião do florescimento, foram selecionadas quatro plantas de cada linha e nelas foram protegidas as primeiras espigas antes da emissão do estilo-estigma. Após a emissão deste, foi coletado o pólen de cada planta e aplicado sobre suas espigas protegidas. Foram colhidas de uma a quatro espigas, originadas por autofecundação, de cada linha. Após a debulha, os grãos foram misturados, constituindo-se uma família S₁.

3.3.2 Obtenção dos híbridos top crosses

No ano agrícola 1997/1998, as sementes das famílias S₁ foram semeadas e cruzadas com um testador comum (o híbrido P 3072). As famílias S₁ foram semeadas em fileiras femininas e o testador como fileira masculina. Foi utilizada a proporção de quatro linhas femininas para uma masculina. Para evitar possíveis contaminações, as espigas a serem cruzadas com o testador foram protegidas com sacos plásticos durante o florescimento, realizando-se, então, a polinização artificialmente. Foram realizados 20 cruzamentos em cada linha.

As linhas femininas (famílias S₁) com 4m de comprimento foram semeadas na mesma data, utilizando-se a densidade de cinco plantas/metro. O testador foi semeado em duas datas diferentes, isto é, junto com as famílias e uma semana após, de forma a garantir a polinização.

3.3.3 Avaliação dos top crosses e das famílias S₁

A avaliação dos top crosses e das famílias S₁ foi realizada no ano agrícola 98/99. Foram avaliados 98 híbridos top crosses e 98 famílias S₁, utilizou-se um látice 14 x 14, com duas repetições.

Cada parcela foi constituída de uma linha de quatro metros, no espaçamento de 0,90 m. Foram semeadas oito sementes/metro linear, de forma a garantir a densidade final desejada de cinco plantas/metro após o desbaste que foi realizado aos 15 dias após a emergência, deixando-se 20 plantas/parcela.

No sulco de semeadura foram aplicados 700 kg/ha da fórmula 4-14-8. A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada aos 35 dias após a emergência, utilizando-se 40 kg/ha de nitrogênio na forma de sulfato de amônio.

O controle das ervas daninhas foi efetuado após a semeadura com o herbicida pré-emergente Primextra na quantidade de 4 l/ha, complementado por uma capina manual, aos 40 dias após a emergência das plantas.

Foram avaliados os seguintes caracteres:

- altura da planta (AP): altura, em centímetros, do solo até a inserção da folha bandeira, medida em uma planta da parcela;

- altura da espiga (AE): altura, em centímetros, do solo até a inserção da primeira espiga, obtida de forma semelhante a AP;

- estande final (EF): número total de plantas na parcela por ocasião da colheita;

- número de espigas (NE): número de espigas por parcela;

- peso de espigas despalhadas (PE): peso de espigas da parcela, em kg por parcela;

- peso de 100 grãos (PC): peso, em g, de uma amostra de 100 grãos/parcela;

- prolificidade (PR): obtido pela relação entre o número de espigas (NE) e o estande final (EF) e multiplicado por 100.

Os dados referentes ao peso de espigas despalhadas foram corrigidos para a umidade padrão de 14%. Para isso foi utilizada a seguinte expressão:

$$P_{14} = PE (1 - U)/(0,86),$$

na qual:

P_{14} (%): peso de espigas despalhadas, corrigido para 14% de umidade;

PE: peso de espigas despalhadas observado;

U: umidade observada.

3.3.4 Análise estatística e genética dos dados

A análise de variância para o peso de espigas despalhadas foi realizada utilizando-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = m + t_i + r_j + b_{k(j)} + e_{ijk},$$

no qual:

Y_{ijk} : valor observado do tratamento i , no bloco k , dentro da repetição j ;

m : média geral do experimento;

t_i : efeito aleatório do tratamento i , $i = 1, 2, \dots, 196$;

r_j : efeito aleatório da repetição j , $j = 1, 2$;

$b_{k(j)}$: efeito do bloco k , dentro da repetição j , $k = 1, 2, \dots, 14$;

e_{ijk} : erro experimental associado à observação Y_{ijk} NID $(0, \sigma^2)$

Os componentes da variância foram estimados considerando-se aleatórios os efeitos de tratamentos, repetições e blocos. O esquema da análise de variância, bem como as esperanças dos quadrados médios, estão especificados na Tabela 1.

Os dados foram analisados com auxílio do software MSTAT-C (1991). Para realizar o teste F, foi utilizado o quadrado médio do tratamento ajustado e o quadrado médio do residuo. As médias obtidas foram ajustadas considerando-se a recuperação da informação interblocos.

As médias ajustadas do caráter peso de espigas despalhadas (PE) dos dois tipos de famílias foram utilizadas para a representação gráfica da distribuição de freqüências.

Com o objetivo de se obter as estimativas dos componentes de variância e demais parâmetros genéticos e fenotípicos, os caracteres avaliados nas famílias S₁ e nos híbridos top crosses S₁, foram analisados separadamente, para cada tipo de família, considerando o delineamento de blocos casualizados, cujo esquema de análise de variância é apresentado na Tabela 2. Para essa análise utilizou-se o programa "GENES" desenvolvido por Cruz (1997).

TABELA 1. Esquema de análise de variância para o delineamento em látice.

Fontes de Variação	Graus de liberdade	E (QM)	
Repetição	(r - 1)		Q ₁
Bloco/repetição	(b - 1)r		Q ₂
Tratamento (ajustado)	(t - 1)	$\sigma_e^2 + r\sigma_g^2$	Q ₃
Erro efetivo	r(t - b) - t + 1	σ_e^2	Q ₄
Total	rt - 1		

TABELA 2. Esquema de análise de variância para o delineamento de blocos casualizados utilizado nas análises das famílias S_1 e top crosses.

Fontes de variação	Graus de liberdade	E (QM)	
Blocos	$(b - 1)$		Q_1
Tratamentos	$(g - 1)$	$\sigma_e^2 + b\sigma_g^2$	Q_2
Erro	$(b - 1)(g - 1)$	σ_e^2	Q_3

O modelo estatístico utilizado nestas análises foi o seguinte:

$$Y_{ij} = m + g_i + b_j + e_{(ij)}$$

em que:

Y_{ij} : valor observado no tratamento i , no bloco j ;

m : média geral do experimento;

g_i : efeito aleatório do tratamento i , $i = 1, 2, \dots, g$;

b_j : efeito aleatório do bloco j , $j = 1, 2, \dots, b$;

$e_{(ij)}$: erro experimental associado à observação Y_{ij} .

3.3.4.1 Estimadores dos componentes de variância e parâmetros genéticos e fenotípicos

Partindo das esperanças matemáticas dos quadrados médios (Tabela 2) foram estimados os componentes de variância e os parâmetros genéticos e fenotípicos (Tabela 3).

A herdabilidade no sentido amplo (h^2) foi obtida pelo quociente entre a variância genética entre tratamentos e a variância fenotípica média entre tratamentos.

TABELA 3. Estimadores dos componentes de variância e dos parâmetros genéticos e fenotípicos dos top crosses e das famílias S₁.

Estimadores	Parâmetros	Expressões
σ_g^2	Variância genética entre tratamentos	$(Q_2 - Q_3)/b$
σ_f^2	Variância fenotípica média entre tratamentos	Q_2/b
h^2	Herdabilidade no sentido amplo	$[(Q_2 - Q_3)/b] / [Q_2/b]$
CV_g	Coef. variação genético entre médias	$\sigma_g / \bar{X} \cdot 100$

em que:

σ_g : desvio padrão genotípico;

σ_e^2 : variância do erro experimental;

b : número de blocos;

\bar{X} : média dos tratamentos.

3.3.4.2 Estimativa do intervalo de confiança da herdabilidade

Os intervalos de confiança para as estimativas das herdabilidades, limite inferior e superior, foram calculados conforme as expressões propostas por Knapp, Stroup e Ross (1985) (Tabela 4).

TABELA 4. Expressões utilizadas para o cálculo dos intervalos de confiança das estimativas de herdabilidade.

LS	Limite superior de confiança	$LS = 1 - [(Q_2/Q_3) F_{1-\alpha/2}(g_{l_2}; g_{l_3})]^{-1}$
LI	Limite inferior de confiança	$LI = 1 - [(Q_2/Q_3) F_{\alpha/2}(g_{l_2}; g_{l_3})]^{-1}$

em que:

Q_2 : quadrado médio de tratamentos;

Q_3 : quadrado médio do erro;

F: valor tabelado ao nível $1 - \alpha/2$;

α : nível de significância (no caso 0,05);

gl_2 e gl_3 : graus de liberdade de Q_2 (famílias) e Q_3 (erro), respectivamente.

3.3.5 Estudo de correlações entre caracteres

Foram estimados os coeficientes de correlações genotípicas (r_g), fenotípicas (r_f) e ambientais (r_e) entre os caracteres AE, AP, PR e PE das famílias S_1 e dos híbridos top crosses.

As estimativas das correlações foram obtidas conforme a metodologia preconizada por Cruz e Regazzi (1997), realizando-se análises individuais para estimação dos coeficientes de correlação genotípica, fenotípica e de ambiente, conforme modelo estatístico apropriado e análise da soma dos valores X e Y, de tal forma que os produtos médios (covariâncias), associados a cada fonte de variação, possam ser estimados pela expressão:

$$COV = \frac{V(X + Y) - V(X) - V(Y)}{2}$$

Os componentes de covariância podem ser estimados utilizando-se a esperança do produto médio das fontes de variações, que é obtida de maneira equivalente às esperanças dos respectivos quadrados médios da análise de variância, sendo necessário apenas substituir a expressão de variância pela covariância (Cruz e Regazzi, 1997).

Os produtos médios associados a tratamentos e residuo são obtidos por meio das expressões:

$$PMT_{xy} = (QMT_{x+y} - QMT_x - QMT_y)/2$$

e

$$PMR_{xy} = (QMR_{x+y} - QMR_x - QMR_y)/2$$

Os coeficientes de correlação foram obtidos conforme as expressões:

a) correlação fenotípica

$$r_f = \frac{PMT_{xy}}{\sqrt{QMT_x QMT_y}}$$

b) correlação de ambiente

$$r_e = \frac{PMR_{xy}}{\sqrt{QMR_x QMR_y}}$$

c) correlação genotípica

$$r_g = \frac{\sigma_{gy}^2}{\sqrt{\sigma_{gx}^2 \sigma_{gy}^2}}$$

sendo:

$$\hat{\sigma}_{gy} = \frac{PMT_{xy} - PMR_{xy}}{b}$$

$$\hat{\sigma}_{gx}^2 = \frac{QMT_x - QMR_x}{b}$$

$$\hat{\sigma}_{gy}^2 = \frac{QMT_y - QMR_y}{b}$$

em que:

σ_{gy} : estimador da covariância genotípica entre os caracteres X e Y;

σ_{gx}^2 e σ_{gy}^2 : estimadores das variâncias genotípicas dos caracteres X e Y, respectivamente.

3.3.6 Estimativa da divergência genética utilizando caracteres agronômicos

Para os estudos de divergência genética foram utilizados os dados obtidos das seis características agronômicas avaliadas, tanto nas 20 famílias S_1 como nos 20 top crosses, as mesmas que foram estudadas pelos marcadores.

Como medida de dissimilaridade, foi utilizada a distância generalizada de Mahalanobis (D^2), definida pela seguinte expressão (Cruz e Regazzi, 1997):

$$D_{ij}^2 = \delta' \psi^{-1} \delta;$$

em que:

D_{ij}^2 : distância de Mahalanobis entre os genitores i e j;

δ : vetor de desvios entre os genitores i e j, sendo cada desvio a diferença entre as médias dos genitores para cada caráter;

ψ^{-1} : inversa da matriz de variâncias e covariâncias residuais envolvendo todos os caracteres, obtida na análise de variância multivariada.

A partir da matriz de distâncias obtidas por meio da análise multivariada aplicada sobre os caracteres avaliados, utilizando o Programa SAS (1995), verificou-se a similaridade ou dissimilaridade genotípica das 20 famílias S_1 e dos 20 híbridos top crosses a elas associados.

Partindo das distâncias de Mahalanobis (D^2), realizou-se a análise de agrupamento, utilizando o método de otimização de Tocher e a visualização dos resultados por meio da projeção das distâncias no plano, obtidas pelo programa "GENES" desenvolvido por Cruz (1997).

3.3.7 Estimativa da divergência genética utilizando marcadores RAPD

Com o objetivo de estudar a divergência genética utilizando marcadores RAPD, optou-se por amostrar, aleatoriamente no ensaio, 20 famílias S_1 mais o testador.

3.3.7.1 Extração de DNA

No ano agrícola 97/98, por ocasião da obtenção dos top crosses, quando as plantas estavam com quatro a cinco folhas expandidas, foi coletada uma amostra da folha mais nova de cada uma das 20 plantas das 20 famílias S_1 selecionadas. As amostras enroladas em gaze e devidamente etiquetadas foram armazenadas no "Deep Freezer" a -86°C para serem posteriormente liofilizadas. Após a liofilização, foi extraído o DNA de cada amostra representando a família e analisado por meio de marcadores RAPD.

O DNA foi extraído conforme os procedimentos descritos por Saghai-Maroo et al. (1984). Foram utilizados 700 mg de tecido liofilizado, que foram triturados em nitrogênio líquido. Ao material triturado foram adicionados 10 ml de tampão CTAB, após o que foram colocados em tubos para centrifugação a 4.000 rpm. Após 10 minutos, o material centrifugado foi incubado por 90 min em banho-maria a 65°C . A solução do tampão de extração foi constituída de 73 ml de água, 10 ml de tris HCl 1M pH 7.5, 14 ml de NaCl 5M, 2 ml de EDTA

0,5M pH 8,0, 1g de CTAB e 1 ml de β -Mercaptoetanol. Após o banho-maria, foi realizada a primeira extração dos ácidos nucleicos com 5 ml da mistura clorofórmio:álcool isoamil (24:1). Durante a extração, as fases orgânica e aquosa foram separadas por centrifugação a 4000 rpm, sendo coletado o sobrenadante.

A seguir, os ácidos nucleicos foram precipitados pela adição de 6 ml de isopropanol (gelado). O precipitado foi removido com um anzol de vidro e transferido para 3 ml de TE (1Mm Tris, 0,1Mm EDTA) pH 8,0 e deixado a 4°C por uma noite. No dia seguinte, o DNA foi precipitado adicionando-se 150 μ l de NaCl 5M e 3 ml de etanol e, em seguida, removido com um anzol de vidro e transferido para outro tubo contendo 2 ml de WASH 1, solução constituída de 76 ml de álcool etílico 95%, 8 ml de acetato de sódio 2,5M e 16 ml de água, deixando-se por 30 minutos. A incubação em WASH 1 tem como finalidade fazer uma lavagem no DNA.

Após esta etapa, foi realizada uma segunda lavagem do DNA com WASH 2 por 10 segundos, o qual continha 76 ml de álcool etílico 95%, 1 ml de acetato de amônio 1M e 23 ml de água. Em seguida, o DNA foi dissolvido em 500 μ l de TE pH 8.0 e deixado a 4°C por outra noite.

Concluída a extração do DNA, foi realizada a quantificação, para o que utilizou-se fluorímetro Hoeffler Scientific TKO 100.

3.3.7.2 Amplificação do DNA e eletroforese

A reação de RAPD foi preparada em volume de 10 μ l, de acordo com o procedimento utilizado por Nienhuis et al. (1995), com modificações. Cada mistura de reação continha: 20 ng de DNA genômico, 100 μ M de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,4 μ M de um oligonucleotídeo iniciador, 0,6 unidade da enzima Taq DNA polimerase, 50 mM

de tris pH 8,3, 20 mM de KCl, 2 mM de MgCl₂, 5 µg.µl⁻¹ de BSA, 0,25% de Ficoll 400, 10 mM de tartrazine e água pura, totalizando 10 µl.

As reações foram realizadas em tubos capilares de vidro, em um termociclador refrigerado a ar (Idaho Technology, Idaho Falls, Idaho USA). O termociclador foi programado para 40 ciclos, seguindo as seguintes condições: nos dois primeiros ciclos, 60 segundos para desnaturação a 91°C; 7 segundos para anelamento do iniciador a 42°C e 70 segundos para alongação a 72°C. Os 38 ciclos subseqüentes diferiram dos dois primeiros apenas em relação ao tempo de desnaturação, reduzido para 1 segundo. Uma etapa de 4 minutos a 72°C foi programada depois dos 40 ciclos, para alongação final.

Após a amplificação, os produtos da reação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE (0.045 M Tris-Borato e 0.001 M EDTA) a 65 volts por 4 horas, corados com brometo de etídio a uma concentração de 0,5 µg/ml, visualizados em transiluminador de luz ultravioleta Fotodyne e fotografados com filme polaróide 667.

Foram utilizados 35 iniciadores decanucleotídeos adquiridos junto a "Operon Technologies" (Califórnia, EUA), pré-selecionados pela resolução das bandas e por apresentarem polimorfismo. As bandas polimórficas foram classificadas como intensas e médias, baseando-se na resolução e grau de amplificação (avaliação visual).

3.3.7.3 Análise de similaridade genética

Na avaliação dos géis, cada banda foi tratada como um carácter único e a sua presença em um indivíduo foi designada por 1 e a ausência em outro indivíduo por 0 (zero). De posse desses dados, foi construída uma matriz de zero e um, relativa às famílias analisadas.

Os coeficientes de similaridade mais simples relacionam-se com variáveis dicotômicas, nas quais, para cada variável existem apenas dois valores. Os marcadores RAPD são binários, podendo ser incluídos nesse tipo de variável. Para estes tipos de marcadores, existem quatro observações possíveis para comparação entre dois genótipos cuja classificação baseia-se na presença (1) ou na ausência (0) de um marcador para cada genótipo (Tabela 5).

A estimativa da similaridade genética (sg_{ij}) entre cada par de famílias i e j foi efetuada pelo coeficiente de similaridade de Jaccard, utilizando a expressão $sg_{ij} = a/(a + b + c)$.

As similaridades foram transformadas em medidas de distâncias genéticas pela equação: $dg_{ij} = 1 - sg_{ij}$ e os erros associados a cada distância foram estimados segundo Skroch, Tivang e Nienhuis (1992), pelas expressões:

$$V = nd(1 - d)/(n - 1)$$

$$\text{Erro padrão estimado} = (V/n)^{1/2},$$

em que:

V : variância da distância genética entre cada par de famílias;

d : distância genética entre cada par de famílias;

n : número total de bandas utilizadas na estimativa da distância genética.

TABELA 5. Presença (1) e/ou ausência (0) de bandas em cada par (ij) de famílias S_1 .

Família j	Família i	
	1	0
1	a = 11	b = 10
0	c = 01	d = 00

3.3.8 Obtenção de híbridos teóricos gerados por meio do cruzamento simulado entre pares de famílias S_1

Por meio de um aplicativo computacional*, os padrões de bandas das famílias foram utilizados dois a dois, simulando um cruzamento entre elas, permitindo gerar híbridos teóricos, considerando a “interação dominante” do marcador RAPD, ou seja, basta que uma das famílias possua uma banda polimórfica representada pelo número 1, para que o híbrido teórico entre elas também possua essa banda. Após o cruzamento simulado, o programa permite estimar as distâncias genéticas entre os híbridos teóricos e o testador, e entre o testador e cada top cross.

3.3.8.1 Obtenção das matrizes de distâncias genéticas

As matrizes de distâncias genéticas foram obtidas dos dados dos padrões de bandas das famílias S_1 individualmente e inter cruzadas simuladamente duas a duas, mais o padrão de bandas do testador.

3.3.9 Correlações entre as estimativas obtidas

Com o objetivo de verificar o grau de associação entre as diversas estimativas, calculou-se o coeficiente de correlação de Pearson (Steel e Torrie, 1980) entre as medidas de divergência genética (distâncias obtidas por meio dos caracteres agrônômicos e distâncias moleculares) e a produtividade de espigas despalhadas das famílias S_1 e dos híbridos top crosses.

*Aplicativo elaborado pelos professores Daniel Furtado Ferreira e Rubem Delly Veiga do Departamento de Ciências Exatas da UFLA.

Também foram estimadas as correlações de Pearson entre as estimativas da divergência genética (distâncias de Jaccard) obtidas dos marcadores RAPD com as que foram obtidas dos caracteres agronômicos (distâncias de Mahalanobis).

Para o cálculo das estimativas das distâncias genéticas obtidas tanto por meio dos marcadores RAPD como por meio dos caracteres agronômicos, foi utilizada a média das distâncias de cada família em relação às demais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho das famílias S_1 e dos top crosses

A primeira questão que surge quando se trata da avaliação de famílias de milho refere-se ao número ideal de famílias a serem avaliadas para serem representativas de uma população. Pinto, Lima Neto e Souza Júnior (2000), estudando o tamanho apropriado da amostra para famílias S_1 das populações BR-105 e BR-106, constataram que, em programas de seleção recorrente, para o caráter peso de espigas despalhadas, o número ideal para as duas populações foi de 175, portanto, superior ao que foi avaliado neste trabalho. Assim, o número de famílias é de fundamental importância na seleção recorrente cujo objetivo seja aumentar a frequência de alelos favoráveis em uma população, mantendo também a variabilidade genética e permitindo ganhos contínuos com a seleção. Entretanto, quando o objetivo é a seleção de famílias visando à obtenção de híbridos de linhagens, esse número fica limitado às famílias disponíveis, de acordo com o programa de melhoramento, como no presente trabalho.

Nos estudos comparativos que utilizam famílias *per se* e top crosses, verifica-se uma tendência de se trabalhar com famílias S_1 e top crosses obtidas do cruzamento das respectivas plantas S_0 , ou das famílias S_1 , com um testador. Nos relatos encontrados na literatura, os resultados obtidos foram os mais diversos, tanto em relação aos coeficientes de correlação, como no que diz respeito aos progressos alcançados com a seleção.

Tendo em vista que um dos objetivos deste trabalho foi o de avaliar as famílias S_1 e os top crosses obtidos de um híbrido simples modificado, procurou-se dar maior ênfase às estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos, cuja confiabilidade e precisão experimental são fundamentais para o

sucesso de um programa de melhoramento e, também, evidentemente, graças a ampla variabilidade genética detectada entre as famílias. Não obstante, estudaram-se as correlações genotípicas, fenotípicas e ambientais entre alguns caracteres nos dois tipos de famílias, a fim de se obter informações adicionais.

4.1.1 Análise de variância

O resumo da análise de variância para o caráter peso de espigas despalhadas (PE) encontra-se na Tabela 6. Observa-se que o coeficiente de variação experimental (C_{Ve}) foi de 17,95% e que a eficiência do látice foi de 0,37%.

Como a eficiência do látice foi muito baixa, optou-se por analisar em blocos casualizados as famílias S₁ e os top crosses. O resumo da análise de variância para o caráter peso de espigas despalhadas encontra-se nas Tabelas 7 e 8 e os resumos das análises de variâncias das demais características são apresentados nas Tabelas 1A e 2A. Pode-se observar que os C_{Ve} variaram de 7,26 para o caráter altura de planta (AP) até 20,54 para o peso de espigas

TABELA 6. Resumo da análise de variância para o peso de espigas despalhadas em kg/ha, relativa aos top crosses e famílias S₁. Lavras-MG, 2000.

F.V.	GL	QM
Trat.(ajust.)	195	9010755,004**
Erro efetivo	169	916825,437
Média	5335,63	
CV _c (%)	17,95	
Ef. Látice	100,37	

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

TABELA 7. Resumo da análise de variância, média e coeficiente de variação do caráter peso de espigas despalhadas avaliado em 98 famílias S₁ Lavras-MG, 2000.

F.V.	GL	QM
Famílias	97	6534654,09**
Resíduo	97	691902,09
Média	4048,76	
CV(%)	20,54	

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F

TABELA 8. Resumo da análise de variância, média e coeficiente de variação do caráter peso de espigas despalhadas avaliado em 98 top crosses. Lavras-MG, 2000.

F.V.	GL	QM
Híbridos	97	4952458,53**
Resíduo	97	1157605,45
Média	6622,44	
CV(%)	16,25	

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F

despalhadas (PE) nas famílias S₁ *per se* e de 7,62 para o caráter AP até 16,25 para o caráter PE nos híbridos top crosses.

Em ambos os tipos de famílias foram detectadas diferenças significativas para os caracteres analisados, exceto para o caráter peso de cem grãos (PC) (Tabelas 1 A e 2A).

Considerando-se a precisão avaliada pelo coeficiente de variação, os valores encontrados estão dentro dos limites aceitáveis, visto que, segundo Pimentel Gomes (1985), um CVe entre 10% e 20% é considerado médio. Mais recentemente, Scapin, Carvalho e Cruz (1995) propuseram uma nova classificação do CVe, considerando como médios os valores no intervalo de 10,5% a 22% para peso de espigas (Tabelas 6, 1A e 2 A).

Dentre os fatores que podem ter contribuído para que a precisão do experimento não fosse melhor, o principal pode ter sido a utilização de apenas duas repetições. Segundo Steel e Torrie (1980), o número de repetições tem efeito direto no quadrado médio do erro e, conseqüentemente, na precisão experimental.

Um segundo fator pode ser a natureza da população avaliada, visto que é grande a variabilidade genética esperada entre as famílias S_1 , tanto *per se* como em cruzamento top cross.

A variabilidade existente entre as famílias S_1 e entre os top crosses pode ser observada nas distribuições de freqüências do peso médio de espigas despalhadas apresentadas na Figura 1. A amplitude de variação em relação à média dos híbridos foi de 108% enquanto que nas famílias avaliadas *per se*, ela foi bem mais acentuada, atingindo 196% do valor da média, provavelmente devido à maior variância genética entre as famílias. De modo análogo, Elias (1997) encontrou amplitudes de variação semelhantes entre os top crosses, cerca de 73% e 100,2%, quando utilizou as populações CMS-39 E CMS-50, respectivamente, como testadores e 107%, quando o testador foi o híbrido BR-201. Já a amplitude de variação para as famílias *per se* foi muito mais acentuada, chegando a 237% do valor da média.

Quanto à variância genética entre as famílias (σ_g^2), baseada no peso de espigas despalhadas (Tabela 9), vale ressaltar que as estimativas envolvendo as famílias S_1 e o testador, de acordo com Vencovsky (1987), referem-se à variância genética intrapopulacional, visto que o testador foi o próprio híbrido que originou a população S_0 .

Quanto à confiabilidade das estimativas da herdabilidade, observa-se que, para as famílias S_1 avaliadas *per se*, para uma herdabilidade de 89,41%, o intervalo de confiança foi de 84,19 a 92,90 (Tabela 9). Para os top crosses, o intervalo foi de 65,12 a 84,34, para uma herdabilidade de 76,63%.

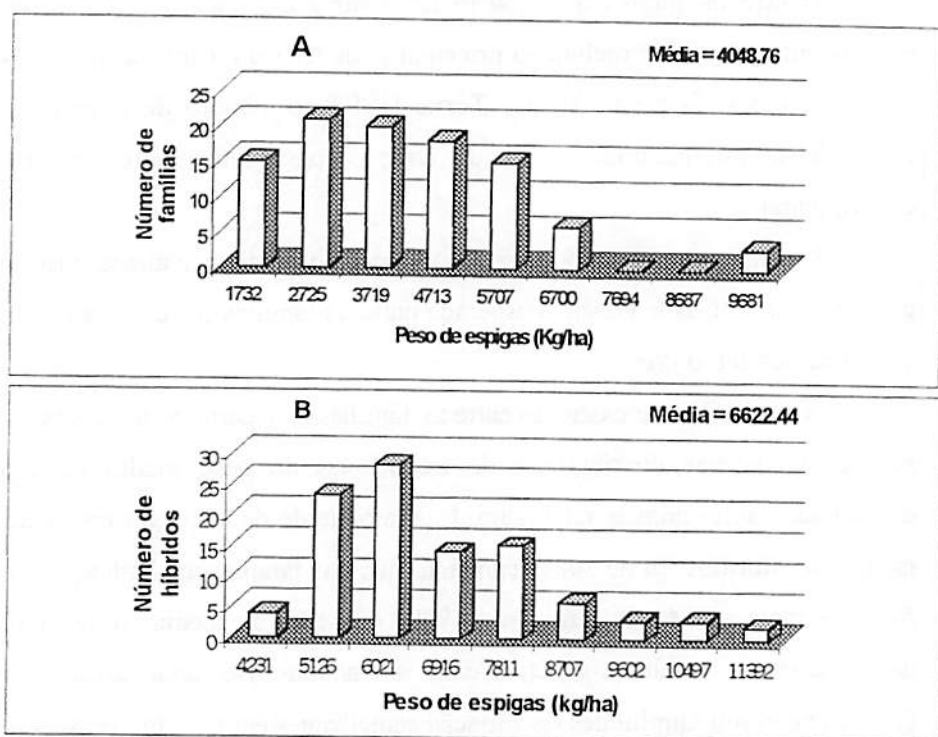


FIGURA 1. Distribuição de freqüências para o peso de espigas despalhadas (kg/ha) referente às famílias S_1 (A) e aos top crosses (B), obtidas pelas médias ajustadas do látice. Lavras-MG, 2000.

TABELA 9. Estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos dos top crosses S_1 e famílias S_1 , para o peso de espigas despalhadas (kg/ha). Lavras-MG, 2000.

Parâmetro	Top cross	Famílias S_1
σ_g^2	1897426,54	2921375,71
σ_f^2	2476229,26	3267327,05
CV_g	20,80	42,21
H^2	76,63	89,41
	(65,12 - 84,34)*	(84,19 - 92,90)*

*Limites inferiores e superiores de confiabilidade das estimativas das herdabilidades (h^2).

Nas Tabelas 3A e 4A, os resultados obtidos propiciaram uma diferenciação clara dos melhores tratamentos com a utilização do teste de Scott-Knott (1974), o qual discriminou as famílias em cinco grupos e os top crosses em três grupos para o caráter peso de espigas despalhadas (PE). Convém salientar que, entre os nove primeiros top crosses (letra a), encontram-se as três famílias (111, 115 e 157) que originaram os três top crosses, indicando haver um bom desempenho entre estas famílias avaliadas *per se* e em combinação híbrida com o testador. Entretanto, nem sempre as famílias S₁ que se destacam na avaliação *per se* são as que conseguem bom desempenho quando em combinação híbrida. Hallauer (1990) e Troyer (1994) justificam a necessidade da avaliação da capacidade combinatória das linhagens pelo baixo relacionamento entre o desempenho *per se* e de seus híbridos.

Quando se comparam as duas estimativas da variância genética intrapopulacional, nota-se que aquela proveniente das famílias S₁ é bem maior, o que está de acordo com o que está contido nessas estimativas. Ao se utilizar o próprio híbrido como testador, a variância genética corresponde à variância entre famílias de meios irmãos (σ_g^2 top cross) e explora 3/8 da variância genética aditiva ($3/8 \sigma_A^2$), visto que a expressão geral para progênies endogâmicas é dada por $(1 + F)/4 \sigma_g^2$ (Souza Júnior, 1989), em que (F) corresponde ao coeficiente de endogamia, que, no caso de S₁, é igual a 1/2.

Por outro lado, ao se utilizar as famílias S₁, tem-se, segundo Souza Júnior (1989):

$$\sigma_{s_1}^2 = \sigma_A^2 + 1/4 \sigma_D^2 + 2 D_1 + 1/2 D_2 + 1/4 \overset{\cup}{H},$$

em que:

- σ_A^2 : variância genética aditiva associada aos efeitos médios dos alelos;
- σ_D^2 : variância genética de dominância, associada aos efeitos das interações intralélicas;
- D_1 : covariância genética entre os efeitos médios (aditivos) dos alelos e os efeitos de dominância dos homozigotos;
- D_2 : variância genética dos efeitos de dominância dos homozigotos;
- $\overset{\cup}{H}$: depressão por endogamia elevada ao quadrado.

O desempenho médio dos top crosses foi bem superior ao obtido pelas famílias *per se*, evidenciando a ocorrência de heterose no top cross. De acordo com as observações anteriores, a estimativa da herdabilidade (h^2) do caráter peso de espigas despalhadas do top cross foi inferior à herdabilidade das famílias S_1 . Isto acontece porque, quando se utiliza o testador, a estimativa de herdabilidade corresponde à herdabilidade entre médias de híbridos no sentido restrito. A expressão de h^2 contém apenas $3/8 \sigma_A^2$. No caso das famílias S_1 , o numerador da expressão de h^2 incluirá também todos os componentes da variância genética entre famílias relatados anteriormente ($\sigma_A^2 + 1/4 \sigma_D^2 + 2 D_1 + 1/2 D_2 + 1/4 \overset{\cup}{H}$).

A estimativa da herdabilidade (h^2) utilizando como testador o próprio híbrido que originou as famílias é maior do que as relatadas em alguns trabalhos envolvendo famílias de meios-irmãos obtidas em uma mesma população. Destaca-se o trabalho de Elias (1997), cuja estimativa da herdabilidade para o peso de espigas despalhadas foi de 79,79% para as famílias S_2 e de 54,49% para o top cross das famílias de meios-irmãos. No presente trabalho, as estimativas foram de 89,41% para as famílias S_1 e de 76,63% para o top cross.

É interessante destacar que vários melhoristas acreditam que a avaliação de famílias em top cross apresenta várias características indesejáveis associadas à introdução dos alelos do testador. Para Lonquist e Lindsey (1964), teoricamente, o testador contribui com 50% dos alelos, sendo que apenas os 50% restantes representariam os genótipos a serem avaliados. Além desse efeito, os alelos do testador podem interagir ou não com os alelos dos genótipos a serem avaliados, prejudicando a representatividade das diferenças desses genótipos.

No presente trabalho, houve diferença significativa entre as famílias S_1 e entre os top crosses, como pode ser observado nas Tabelas 1A e 2A, respectivamente, em relação aos caracteres avaliados, com exceção de peso de 100 grãos. Com isto, pode-se inferir que existem diferenças de desempenho entre as famílias S_1 quando avaliadas *per se*, as quais são maiores nos top crosses devido à heterose proporcionada pelo cruzamento com o testador. O fato de o testador ter sido o próprio híbrido que originou as famílias não influenciou na discriminação dos top crosses.

Por outro lado, Lonquist e Lindsey (1964) alertam para o fato de que o sucesso na seleção de genótipos superiores em um programa de melhoramento depende do emprego de procedimentos de avaliação de razoável precisão e um testador que possibilite a maior variação possível entre os diferentes genótipos a serem avaliados. Para estes autores, o emprego de top cross com um testador parental reduz a variação das características entre as progênies a serem avaliadas, pois a contribuição genética das linhagens parentais nos top crosses fica reduzida à metade.

4.1.2 Correlações entre caracteres

Na Tabela 10 são apresentados os coeficientes de correlação genotípica, fenotípica e de ambiente entre os caracteres AE, AP, PR e PE avaliados nas

TABELA 10. Coeficientes de correlação genotípica (r_g), fenotípica (r_f) e ambiental (r_e) entre os caracteres altura de espiga (AE), altura de planta (AP), prolificidade (PR) e peso de espigas (PE) avaliados nas famílias S₁ (acima da diagonal) e nos top crosses (abaixo da diagonal). Lavras-MG, 2000.

Correlação	Caracteres	AE	AP	PR	PE
r_g			0,96**	0,56**	0,73**
r_f	AE		0,85**	0,36**	0,61**
r_e			0,65**	0,17 ^{ns}	0,25*
r_g		0,91**		0,51**	0,76**
r_f	AP	0,81**		0,29**	0,63**
r_e		0,72**		0,06 ^{ns}	0,28**
r_g		0,27**	0,10 ^{ns}		0,54**
r_f	PR	0,16 ^{ns}	0,10 ^{ns}		0,41**
r_e		0,06 ^{ns}	0,11 ^{ns}		0,35**
r_g		0,67**	0,54**	0,47**	
r_f	PE	0,48**	0,46**	0,40**	
r_e		0,22*	0,36**	0,32**	

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

famílias S₁ *per se* e nos top crosses de milho. Observa-se que, para todos os pares de caracteres, os coeficientes dos três tipos de correlações apresentaram sinal positivo e existe uma relação proporcional entre as magnitudes dos coeficientes de correlação genotípica (r_g) e fenotípica (r_f). Maior ênfase será dada às correlações genotípicas, visto serem estas as mais utilizadas na orientação de programas de melhoramento.

Foram observadas correlações genotípicas altas entre os caracteres AE e AP ($r_g = 0,96$ e $0,91$), AE e PE ($r_g = 0,73$ e $0,67$) e AP e PE ($r_g = 0,76$ e $0,54$), respectivamente para as famílias S₁ *per se* e para os top crosses. Entre os caracteres AE e PR ($r_g = 0,56$ e $0,27$) e AP e PR ($r_g = 0,51$ e $0,10$), os valores encontrados foram de considerável magnitude para as famílias e baixos para os híbridos. Observaram-se valores consideráveis entre os caracteres PR e PE ($r_g = 0,54$ e $0,47$), respectivamente para os dois tipos de famílias.

Os coeficientes de correlação genotípica, fenotípica e de ambiente entre os caracteres AE, AP, PR e PE estimados nas famílias S_1 e nos híbridos (Tabela 10) evidenciam uma elevada associação entre os caracteres para os dois tipos de famílias avaliadas. As estimativas da correlação entre altura da espiga e a altura da planta foram as mais altas, comprovando, assim, que há forte associação entre os dois caracteres. Resultados semelhantes foram obtidos por Pinto, Lima Neto e Souza Júnior (2000), avaliando progênies das populações BR-105 e BR-106 quanto aos mesmos caracteres.

Já as correlações entre a prolificidade e os caracteres altura da espiga e altura da planta foram mais baixos nos híbridos do que nas famílias S_1 , o que pode ser explicado pelo desequilíbrio na constituição genética das famílias com relação aos respectivos híbridos após o top cross, fazendo com que essa associação fosse mais estável nas famílias S_1 .

4.2 Divergência genética

Uma outra medida que tem chamado a atenção de muitos pesquisadores é a divergência genética. Essa medida é sempre relativa, como a da capacidade de combinação e, segundo Falconer (1981), é diretamente relacionada com a diferença nas frequências alélicas. Para se estimar a divergência, tem-se utilizado várias metodologias, porém, em todas elas uma característica comum é o envolvimento de vários caracteres. Como já foi mencionado, a divergência genética pode ser quantificada por meio da realização de cruzamentos ou avaliada por meios preditivos. Os métodos preditivos, por dispensarem a obtenção prévia das combinações híbridas, têm sido os preferidos (Cruz e Regazzi, 1997).

4.2.1 Estimativa da divergência utilizando caracteres agronômicos

As estimativas das distâncias entre as 20 famílias S_1 e entre os respectivos top crosses, obtidas pelo método das Distâncias Generalizadas de Mahalanobis, são apresentadas nas Tabelas 5A e 6A. Para o cálculo das estimativas das distâncias baseadas nos caracteres agronômicos, bem como das distâncias genéticas obtidas por meio dos marcadores moleculares foi utilizada a média das distâncias genéticas de cada família e de cada híbrido em relação aos demais.

Na aplicação das técnicas multivariadas, a primeira etapa consiste em obter o maior número possível de informações dos genótipos. A partir dessas informações, estima-se a divergência, que é uma medida da diferença nas frequências alélicas dos genótipos. Com isso, pode-se inferir que a análise multivariada pode fornecer indicação da capacidade de combinação dos cruzamentos dos genótipos envolvidos, minimizando o trabalho de realização dos cruzamentos e da avaliação dos híbridos (Ferreira, 1993).

No presente trabalho, as estimativas das distâncias em uma amostra de 20 famílias S_1 e os seus respectivos híbridos top crosses foram obtidas pelo método das distâncias generalizadas de Mahalanobis e apresentadas nas Tabelas 5A e 6A. Para isto, foi realizada uma análise multivariada das seis características agronômicas avaliadas, cujas análises individuais podem ser vistas nas Tabelas 1A e 2A.

De acordo com Cruz (1990) e Ferreira (1993), a significância para o efeito de tratamentos, no caso de famílias e híbridos, quando se consideram diversos caracteres morfo-agronômicos, indica que existe divergência genética entre eles.

Observando-se as Tabelas 5A e 6A, encontra-se o par de famílias 2 e 18 e o par de híbridos 1 e 11 como os que possuem as maiores distâncias e os pares de famílias 15 e 19 e o par de híbridos 7 e 20 com as de menores distâncias.

Pelos resultados obtidos pode-se observar que a maior distância ($D^2 = 90,12$) foi encontrada entre o par de famílias 2 e 18 e a menor distância ($D^2 = 1,14$) entre o par de famílias 15 e 19. Já com relação aos híbridos, a maior distância ($D^2 = 66,69$) foi encontrada entre o par de híbridos 1 e 11 e a menor distância ($D^2 = 0,41$) entre o par de híbridos 7 e 20. Considera-se que as famílias 2 e 18 e os híbridos 1 e 11 são os mais divergentes entre si, enquanto as famílias 15 e 19 e os híbridos 7 e 20 são os mais similares (Tabelas 5A e 6A).

Partindo da matriz de distâncias de Mahalanobis foi realizada a análise de agrupamento pelo método de otimização de Tocher. Tanto para as famílias S_1 (Tabela 11) como para os top crosses (Tabela 12), houve formação de cinco grupos de similaridade.

Nas Tabelas 11 e 12 pode-se observar a formação de grupos de similaridade obtidos pelo método de otimização de Tocher, no qual as distâncias entre as medidas de similaridade dentro de cada grupo devem ser menores que as distâncias médias entre quaisquer grupos (Cruz e Regazzi, 1997). Houve a

TABELA 11. Grupos de dissimilaridade formados pelo método de Tocher, partindo das distâncias de Mahalanobis estimadas para as 20 famílias S_1 , avaliados para seis características agronômicas. Lavras-MG, 2000.

Grupos	Famílias S_1								
I	15 (138)	19 (143)	1(110)	13 (136)	9 (128)	7 (125)	11 (131)		
	6 (124)	20 (145)	12 (135)	16 (139)	8 (126)	17 (140)			
II	14 (137)	18 (142)							
III	3 (114)	10 (129)							
IV	2 (111)	4 (115)							
V	5 (123)								

TABELA 12. Grupos de dissimilaridade formados pelo método de Tocher, partindo das distâncias de Mahalanobis estimadas para os 20 top crosses, avaliados para seis características agrônômicas. Lavras-MG, 2000.

Grupos	Top crosses					
	I	7 (125)	20 (145)	13 (136)	17 (140)	18 (142)
II	14 (137)	6 (124)	16 (139)	8 (126)		
III	10 (129)	19 (143)	2 (111)			
IV	1 (110)	12 (135)	3 (114)			
V	5 (123)	9 (128)				
	4 (115)	11 (131)				

formação de cinco grupos para ambos os tipos de famílias. Dias (1994) relata que o conhecimento dos pares de genitores de maior divergência pode orientar os cruzamentos. Assim, os pares mais divergentes devem ser utilizados em cruzamentos para a geração de híbridos mais heteróticos. Por outro lado, a informação sobre os pares mais similares é útil nos programas envolvendo retrocruzamentos, nos quais o emprego de genitores mais semelhantes, diferenciado basicamente pelo alelo a ser transferido, permite recuperar o genitor recorrente.

Para possibilitar a visualização dos resultados, realizou-se o estudo das projeções no plano das distâncias entre as famílias e entre os híbridos, calculadas pelo método de Mahalanobis, como pode ser visto nas Figuras 2 e 3. Nesse procedimento, as medidas de dissimilaridade são convertidas em escores relativos a duas variáveis X e Y (Cruz, 1997). Verifica-se que há concordância entre estes resultados e aqueles obtidos pelo método de Tocher, evidenciando que os processos utilizados para identificação de genótipos com maior ou menor similaridade são consistentes, podendo auxiliar na tomada de decisões em programas de melhoramento.

Partindo-se das Tabelas 5A e 6A, foram extraídas as médias de cada família em relação às demais (Tabela 13), assim como de cada híbrido em

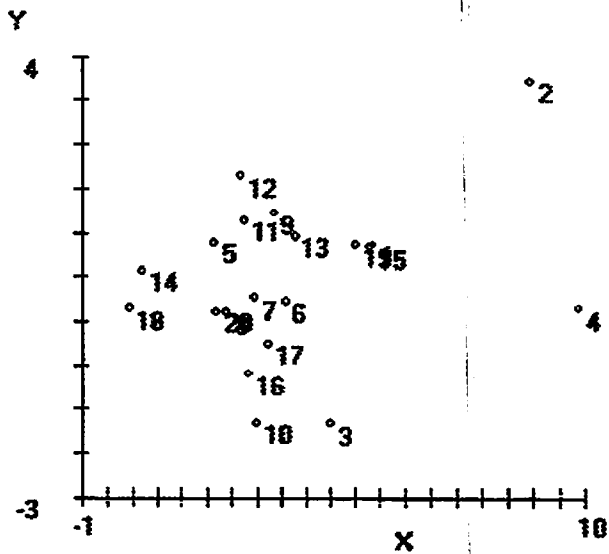


FIGURA 2. Projeção das distâncias no plano das 20 famílias S_1 , obtida pelas distâncias de Mahalanobis.

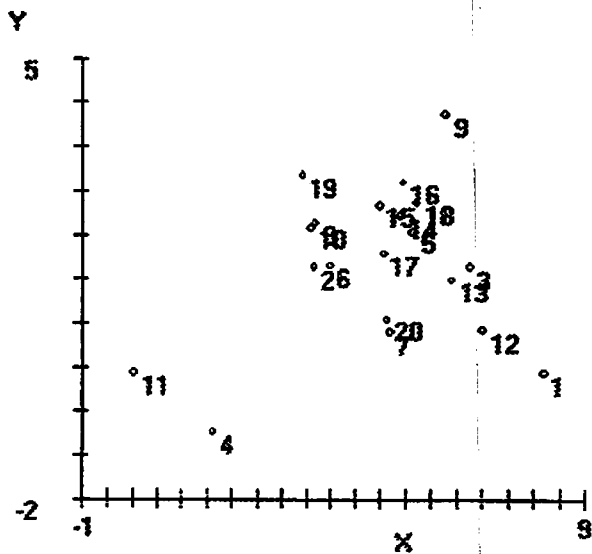


FIGURA 3. Projeção das distâncias no plano dos 20 híbridos teóricos, obtida pelas distâncias de Mahalanobis.

TABELA 13. Distâncias médias entre as 20 famílias S₁ (A) e entre os 20 top crosses (B), obtidas por meio de caracteres agronômicos (distâncias de Mahalanobis) (MA); distâncias genéticas médias entre as 20 famílias S₁ (C) e entre o testador (TS) e os híbridos tópicos (HT) e distâncias genéticas entre o testador (TS) e os top crosses tópicos (TT) (E), obtidas pelos marcadores RAPD (distâncias de Jaccard) (JC) e peso de espigas despalhadas em kg/ha (PE) avaliadas nas 20 famílias S₁ (F) e nos 20 top crosses (G) estudados pelos marcadores RAPD. Dados extraídos, respectivamente, das Tabelas 5A e 6A (A e B), 8A (C) e 9A (D e E) e 3A (F) e 4A (G), Lavras-MG, 2000.

	A	B	C	D	E	F	G
Famílias S ₁	(MA)	Top crosses (MA)	Famílias S ₁ (JC)	Híbridos tópicos (JC)	Top crosses tópicos (JC)	Famílias S ₁ (PE)	Top crosses (PE)
1 (110)	15,92	21,94	0,449	0,214	0,065	6015,26	3783,88
2 (114)	52,11	12,95	0,441	0,229	0,133	10177,70	8304,95
3 (115)	53,81	15,78	0,330	0,183	0,089	3993,47	5070,90
4 (123)	21,32	11,34	0,330	0,244	0,172	9641,69	10201,49
5 (124)	13,61	9,57	0,286	0,154	0,077	3175,14	6541,49
6 (125)	13,27	11,61	0,320	0,158	0,014	3852,48	7593,11
7 (126)	17,13	10,61	0,291	0,153	0,027	3327,38	6191,45
8 (128)	13,18	15,18	0,296	0,150	0,040	2895,19	7794,01
9 (129)	20,33	11,70	0,455	0,232	0,040	4450,13	5674,53
10 (131)	15,10	34,59	0,628	0,273	0,122	2617,70	8262,72
11 (135)	15,76	13,65	0,324	0,194	0,053	3894,73	11004,40
12 (136)	13,79	10,55	0,286	0,135	0,053	4555,74	5274,73
13 (137)	23,92	10,21	0,448	0,200	0,053	1484,86	6197,13
14 (138)	14,96	11,86	0,313	0,188	0,053	6062,43	6300,00
15 (139)	14,76	10,23	0,340	0,163	0,040	2925,81	6422,43
16 (140)	18,27	8,76	0,308	0,164	0,053	3485,83	6775,00
17 (142)	24,46	9,03	0,298	0,165	0,040	1474,52	6154,95
18 (143)	15,17	12,66	0,325	0,185	0,053	5843,24	8270,53
20 (145)	14,12	9,41	0,382	0,185	0,053	2650,19	6427,54

relação aos demais e identificou-se as famílias 4 e 2 e os híbridos 11, 4 e 1 como os que mais contribuíram para a divergência, enquanto as famílias 9, 7 e 6 e os híbridos 17, 18 e 20 como os que menos contribuíram. Pode-se inferir que existe alguma relação entre a distância obtida para cada par e a distância obtida pela média de cada genótipo em relação aos demais.

Pela Tabela 13 podem ser identificadas as famílias S₁ 4 (53,81) e 2 (52,11) como as mais distantes geneticamente das demais, enquanto as famílias 9 (13,18), 7 (13,27) e 6 (13,61) são as mais semelhantes. Na mesma Tabela, os top crosses 11 (34,59), 4 (29,22) e 1 (21,94) são identificados como os mais distantes geneticamente, enquanto os top crosses 17 (8,76), 18 (9,03) e 20 (9,41) são os mais semelhantes.

4.2.2 Divergência genética baseada em marcadores RAPD

Para o estudo da divergência genética utilizando marcadores RAPD, foram utilizados 35 iniciadores, os quais geraram, pelo menos, uma banda polimórfica entre as famílias analisadas (Tabela 7A). Estes 35 iniciadores geraram 101 produtos de amplificação (bandas), com uma média de 2,89 bandas por iniciador. O número de bandas polimórficas variou de um, para os iniciadores OPA-02, OPA-11, OPB-10, OPC-08 e OPD-11, até oito para o iniciador OPC-02. Um exemplo do padrão de bandas encontra-se na Figura 4.

O nível de polimorfismo obtido foi menor do que em alguns trabalhos com milho (Ajmone-Marsan et al., 1995, 1998; Lanza et al., 1997) mas foi semelhante ao obtido por Heun e Helentjaris (1993). É interessante ressaltar que este polimorfismo, mesmo dentro da espécie, é dependente do grau de divergência dos genótipos estudados.

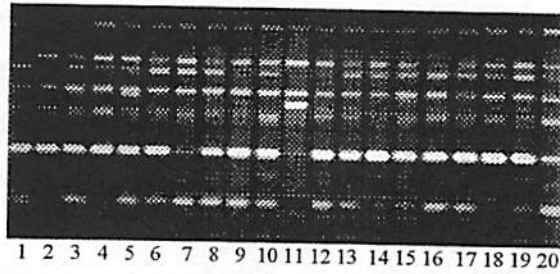


FIGURA 4. Produtos de amplificação do DNA obtidos com o iniciador OPB-17. As colunas de 1 a 20 correspondem aos produtos de amplificação das 20 famílias S_1 .

Partindo das 101 bandas RAPD obtidas, foram montadas duas matrizes de distâncias genéticas, pelo complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard, relacionando todos os pares de famílias e o testador (Tabelas 8A e 9A).

As 101 bandas polimórficas utilizadas neste estudo podem ser consideradas suficientes para a avaliação da divergência, visto que, conforme Johns et al. (1997), em um estudo com 69 cultivares de feijão do Chile, verificou-se, por reamostragem, que 50 bandas escolhidas ao acaso produziram o mesmo agrupamento obtido com 106 bandas. Em outro trabalho de reamostragem verificou-se que, utilizando-se marcadores RAPD, partindo-se de 100 bandas, praticamente não ocorre alteração no coeficiente de variação das distâncias genéticas entre os genótipos (Nienhuis et al., 1995).

4.2.3 Obtenção das matrizes de distâncias genéticas

Na Tabela 8A encontra-se a matriz das 190 distâncias genéticas entre as 20 famílias S_1 , duas a duas e, na coluna 21, pode-se observar as 20 distâncias genéticas entre cada uma das famílias e o testador (acima da diagonal), enquanto o erro padrão referente a cada distância está abaixo da diagonal.

Na mesma Tabela 8A observa-se que a menor distância genética foi encontrada entre as famílias 18 e 19 (0,16) e as maiores distâncias entre as famílias 11 e 14 (0,74) e entre 1 e 11 (0,71). Na coluna 21 verifica-se que as famílias mais distantes geneticamente do testador são a 11 (0,57), 1 (0,43), 10 (0,40), 2 (0,37) e 4 (0,35).

Na Tabela 9A encontram-se as distâncias genéticas (acima da diagonal) entre os 190 híbridos teóricos obtidos simuladamente do inter cruzamento das 20 famílias S_1 , duas a duas (HT) e o testador (TS), bem como as distâncias genéticas entre os 20 top crosses teóricos (TT) e o testador (TS) (coluna 21), enquanto o erro padrão estimado está abaixo da diagonal.

Pode-se observar que as menores distâncias genéticas entre os híbridos teóricos (HT) e o testador (TS) foram encontradas entre as famílias 7 e 9, 8 e 9, 6 e 13, 7 e 13 e entre a 9 e 13 (0,09), enquanto as maiores distâncias foram encontradas entre as famílias 2 e 11 (0,36), 10 e 11 (0,36), 1 e 11 (0,33), 1 e 2 (0,32) e 2 e 4 (0,32). Na coluna 21 da mesma Tabela (9A) pode-se observar que o top cross teórico (TT) que ficou mais próximo do testador (TS) foi aquele originado da família 6 (0,01), enquanto os top crosses teóricos que ficaram mais distantes geneticamente do testador foram aqueles originados das famílias 11 (0,18), 4 (0,17), 2 (0,13) e 10 (0,12).

Pelos dados contidos na Tabela 8A foram calculadas as médias das distâncias genéticas de cada família S_1 em relação às demais, correspondendo à contribuição aditiva de cada família para a distância genética geral (C), o que equivale à capacidade geral de combinação segundo o modelo I de Griffing, método 4 (Griffing, 1956) utilizado por Barroso (2000). Com este procedimento obteve-se uma coluna de médias das distâncias genéticas das 20 famílias S_1 (Tabela 13), que equivale à distância genética geral de cada família (C).

A mesma metodologia foi aplicada na Tabela 9A, ou seja, foram calculadas as médias das distâncias genéticas de cada híbrido teórico em relação

ao testador e aos demais, obtendo-se, assim, a contribuição aditiva de cada híbrido teórico para a distância genética, o que seria equivalente à capacidade geral de combinação, como foi relatado. Estas médias estão na coluna D da Tabela 13. Nesta tabela também podem ser visualizadas as distâncias genéticas (E) entre o testador (TS) e os top crosses teóricos (TT), extraídas da Tabela 9A.

Observando-se a Tabela 13 verifica-se que as famílias que mais contribuíram para a divergência foram a 11, 10, 1, 14 e 2, enquanto as que menos contribuíram foram a 13, 6, 8, 9 e 18. Ainda na mesma Tabela, pode-se observar na coluna E que os top crosses mais distantes do testador foram os originados das famílias 11, 2, 10 e 14, enquanto aqueles mais semelhantes ao testador foram originados das famílias 13, 9 e 6.

Observando-se as distâncias genéticas médias apresentadas na Tabela 13 verifica-se que a família 11 possui o maior valor médio de distâncias genéticas quando comparada com as outras famílias S₁ (C). As famílias mais divergentes foram a 11 (0,628), a 10 (0,455), a 1 (0,449), a 14 (0,448) e a 2 (0,441), enquanto as mais semelhantes foram a 13 (0,286), a 6 (0,286), a 8 (0,291), a 9 (0,296) e a 18 (0,298).

As distâncias genéticas médias entre os híbridos teóricos e o testador (D) mostraram que a família 11 originou os híbridos mais distantes em relação ao testador, alcançando valor de 0,273, seguida pelas famílias 4 (0,244), 10 (0,232) e 2 (0,229). As famílias 13 (0,135), 9 (0,150) e 8 (0,153) foram as que originaram os híbridos mais semelhantes ao padrão de bandas do testador.

As distâncias (E) representam a distância genética entre o testador (TS) e o top cross teórico (TT), ou seja, entre o híbrido teórico originado pelo cruzamento simulado do testador com cada família e o próprio testador. Sendo assim, as famílias que originaram os top crosses mais distantes geneticamente do testador foram a 11 (0,183), a 4 (0,172), a 2 (0,133) e a 10 (0,122), enquanto as

que originaram os híbridos mais semelhantes ao testador foram a 6 (0,014), a 7 (0,027) e as famílias 8, 9, 16 e 18, todas com o valor de (0,40).

É interessante ressaltar que tanto a coluna D como a coluna E apresentam as distâncias genéticas médias dos cruzamentos simulados em relação ao testador e como elas se mantêm equidistantes, visto que o testador foi comparado com todas os híbridos teóricos e top crosses teóricos, pode-se inferir que elas representam praticamente as distâncias entre os híbridos teóricos e entre os top crosses teóricos, respectivamente.

Na Tabela 13 também encontram-se as médias ajustadas do peso de espigas despalhadas (PE) das 20 famílias S₁ (PE) e dos 20 top crosses (PE) que foram estudados pelos marcadores RAPD. Como pode-se observar, as famílias S₁ com maior produtividade foram a 2 (10.177,70 kg/ha), a 4 (9.641,69 kg/ha) a 15(6.062,43 kg/ha) e a 1 (6.015,26 kg/ha). Já nos top crosses, aqueles mais produtivos foram os originados das famílias 11 (11.004,40 kg/ha), 4 (10.201,49 kg/ha), 2 (8.304,95 kg/ha) e 10 (8.262,72 kg/ha), enquanto os menos produtivos foram originados das famílias 1 (3.783,88 kg/ha), 12 (5.014,39 kg/ha) e 3 (5.070,90 kg/ha).

Para possibilitar a visualização dos resultados, também procedeu-se ao estudo das projeções no plano das distâncias genéticas entre as famílias e entre os híbridos, como pode ser visto nas Figuras 5 e 6. Neste procedimento, as medidas de dissimilaridade são convertidas em escores relativos a duas variáveis X e Y (Cruz, 1997).

Mais uma vez, os resultados são coerentes com os apresentados anteriormente, identificando as famílias 1, 11 e 14 (Figura 5) como as que mais contribuíram para a divergência, quando duas a duas, enquanto os híbridos teóricos 4, 10 e 11 (Figura 6) foram os que mais contribuíram para a divergência genética ao serem discriminados pelo testador.

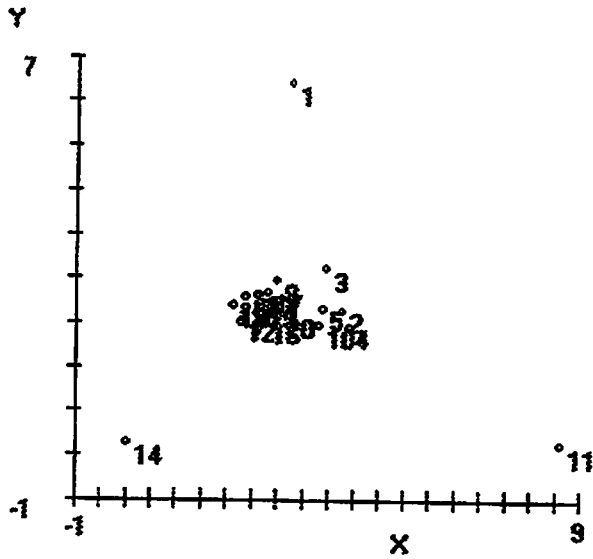


FIGURA 5. Projeção das distâncias no plano das 20 famílias S_1 pelas distâncias genéticas obtidas pelos marcadores RAPD.

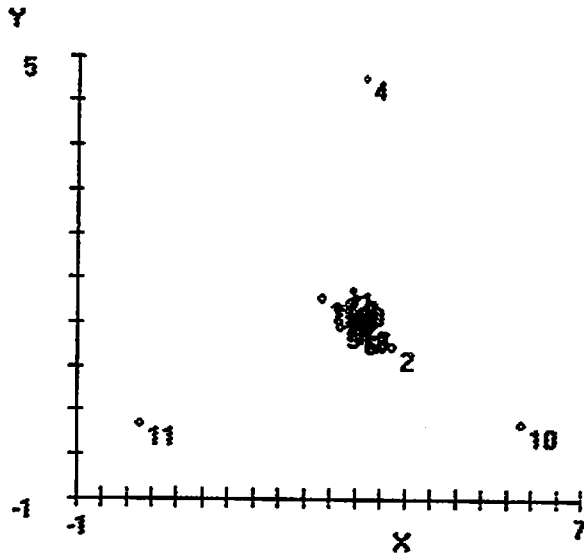


FIGURA 6. Projeção das distâncias no plano dos 20 híbridos teóricos pelas distâncias genéticas obtidas por meio dos marcadores RAPD.

4.2.4 Estimativas dos coeficientes de correlação

Com base no caráter peso de espigas despalhadas, avaliado nas famílias S_1 e nos top crosses, nas distâncias obtidas por meio dos caracteres agrônômicos e nas distâncias genéticas moleculares obtidas pelos marcadores RAPD, estimou-se a correlação entre as estimativas disponíveis, por meio dos coeficientes de correlação de Pearson, cujos resultados encontram-se na Tabela 14.

TABELA 14. Correlações de Pearson entre as estimativas das distâncias médias obtidas por meio dos caracteres agrônômicos (distâncias de Mahalanobis) (MA), das estimativas das distâncias genéticas médias obtidas pelos marcadores RAPD (distâncias de Jaccard) (JC) e do peso médio de espigas despalhadas (PE) avaliado nas 20 famílias S_1 e nos 20 top crosses. Dados extraídos da Tabela 13. Lavras-MG, 2000.

Correlações*	Caracteres/distâncias genéticas	Coefficientes
F x G	Famílias S_1 (PE) x top crosses (PE)	0,30 ^{ns}
A x B	Famílias S_1 (MA) x top crosses (MA)	0,30 ^{ns}
A x F	Famílias S_1 (MA) x famílias S_1 (PE)	0,70**
B x G	Top crosses (MA) x top crosses (PE)	0,50*
C x F	Famílias S_1 (JC) x famílias S_1 (PE)	0,17 ^{ns}
C x A	Famílias S_1 (JC) x famílias S_1 (MA)	0,28 ^{ns}
C x G	Famílias S_1 (JC) x top crosses (PE)	0,51*
C x B	Famílias S_1 (JC) x top crosses (MA)	0,71**
D x F	Híbridos teóricos (JC) x famílias S_1 (PE)	0,42 ^{ns}
D x A	Híbridos teóricos (JC) x famílias S_1 (MA)	0,48*
D x G	Híbridos teóricos (JC) x top crosses (PE)	0,58**
D x B	Híbridos teóricos (JC) x top crosses (MA)	0,74**
E x F	Top crosses teóricos (JC) x famílias S_1 (PE)	0,50*
E x A	Top crosses teóricos (JC) x famílias S_1 (MA)	0,62**
E x G	Top crosses teóricos (JC) x top crosses (PE)	0,68**
E x B	Top crosses teóricos (JC) x top crosses (MA)	0,78**
D x E	Híbr. teor. (JC) x top crosses teóricos (JC)	0,86**

* Correlações obtidas entre as estimativas presentes nas colunas de A a G da Tabela 13.

A primeira correlação apresentada foi calculada entre os caracteres peso de espigas despalhadas das famílias S_1 (PE) e o peso de espigas despalhadas dos top crosses (PE) (Tabela 13), encontrando-se o valor de 0,30, não significativo pelo teste t. A segunda correlação foi calculada entre as distâncias obtidas pelo método das distâncias generalizadas de Mahalanobis (D^2), avaliadas por meio de caracteres agronômicos nas famílias S_1 (MA) e nos top crosses (MA). Nesse caso, também foi encontrada uma correlação não significativa pelo mesmo teste.

O coeficiente de correlação estimado entre o peso de espigas despalhadas das famílias S_1 e os top crosses foi não significativo. Esses resultados estão de acordo com Hallauer (1990) e Troyer (1994), ao afirmarem que existe um baixo relacionamento entre famílias S_1 e seus respectivos top crosses.

Já para a correlação entre o peso de espigas despalhadas das famílias S_1 (PE) e as distâncias obtidas por meio dos caracteres agronômicos das mesmas (MA), o resultado foi significativo. Da mesma forma, a correlação entre o mesmo caráter e as respectivas distâncias, só que nos top crosses, apresentou um valor significativo pelo mesmo teste.

Quando foram correlacionadas as distâncias genéticas moleculares entre as famílias S_1 obtidas pelos marcadores RAPD (JC) com o peso de espigas despalhadas correspondentes (PE), encontrou-se um valor não significativo. Também foi não significativa a correlação entre as distâncias moleculares das famílias S_1 (JC) e as distâncias obtidas utilizando-se os caracteres agronômicos avaliados nas mesmas famílias (MA).

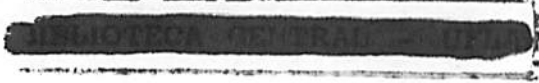
A contribuição de cada família S_1 para a distância molecular não se correlacionou com o peso de espigas despalhadas das famílias S_1 (correlação C x F na Tabela 14), porém, correlacionou com o peso de espigas do top cross (correlação C x G na Tabela 14). Por outro lado, o D^2 mostrou maior associação com o peso de espigas despalhadas das famílias S_1 . Quando se observa a

associação significativa entre o top cross teórico (TT) e os pesos de espigas despalhadas de famílias S₁ (PE) e dos top crosses (PE) (correlações E x F e E x G, na Tabela 14) evidencia-se o potencial da distância molecular em identificar principalmente os híbridos top crosses mais promissores. Tal resultado permite uma pré-seleção dos mesmos e, conseqüentemente, a exploração de um número maior de famílias no programa de melhoramento de milho.

Resultados semelhantes foram obtidos por Barroso (2000) trabalhando com marcadores RAPD na verificação da divergência genética entre cultivares de soja adaptadas e não adaptadas. As distâncias moleculares permitiram identificar e classificar uma cultivar não adaptada produtiva entre as adaptadas. O mesmo autor acredita que a produção de grãos seja controlada por um grande número de QTL's e estes devem estar uniformemente distribuídos pelo genoma, não havendo grandes diferenças em seus efeitos. Além do mais, ressalta que, como os marcadores realizam uma amostragem casualizada do genoma, existe a possibilidade de que as diferentes regiões dos cromossomos estejam igualmente representadas nas estimativas de distância genética com base em grande número de marcadores, indicando que a distribuição dos marcadores RAPD está mais correlacionada a caracteres mais complexos do que a caracteres mais simples.

Como pode-se observar na Tabela 13, as famílias S₁ que mais contribuíram para a distância genética, também foram as que originaram os híbridos mais divergentes quanto ao peso de espiga despalhada. Isto é, a família 1 contribuiu para o pior híbrido, a 14 contribuiu para um híbrido em torno da média e as demais para os melhores híbridos, especialmente a 2, 4, 10 e 11.

Porém, ao correlacionarem-se as distâncias moleculares entre as famílias S₁ (JC) com o peso de espigas despalhadas dos híbridos top crosses (PE), obteve-se um valor significativo. Ao correlacionar-se as mesmas distâncias moleculares com aquelas obtidas por meio dos caracteres agrônômicos avaliados nos híbridos (MA), o valor encontrado também foi significativo.



A correlação das distâncias genéticas entre o testador e os híbridos teóricos originados do cruzamento simulado das famílias S_1 (JC) com o peso de espigas despalhadas das famílias S_1 (PE) foi não significativa. Entretanto, a correlação com as distâncias obtidas nos top crosses (PE) mostrou significância.

Seguindo a mesma linha, procurou-se correlacionar as distâncias obtidas entre o testador (TS) e os híbridos teóricos (HT) com as distâncias obtidas, utilizando-se os caracteres agronômicos avaliados tanto nas famílias S_1 (MA) como nos híbridos (MA). Foram encontrados valores significativos, respectivamente, para as famílias e para os híbridos.

Correlacionando-se as distâncias moleculares obtidas entre o testador (TS) e os híbridos top crosses (TT) com o peso de espigas despalhadas das famílias S_1 (PE) encontrou-se um valor significativo. Também a correlação das mesmas distâncias moleculares com o peso de espigas despalhadas dos híbridos (PE) foi significativa. Foram estimadas as correlações entre estas mesmas distâncias moleculares (TS x TT) e as distâncias obtidas por meio dos marcadores agronômicos, tanto para as famílias S_1 (MA) como para os híbridos (MA). Os resultados encontrados em ambos os casos foram significativos.

As distâncias genéticas moleculares entre o testador (TS) e os top crosses teóricos (TT) que podem ser vistas na coluna E da Tabela 14 serviram para discriminar os híbridos mais divergentes e, conseqüentemente, os que apresentaram maior produtividade de espigas despalhadas (Tabela 13), ou seja, o 2, 4, 10 e 11. Como pode ser visto na Figura 5, na qual foram projetadas, no plano, as contribuições de cada híbrido teórico para a divergência e cujas contribuições estão associadas significativamente às distâncias do testador (TT).

Como pode-se observar nas Figura 5 e 6, a maioria das famílias que originaram os top crosses com produções médias ou baixas, poderia ser eliminadas reduzindo-se assim o número de famílias ou híbridos a serem avaliados ou, mesmo, permitindo explorar uma população muito maior.

6 CONCLUSÕES

O testador utilizado possibilitou a identificação dos top crosses e famílias S_1 superiores.

As distâncias genéticas estimadas entre as famílias S_1 utilizando-se marcadores moleculares e caracteres agronômicos foram eficientes em discriminar as que são mais divergentes e produtivas.

As distâncias genéticas estimadas entre os híbridos teóricos utilizando-se marcadores moleculares, embora não tenham apresentado capacidade preditiva, identificaram as famílias que originaram os híbridos teóricos mais divergentes e, entre eles, os mais produtivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJMONE-MARSAN, P.; CASTIGLIONI, P.; FUSARI, F.; KUIPER, M.; MOTTO, M. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 96, n.2, p.219-227, Feb. 1998.
- AJMONE-MARSAN, P.; MONFREDINI, G.; LUDWIG, W.F.; MELCHINGER, A.E.; FRANCESCHINI, P.; PAGNOTTO, G.; MOTTO, M. In an elite cross of maize a major quantitative trait locus controls one-fourth of the genetic variation for grain yield. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.90, n.3/4, p.415-424, Mar. 1995.
- ALLARD, R.W. *Princípios do melhoramento genético de plantas*. Trad. BLUMENSCHIEIN, A. et al., São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381p.
- ALLISON, J.C.S.; CURNOW, R.N. On the choice of tester parent for the breeding of synthetic varieties of maize (*Zea mays* L.). *Crop Science*, Madison, v. 6, n.6, p. 541-544, Nov./Dec. 1966.
- ARIAS, C.A.A.; TAKEDA, C.; SOUZA JÚNIOR, C.L. Correlação fenotípica das linhas S₁ e seus testecrosses nas populações BR-105 e BR-106. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 20, 1994, Goiânia. Resumos... Goiânia: ABMS/ENGOPA/EMBRAPA/UFG/EMATER-GO, 1994. p.73.
- BARROSO, P.A.V. *Comparação entre métodos quantitativos e métodos baseados em marcadores RAPD para a predição do comportamento de populações de soja*. Piracicaba: ESALQ/USP, 2000. 162p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- BELLUCCI, A.A. *Avaliação de populações derivadas de híbridos de milho (Zea mays L.) em cruzamentos nos esquemas dialélico e top cross*. Piracicaba: ESALQ/USP, 1995. 133p. (Tese - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- BERNARDO, R. Correlation between testcross performance of lines at early and late selfing generations. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.82, n.1, p. 17-21, May 1991.

- BOREM, A. Melhoria de Plantas. 2.ed. Viçosa: UFV, 1998. 453p.**
- CARANGAL, V.R.; ALI, S.M.; KOBLE, A.F.; RINKE, E.H.; SENTZ, J.C.** Comparison of S_1 with testcross evaluation for recurrent selection in maize. **Crop Science, Madison, v.11, n.5, p. 658-661, Sept./Oct. 1971.**
- CHAVES, L.J.; MIRANDA FILHO, J.B.** Predicting variety composite means without diallel crossing. In: XVIII International Congress of Genetic, 28, 1993, Birmingham, U.K. Abstracts... Birmingham, U.K.: 1993. p. 227.
- CRESS, C.E.** Heterosis of the hybrid related to gene frequency differences between two populations. **Genetics, Austin, v.53, n.2, p.269-274, Feb. 1966.**
- CRUZ, C.D.** Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas. Piracicaba: ESALQ/USP, 1990. 188p. (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- CRUZ, C.D.** Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 1997. 442p.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.** Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 1997. 390p.
- DAVIS, R.L.** Report of the plant breeder. Porto Rico: Puerto Rico Agricultural Experiment Station Annual Report, 1927. p.14-15.
- DIAS, L.A. dos S.** Divergência genética e fenética multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). Piracicaba: ESALQ, 1994. 94p. (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- DUARTE, J.M.** Estudo da divergência genética em raças de feijão por meio de marcadores RAPD. Lavras: UFLA, 1998. 78p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- DUCLOS, L.A.; CRANE, P.L.** Comparative performance of top crosses and S_1 progeny for improving populations of corn (*Zea mays* L.). **Crop Science, Madison, v. 8, n.2, p. 191-194, Mar./Apr. 1968.**

- EAST, E.M. Inbreeding in corn. Connecticut Agricultural Experiment Station. 1908. p.419-428.
- ELIAS, H.T. Comparação de testadores na avaliação de famílias S₂ de milho (*Zea mays* L.). Lavras: UFLA, 1997. 61p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- FALCONER, D.S. Introdução à genética quantitativa. Viçosa: UFV. Imprensa Universitária, 1981. 279p.
- FERREIRA, D.F. Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos. Lavras: ESAL, 1993. 72p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. 3.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1998. 220 p. (EMBRAPA-CENARGEM. Documento, 20).
- FREI, O.M.; STUBER, C.W.; GOODMAN, M.M. Use of allozymes as genetic markers for predicting performance in maize single cross hybrids. *Crop Science*, Madison, v.26, n.1, p.37-42, Jan./Feb. 1986.
- FUZATTO, S.R. Divergência genética e sua relação com os cruzamentos dialélicos na cultura do milho. Lavras: UFLA, 1999. 62p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- GAMA, E.E.G.; HALLAUER, A.R. Relation between inbred and hybrid traits in maize. *Crop Science*, Madison, v.17, n.5, p.703-706, Sept./Oct. 1977.
- GENTER, C.F.; ALEXANDER, M.W. Development and selection of productive S₁ inbred lines of corn (*Zea mays* L.). *Crop Science*, Madison, v.6, n.5, p. 429-431, Sept./Oct. 1966.
- GORGULHO, E.P. Avaliação de variedades de milho (*Zea mays* L.) sob dois esquemas de cruzamentos: dialélico parcial e "top cross" intergrupos. Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. 117p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences*, Melbourne, v.9, p.463-493, 1956.

- HALLAUER, A.R. Methods used in developing maize inbreds. *Maydica*, Ames, v.35, n.1, p.1-16, Oct. 1990.
- HALLAUER, A.R.; LOPEZ PEREZ, E. Comparisons among testers for evaluating lines of corn. *Proceedings of Annual Hybrid Corn Industry Research Conference*, Washington, v.34, p.57-75, 1979.
- HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2.ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468p.
- HALLAUER, A.R.; RUSSEL, W.A.; LAMKEY, K.R. Corn breeding. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. **Corn and corn improvement**. 3.ed. Madison, 1988. v.1, p.463-564.
- HEUN, M.; HELENTJARIS, T. Inheritance of RAPDs in F₁ hybrids of corn. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.85, n.7, p.961-968, June 1993.
- HU, J.; QUIROS, C.F. Identification of brocoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. *Plant Cell Report*, Berlin, v.10, n.7, p.505-511, Mar. 1991.
- IDE, F. Avaliação da capacidade de combinação de progênies S₂ e S₅ de milho (*Zea mays* L.) obtidas do composto ESALQ VD-2. Piracicaba: ESALQ/USP, 1983. 66p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- ILLG, R.D. Estudo comparativo entre progênies de meio irmãos de milho e seus respectivos cruzamentos com um testador. Piracicaba: ESALQ/USP, 1969. 32p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- JENKINS, M.T. Methods of estimating the performance of double crosses in corn. *Journal of the American Society of Agronomy*, Madison, v.26, n.2, p.199-204, Feb. 1934.
- JENKINS, M.T.; BRUNSON, A.M. Methods of testing inbred lines of corn in crossbreed combinations. *Journal of the American Society of Agronomy*, Madison, v.24, n.7, p.523-530, July 1932.

- JOHNS, M.A.; SKROCH, P.W.; NIENHUIS, J.; KINRICHSEN, P.; BASCUR, G.; MUÑOZ-SCHICK, C. Gene pool classification of common bean landraces from Chile based on RAPD and morphological data. *Crop Science*, Madison, v.37, n.2, p.605-613, Mar./Apr. 1997.
- JONES, D.F. The effects of inbreeding and crossbreeding upon development. *Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin*, Washington, v. 297, p.5-100, 1918.
- KNAPP, K.R.; STROUP, W.W.; ROSS, W.M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. *Crop Science*, Madison, v.25, n.1, p.192-194, Jan./Feb. 1985.
- LANZA, L.L.B.; SOUZA Jr., C.L.; OTTOBONI, L.M.M.; VIEIRA, M.L.C.; SOUZA, A.P. Genetic distance of inbred lines and prediction of maize single-cross performance using RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.94, n.8, p.1023-1030, June 1997.
- LINDSTROM, E.W. Prepotency of inbred sires on commercial varieties of maize. *Journal of the American Society of Agronomy*, Madison, v.23, n.8, p.652-661, Aug. 1931.
- LONNQUIST, J.H. Further evidence on testcross versus line performance in maize. *Crop Science*, Madison, v.8, n.1, p.50-53, Jan./Feb. 1968.
- LONNQUIST, J.H.; LINDSEY, M.F. Topcross versus S₁ line performance in corn (*Zea mays* L.). *Crop Science*, Madison, v. 4, n.6, p. 580-584, Nov./Dec. 1964.
- LONNQUIST, J.H.; RUMBAUGH, M.D. Relative importance of test sequence for general and specific combining ability in corn breeding. *Agronomy Journal*, Madison, v. 50, n.10, p. 541-544, Oct. 1958.
- MACHADO, C.F. *Procedimentos para a escolha de genitores de feijão*. Lavras: UFLA, 1999. 118p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- MALUF, W.R.; FERREIRA, P.E.; MIRANDA, J.E.C. Genetic divergence in tomatoes and its relationship with heterosis for yield in F₁ hybrids. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.6, n.3, p.453-460, 1983.

- MATZINGER, D.F.** Comparison of three types of testers for the evaluation of inbred lines of corn. *Agronomy Journal*, Madison, v.45, n.10, p. 493-495, Oct. 1953.
- MELO, W.M.C.** **Divergência genética e capacidade de combinação entre híbridos de milho.** Lavras: UFLA, 2000. 73p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- MILACH, S.C.K. (ed.)** **Marcadores moleculares em plantas.** Porto Alegre: UFRGS, 1998. 141p.
- MIRANDA FILHO, J.B.; VIÉGAS, G.P.** Milho Híbrido. In: **PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G.P. Melhoramento e produção do milho.** 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v.1, p.277-340.
- MSTAT-C.** A software program for the design, management, and analysis of agronomic research experiments. Michigan State University, USA. 1991.
- NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SCKROCH, P.; SANTOS, J.B.** Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.120, n.2, p. 300-306, Mar. 1995.
- PATERNIANI, E.** Métodos tradicionais de melhoramento do milho. In: **BULL, L.T.; CANTARELLA, H. Cultura do Milho: fatores que afetam a produtividade.** Piracicaba: POTAFÓS, 1993. p.23-43.
- PATERNIANI, E.; MIRANDA FILHO, J.B.** Melhoramento de Populações. In: **PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G.P. Melhoramento e Produção de milho.** 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v.1, p.217-274.
- PIMENTEL GOMES, F.** **Curso de estatística experimental.** 5.ed. Piracicaba: Nobel, 1985. 466p.
- PINTO, R.M.C.** **Comparações de marcadores moleculares e cruzamentos dialélicos na alocação de linhagens de milho em grupos heteróticos.** Piracicaba: ESALQ/USP, 2000. 147p. (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

- PINTO, R.M.C.; LIMA NETO, F.P.; SOUZA JÚNIOR, C.L. Estimativa do número apropriado de progênies S_1 para a seleção recorrente em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.35, n.1, p.63-73, jan. 2000.
- RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.B.P. *Genética na Agropecuária*. São Paulo: Globo; Lavras-MG: FAEPE, 1989. 359p.
- RAWLINGS, J.O.; THOMPSON, D.L. Performance level as criterion for the choice of maize testers. *Crop Science*, Madison, v. 2, n.3, p. 217-220, May/June 1962.
- SAGHAI-MAROOF, M.A.; SOLIMAN, K.M.; JORGENSEN, R.A.; ALLARD, R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings National Academic Science of the United States of America*, Washington, v.81, p.8014-8018, 1984.
- SANTOS, J.B. Marcadores moleculares no melhoramento de Plantas. In: SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 1998, Lavras. *Anais...* Lavras: UFLA/FAEPE, 1998. p.31-46.
- SANTOS, J.B.; NIENHUIS, J.; SKROCK, P.; TIVANG, J.; SLOCUM, M.K. Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.87, n.8, p.909-915, Mar. 1994.
- SANTOS, P.E.T. Avaliação de progênies de meios irmãos "per se" e em "top cross" do composto CHSF br₂ de milho (*Zea mays* L.). Piracicaba: ESALQ/USP, 1985. 71 p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- SAS INSTITUTE. SAS language and procedures: usage statistics SAS Institute. Version 6, Cary, North Carolina, 1995. 373p.
- SCAPIN, C.A.; CARVALHO, C.G.P.; CRUZ, C.D. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.30, n.5, p.683-686, maio 1995.

- SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Washington, v.30, n.3, p.507-512, Sept. 1974.
- SHULL, G.H. A pure line method of corn breeding. Report. Report "American Breeders Association", Washington, v.5, p.51-59, 1909.
- SILVA, S.C. Identificação de marcadores RAPD para resistência à *Helicoverpa zea* (Boddie) em milho *Zea mays* L. Jaboticabal: UNESP/FCAV, 1997. 64p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- SKROCH, P.; TIVANG, J.; NIENHUIS, J. Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. In: APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING, Minneapolis, 1992. Proceedings... Minneapolis: Crop Science Society of America, 1992. p. 26-30.
- SMITH, J.S.C.; SMITH, O.S. The description and assessment of distances between inbred lines of maize. II. The utility of morphological, biochemical and genetic descriptions and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica*, Bergamo, v.34, p.151-61, 1989.
- SMITH, O.E.; SMITH, J.S.C. Measurement of genetic diversity among maize hybrids: A comparison of isozymic, RFLP, pedigree, and heterosis data. *Maydica*, Bergamo, v.37, n.1, p.53-60, 1991.
- SMITH, O.S. Covariance between line *per se* and testcross performance. *Crop Science*, Madison, v. 26, n.3, p. 540-543, May/June 1986.
- SMITH, O.S.; SMITH, J.S.C.; BOWEN, S.L.; TENBORG, R.A.; WALL, S.J. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F₁ grain yield, grain yield heterosis and RFLPs. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.80, n.6/7, p.833-840, May 1990.
- SOUZA, A.O. Bactérias endofíticas de milho (*Zea mays* L.) e sua variabilidade genética analisada por RAPD. Piracicaba: ESALQ/USP, 1996. 83p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

- SOUZA JÚNIOR, C.L.** Componentes de variância genética e suas implicações no melhoramento vegetal. Piracicaba: FEALQ, 1989. 134p.
- SOUZA JÚNIOR, C.L.** Contribuições da genética quantitativa para o melhoramento vegetal. In: **SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS**, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. p.97-125.
- SPRAGUE, G.F.; TATUM, L.A.** General and specific combining ability in single cross of corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, Madison, v.34, n.12, p.923-932, Dec. 1942.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H.** Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. 2.ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 633p.
- STUBER, C.W.** Breeding multigenics traits. In: **PHILLIPS, R.L.; VASIL, I.K. DNA-Based Markers in Plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. v.1, p.97-115.
- SURESH, K.S.; KHANNA, R.** Physiological, biochemical, and genetic basis of heterosis. **Advances in Agronomy**, New York, v.27, p.123-174, 1975.
- TINGEY, S.V.; RAFALSKI, J.A.; WILLIAMS, J.G.K.** Genetic analysis with RAPD markers. In: **APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING**, Minneapolis, 1992. **Proceedings...** Minneapolis: Crop Science Society of America, 1992. p.3-8.
- TROYER, A.F.** Breeding early corn. In: **HALLAUER, A.R. Speciality corns**. Ames: CRC Press, 1994. p.342-396.
- TSAFTARIS, S.A.** Molecular aspects of heterosis in plants. **Physiologia Plantarum**, Denmark, v.94, n.2, p.362-370, June 1995.
- VENCOVSKY, R.** Herança quantitativa. In: **PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G.P. Melhoramento e produção de milho**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.137-214.
- WELSH, J.; McCLELLAND, M.** Fingerprint genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.18, n.24, p.7213-7218, 1990.

**WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.;
TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are
useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, Oxford, v.18, n.22,
p.6531-6535, 1990.**

ANEXOS

ANEXO A	Página
TABELA 1A	Resumo das análises de variâncias, médias e coeficientes de variação de seis características avaliadas em 98 famílias S ₁ 79
TABELA 2A	Resumo das análises de variâncias, médias e coeficientes de variação de seis características avaliadas em 98 top crosses.....79
TABELA 3A	Médias ajustadas das características analisadas nas famílias S ₁ de milho.....80
TABELA 4A	Médias ajustadas das características analisadas nos top crosses de milho.....82
TABELA 5A	Matriz de distâncias, entre as 20 famílias S ₁ , obtidas pelo método das distâncias generalizadas de Mahalanobis (D ²) em relação às seis características avaliadas.....84
TABELA 6A	Matriz de distâncias, entre os 20 híbridos top crosses obtidas pelo método das distâncias generalizadas de Mahalanobis (D ²) em relação às seis características avaliadas.....85
TABELA 7A	Iniciadores utilizados e respectiva seqüência de bases, número de bandas polimórficas para as 20 famílias S ₁ estudadas pelos marcadores RAPD.....86
TABELA 8A	Distâncias genéticas (acima da diagonal) e erro padrão estimado (abaixo da diagonal) entre as 20 famílias S ₁ , duas a duas (1 a 20) e entre cada uma delas e o testador (21)...87
TABELA 9A	Distâncias genéticas (acima da diagonal) e erro padrão estimado (abaixo da diagonal) entre os 190 híbridos teóricos obtidos simuladamente do intercruzamento das 20 famílias S ₁ duas a duas e o testador (1 a 20) e entre os 20 top crosses teóricos e o testador (21).....88

TABELA 1A. Resumo das análises de variâncias, médias e coeficientes de variação de seis características avaliadas em 98 famílias S1. Lavras-MG, 2000.

Fonte de Variação	GL	AE	AP	EF	NE	PC	PE
Famílias	97	0,021449**	0,036965**	10,601147**	30,3105541**	28,129865 ^{ms}	6534654,09**
Resíduo	97	0,007378	0,012748	4,363402	11,123711	22,435567	691902,66
Média		0,78	1,55	14,63	17,22	28,41	4048,76
CV(%)		11,01	7,26	14,28	19,36	16,67	20,54
** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.							
Características: AE: altura de espiga (m); AP: altura de planta (m); EF: estande final; NE: número de espigas; PC: peso de 100 grãos (g); PE: peso de espigas despalhadas (kg/ha).							

TABELA 2A. Resumo das análises de variâncias, médias e coeficientes de variação de seis características avaliadas em 98 top crosses. Lavras-MG, 2000.

Fonte de Variação	GL	AE	AP	EF	NE	PC	PE
Híbridos	97	0,016416**	0,031492**	6,61477**	34,703608**	16,968125 ^{ms}	4952458,53**
Resíduo	97	0,00878	0,015222	2,765622	11,342784	12,289554	1157605,45
Média		0,82	1,62	17,81	22,89	29,35	6622,44
CV(%)		11,37	7,62	9,34	14,71	11,94	16,25
** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.							
Características: AE: altura de espiga (m); AP: altura de planta (m); EF: estande final; NE: número de espigas; PC: peso de 100 grãos (g); PE: peso de espigas despalhadas (kg/ha).							

TABELA 3A. Médias ajustadas das características analisadas nas famílias S₁ de milho. Lavras-MG, 2000.

Ord.	Trat.	Fam.	AE	AP	EF	NE	PC	PE
1	66	111	0.90	1.86	18.92	28.82	30.12	10177.70a**
2	46	80	1.07	1.82	18.54	27.56	34.80	9753.10a
3	68	115	1.05	1.95	16.38	22.48	37.65	9641.69a
4	21	34	0.82	1.56	16.90	19.82	28.23	7139.95b
5	91	157	1.07	1.90	16.02	15.15	39.17	7096.13b
6	18	31	0.91	1.81	16.57	22.45	32.22	7010.49b
7	45	78	0.67	1.41	17.93	22.40	26.65	6794.02b
8	27	40	1.00	1.84	16.78	19.23	27.95	6650.84b
9	2	4	0.95	1.77	13.09	20.90	34.72	6213.18c
10	8	10	0.90	1.64	18.04	22.43	31.38	6197.67c
11	54	90	0.90	1.78	17.64	16.10	25.61	6109.51c
12	79	138	0.80	1.54	15.90	19.06	30.41	6062.43c
13	23	36	0.77	1.47	14.95	19.02	29.95	6055.27c
14	65	110	0.91	1.72	16.71	18.18	29.90	6015.26c
15	83	143	0.86	1.55	16.38	19.93	29.44	5843.24c
16	26	39	0.77	1.58	14.47	19.15	31.42	5828.46c
17	24	37	0.90	1.64	14.54	21.50	31.55	5707.22c
18	56	92	0.70	1.60	16.07	19.76	27.47	5607.75c
19	37	62	0.75	1.60	15.58	18.75	30.72	5547.58c
20	34	56	0.85	1.63	18.20	23.12	28.07	5520.02c
21	28	41	1.00	2.01	11.50	15.37	29.41	5440.36c
22	60	104	0.69	1.61	17.89	16.90	30.31	5379.52c
23	12	17	0.74	1.49	18.73	19.92	26.32	5317.23c
24	63	108	0.87	1.56	16.82	21.31	29.05	5297.73c
25	29	45	0.67	1.49	12.60	14.84	30.76	5027.55c
26	35	59	0.75	1.50	16.15	21.96	28.60	4720.96c
27	41	69	0.84	1.59	11.95	17.57	30.13	4698.49c
28	16	25	0.77	1.55	13.56	18.45	29.97	4697.04c
29	64	109	1.02	1.73	16.06	18.03	30.80	4688.07c
30	11	13	0.72	1.51	14.42	18.85	31.79	4683.85c
31	49	84	0.85	1.72	15.60	17.53	32.89	4667.57c
32	62	106	0.78	1.62	14.04	16.04	25.55	4654.12c
33	77	136	0.84	1.51	16.59	19.10	29.70	4555.74c
34	52	88	0.65	1.50	15.70	17.45	30.31	4478.84c
35	90	152	0.83	1.57	17.42	26.49	26.02	4453.55c
36	73	128	0.75	1.47	15.56	17.93	22.98	4450.13c
37	51	87	0.87	1.60	15.09	19.47	36.47	4439.65c
38	31	49	0.70	1.40	15.14	18.15	25.48	4356.05c
39	61	105	0.80	1.54	16.50	17.56	27.46	4343.60c
40	44	77	0.78	1.58	14.05	15.01	29.11	4309.07c
41	88	149	0.72	1.58	14.04	13.45	31.54	4304.53c
42	53	89	0.72	1.40	15.55	17.13	24.00	4292.56c
43	19	32	0.75	1.52	17.02	15.78	32.25	4026.93d
44	14	23	0.82	1.54	14.41	19.21	26.82	4016.16d
45	67	114	0.80	1.58	10.03	15.80	33.21	3993.47d
46	76	135	0.75	1.58	16.54	20.62	25.11	3894.73d
47	57	93	0.70	1.50	14.88	13.83	28.00	3875.13d
48	86	147	0.82	1.58	16.35	23.89	30.01	3870.26d
49	70	124	0.75	1.64	14.44	16.15	32.65	3852.48d
50	75	131	0.65	1.46	15.94	13.97	24.21	3802.15d
51	7	9	0.85	1.71	13.44	18.77	28.98	3792.59d
52	33	55	0.72	1.43	15.46	15.90	25.82	3688.18d

...“continua”...

"TABELA 3A. Cont."

Ord.	Trat.	Fam.	AE	AP	EF	NE	PC	PE
53	25	38	0.72	1.44	14.51	18.69	27.20	3630.06d
54	43	75	0.75	1.56	12.97	21.78	26.63	3569.39d
55	32	51	0.95	1.84	12.19	14.13	33.56	3489.07d
56	81	140	0.60	1.40	11.92	11.28	27.15	3485.83d
57	59	103	0.85	1.65	13.01	14.01	34.27	3475.57d
58	98	168	0.77	1.39	14.59	20.31	23.59	3428.06d
59	17	30	0.80	1.45	13.33	21.22	30.97	3424.66d
60	85	146	0.77	1.59	16.44	17.10	27.68	3376.03d
61	71	125	0.79	1.61	15.40	14.61	30.62	3327.38d
62	97	167	0.72	1.54	9.50	14.34	31.99	3291.11d
63	48	83	0.75	1.47	13.86	15.81	19.39	3175.73d
64	69	123	0.75	1.48	17.47	21.95	29.51	3175.14d
65	94	160	0.65	1.42	15.01	16.97	25.96	3150.30d
66	4	6	0.86	1.62	15.61	19.40	24.22	2986.63d
67	87	148	0.80	1.59	14.59	16.12	23.00	2976.60d
68	95	162	0.69	1.40	10.82	11.05	27.99	2969.68d
69	92	158	0.70	1.40	12.07	14.62	26.75	2951.65d
70	80	139	0.70	1.42	11.71	13.14	27.93	2925.81d
71	72	126	0.67	1.43	12.61	18.60	27.45	2895.19d
72	22	35	0.75	1.43	17.04	18.19	24.95	2878.21d
73	89	151	0.85	1.57	10.54	17.59	26.97	2874.60d
74	55	91	0.67	1.45	15.11	15.80	33.25	2714.36d
75	3	5	0.75	1.57	12.87	14.68	24.97	2713.80d
76	10	12	0.65	1.43	15.47	16.38	28.07	2694.96d
77	50	85	0.62	1.40	16.55	16.37	25.67	2672.50d
78	84	145	0.70	1.45	14.47	14.90	30.04	2650.19d
79	74	129	0.85	1.47	11.56	14.57	32.17	2617.70e
80	13	22	0.70	1.50	17.06	19.53	32.63	2534.45e
81	39	66	0.76	1.59	11.52	12.41	29.52	2368.75e
82	42	73	0.75	1.44	17.76	14.64	24.66	2365.87e
83	20	33	0.75	1.51	11.52	14.92	26.19	2360.50e
84	93	159	0.78	1.45	13.05	13.01	28.73	2219.41e
85	40	67	0.75	1.62	14.49	16.60	29.16	2200.60e
86	47	81	0.60	1.41	11.09	13.04	25.39	2189.12e
87	6	8	0.80	1.62	15.06	19.88	23.94	2119.64e
88	15	24	0.61	1.44	12.51	13.48	20.38	1998.53e
89	1	3	0.80	1.65	9.45	10.06	27.79	1945.76e
90	36	60	0.70	1.39	15.15	12.60	18.53	1895.02e
91	5	7	0.80	1.56	12.06	13.23	28.50	1772.57e
92	38	65	0.80	1.47	10.93	11.43	22.16	1686.80e
93	58	95	0.67	1.34	14.01	14.87	23.59	1643.00e
94	78	137	0.65	1.44	13.87	10.37	21.20	1484.86e
95	82	142	0.67	1.41	16.03	11.75	23.75	1474.52e
96	9	11	0.60	1.41	12.00	13.19	24.43	1418.62e
97	96	165	0.70	1.40	9.64	11.16	28.80	1304.90e
98	30	46	0.75	1.47	11.53	9.50	29.08	1235.48e

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott (1974).

^As 20 famílias que estão em negrito correspondem às que foram analisadas pelos marcadores RAPD.

TABELA 4A. Médias ajustadas das características analisadas nos top crosses de milho. Lavras-MG, 2000.

Ord.	Trat.	Híbr.	AE	AP	EF	NE	PC	PE
1	91	157	1.17	2.08	19.57	24.36	36.13	11839.20a*
2	75	131	0.77	1.61	20.00	26.36	30.97	11004.40a
3	18	31	0.82	1.74	18.79	25.92	33.24	10291.80a
4	68	115	0.95	1.72	18.42	24.24	34.54	10201.40a
5	41	69	0.97	1.77	19.54	27.17	26.14	10094.00a
6	14	23	0.97	1.75	17.95	29.48	27.46	9616.95a
7	96	165	0.95	1.78	16.93	22.94	34.72	9550.33a
8	16	25	1.00	1.85	19.52	20.88	29.99	9273.03a
9	19	32	1.00	1.88	18.51	23.06	36.21	9149.83a
10	17	30	0.87	1.68	17.98	26.85	34.46	8318.93b
11	66	111	0.99	1.74	19.94	28.19	30.35	8304.95b
12	25	38	0.78	1.60	19.82	30.53	24.43	8293.69b
13	83	143	0.80	1.66	18.42	30.19	27.83	8270.53b
14	74	129	0.90	1.70	18.15	29.68	30.78	8262.72b
15	48	83	0.77	1.66	19.01	26.43	28.13	8128.50b
16	56	92	0.85	1.65	18.66	24.36	30.98	8075.82b
17	1	3	0.90	1.66	19.47	30.42	30.52	8015.42b
18	86	147	0.77	1.61	19.50	31.52	34.50	7945.53b
19	98	168	0.82	1.54	19.09	32.08	25.46	7885.92b
20	72	126	0.82	1.55	19.33	27.57	26.22	7794.01b
21	31	49	0.87	1.60	19.19	22.87	29.44	7750.72b
22	24	37	0.87	1.69	18.04	23.76	30.67	7721.07b
23	35	59	0.92	1.72	18.64	27.74	27.80	7628.86b
24	70	124	0.76	1.56	18.75	26.48	33.63	7593.11b
25	11	13	0.72	1.56	16.02	21.45	34.80	7481.92b
26	60	104	0.81	1.59	17.45	21.30	27.08	7464.81b
27	29	45	0.80	1.55	17.89	30.62	28.19	7442.98b
28	26	39	0.93	1.75	19.06	25.25	29.17	7430.53b
29	49	84	0.87	1.79	18.32	22.51	26.91	7385.38b
30	23	36	1.00	1.72	19.50	23.28	31.34	7362.56b
31	88	149	0.71	1.57	18.02	25.73	29.74	7333.93b
32	87	148	0.82	1.54	18.80	24.09	29.78	7288.41b
33	92	158	0.82	1.67	19.54	23.55	25.27	7288.14b
34	58	95	0.83	1.57	19.50	32.15	29.04	7028.40b
35	51	87	0.87	1.70	19.61	29.34	25.70	6994.32b
36	85	146	0.95	1.84	18.25	18.94	30.91	6992.16b
37	53	89	0.77	1.54	19.59	21.89	26.89	6964.35b
38	81	140	0.83	1.66	19.94	24.64	31.88	6775.00c
39	21	34	0.82	1.59	18.97	19.21	33.99	6698.73c
40	43	75	0.96	1.73	16.99	21.64	29.36	6626.06c
41	46	80	0.92	1.67	15.09	20.78	32.02	6573.76c
42	69	123	0.87	1.79	17.47	24.71	28.88	6541.49c
43	47	81	0.67	1.41	19.55	21.47	22.16	6508.10c
44	32	51	0.65	1.40	19.15	23.56	23.59	6436.56c
45	84	145	0.75	1.51	17.97	20.67	27.16	6427.54c
46	80	139	0.87	1.65	18.44	27.50	29.45	6422.43c
47	28	41	0.70	1.44	19.51	23.73	31.39	6352.53c
48	5	7	0.82	1.57	18.54	19.51	29.71	6321.47c
49	79	138	0.65	1.46	19.49	24.66	30.16	6300.00c
50	57	93	0.78	1.55	18.61	22.19	30.26	6269.75c
51	37	62	0.67	1.53	17.37	21.54	34.65	6222.51c
52	78	137	0.77	1.52	17.02	24.50	23.69	6197.13c

... "continua"...

"TABELA 4A. Cont."

Ord.	Trat.	Hibr.	AE	AP	EF	NE	PC	PE
53	71	125	0.72	1.45	17.49	19.21	26.88	6191.45c
54	59	103	0.76	1.66	17.60	24.12	26.64	6171.10c
55	82	142	0.80	1.64	18.82	25.03	28.42	6154.95c
56	30	46	0.77	1.49	19.59	22.39	31.59	6145.76c
57	9	11	0.77	1.45	18.50	26.45	31.05	6091.47c
58	45	78	0.89	1.48	18.00	26.30	29.16	6083.31c
59	2	4	0.72	1.63	19.06	18.84	29.24	6031.67c
60	38	65	0.90	1.76	18.97	26.20	30.55	6019.09c
61	93	159	0.70	1.46	17.86	19.85	28.72	6002.53c
62	8	10	0.80	1.62	18.59	20.64	29.10	5979.83c
63	90	152	0.75	1.43	17.98	24.88	28.28	5950.84c
64	61	105	0.89	1.81	16.54	20.28	26.93	5768.26c
65	34	56	0.89	1.75	15.42	14.60	29.34	5697.83c
66	4	6	0.81	1.62	15.83	20.87	25.99	5692.95c
67	73	128	0.82	1.64	19.54	27.71	26.94	5674.53c
68	33	55	0.77	1.40	18.61	24.52	24.56	5632.45c
69	42	73	0.82	1.57	14.99	18.00	29.42	5628.49c
70	15	24	0.75	1.49	19.56	19.69	27.10	5626.69c
71	44	77	0.82	1.57	18.14	22.12	28.97	5614.09c
72	64	109	0.92	1.86	19.28	20.01	35.07	5548.38c
73	6	8	0.85	1.69	17.65	20.99	29.05	5485.66c
74	97	167	0.80	1.56	14.54	18.60	29.38	5418.40c
75	27	40	0.85	1.66	14.01	19.59	33.96	5399.96c
76	36	60	0.80	1.48	15.74	21.71	28.40	5344.05c
77	39	66	0.72	1.49	16.52	25.67	27.89	5326.11c
78	13	22	0.75	1.67	17.85	20.32	27.81	5302.38c
79	77	136	0.76	1.49	17.56	21.53	30.47	5274.73c
80	12	17	0.70	1.42	19.47	20.28	25.08	5270.86c
81	94	160	0.67	1.45	15.60	16.57	30.71	5246.37c
82	52	88	0.82	1.65	18.49	22.73	28.99	5229.27c
83	89	151	0.92	1.74	14.13	16.20	32.09	5163.13c
84	67	114	0.75	1.68	16.32	19.08	27.89	5070.90c
85	7	9	0.80	1.63	16.00	19.67	29.49	5065.38c
86	10	12	0.82	1.63	14.78	19.22	31.05	5025.08c
87	76	135	0.84	1.63	15.09	19.34	29.83	5014.39c
88	20	33	0.72	1.59	17.61	22.03	27.30	4942.52c
89	55	91	0.84	1.57	13.92	13.64	23.98	4899.48c
90	3	5	0.76	1.68	12.52	15.80	27.71	4876.57c
91	22	35	0.77	1.48	15.55	21.05	30.93	4863.37c
92	50	85	0.72	1.46	16.04	21.65	29.38	4830.40c
93	63	108	0.76	1.47	19.47	19.43	28.04	4774.00c
94	40	67	0.85	1.61	16.80	18.94	29.64	4694.72c
95	54	90	0.80	1.81	11.64	14.87	25.98	4476.37c
96	95	162	0.90	1.62	14.55	16.90	31.25	4394.81c
97	62	106	0.75	1.46	19.01	15.97	27.07	3986.11c
98	65	110	0.83	1.55	14.44	16.04	30.41	3783.88c

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott (1974).

*Os 20 top crosses que estão em negrito correspondem às famílias que foram analisadas pelos marcadores RAPD.

TABELA 5A. Matriz de distâncias, entre as 20 famílias S₁, obtidas pelo método das distâncias generalizadas de Mahalanobis (D²) em relação às seis características avaliadas. Lavras-MG, 2000.

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

*1(110), 2(111), 3(114), 4(115), 5(123), 6(124), 7(125), 8(126), 9(128), 10(129), 11(131), 12(135), 13(136), 14(137), 15(138), 16(139), 17(140), 18(142), 19(143) e 20(145).

TABELA 6A. Matriz de distâncias, entre os 20 top crosses, obtidas pelo método das distâncias generalizadas de Mahalanobis (D^2) em relação às seis características avaliadas. Lavras-MG, 2000.

Fam.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1*	27,66	9,31	48,13	15,52	22,64	12,62	27,13	20,38	28,30	66,69	2,54	6,66	15,68	20,74	16,36	15,82	14,18	33,65	12,79
2		23,85	15,37	10,35	7,63	15,19	4,59	14,06	3,01	24,76	17,04	13,90	11,10	16,22	6,25	6,36	9,38	7,89	11,41
3			43,14	4,79	15,59	10,56	20,85	12,90	20,84	50,30	4,23	4,23	10,84	12,08	12,43	9,35	6,24	19,46	8,91
4				31,37	17,86	24,03	21,16	50,96	17,92	7,31	35,31	34,67	33,62	35,12	33,71	24,51	34,23	24,30	22,49
5					9,50	13,15	11,62	7,26	7,74	39,58	5,97	9,34	7,34	11,82	4,52	5,11	2,86	8,17	9,47
6						7,59	4,65	13,06	4,61	19,67	13,15	6,97	8,03	4,15	6,63	3,48	5,94	5,23	5,53
7							8,40	17,43	15,55	26,99	8,56	4,28	6,25	6,23	12,56	7,00	8,14	15,56	0,41
8								10,67	3,99	21,81	16,91	9,65	3,97	7,58	5,60	6,38	6,59	3,93	6,02
9									12,42	55,83	13,09	8,22	6,38	8,82	2,51	7,01	2,56	11,33	13,50
10										23,61	15,68	13,53	8,07	13,14	4,70	7,47	7,92	2,18	11,74
11											49,65	42,65	36,39	32,45	41,73	30,36	38,89	22,86	25,70
12												4,36	8,41	13,92	8,52	8,58	6,76	19,15	7,43
13													5,26	4,55	5,53	4,09	3,71	15,36	3,51
14														6,66	4,05	7,33	3,49	6,67	4,55
15															8,10	4,45	4,27	10,17	4,88
16																3,87	1,84	6,44	9,06
17																	1,90	9,03	4,36
18																		7,37	5,27
19																			11,78

*1(110), 2(111), 3(114), 4(115), 5(123), 6(124), 7(125), 8(126), 9(128), 10(129), 11(131), 12(135), 13(136), 14(137), 15(138), 16(139), 17(140), 18(142), 19(143) e 20(145).

TABELA 7A. Iniciadores utilizados e respectiva seqüência de bases, número de bandas polimórficas para as 20 famílias S₁ estudadas pelos marcadores RAPD. Lavras-MG, 2000.

Iniciador	Seqüência (5'-3')	Nº bandas polimórficas
OPA-01	CAGGCCCTTC	03
OPA-02	TGCCGAGCTG	01
OPA-03	AGTCAGCCAC	06
OPA-04	AATCGGGCTG	02
OPA-09	GGGTAACGCC	02
OPA-10	GTGATCGCAG	02
OPA-11	CAATCGCCGT	01
OPA-13	CAGCACCCAC	03
OPA-16	AGCCAGCGAA	04
OPA-17	GACCGCTTGT	03
OPA-18	AGGTGACCGT	02
OPA-20	GTTGCGATCC	05
OPB-01	GTTTCGCTCC	04
OPB-05	TGCGCCCTTC	04
OPB-06	TGCTCTGCCC	03
OPB-07	GGTGACGCAG	03
OPB-10	CTGCTGGGAC	01
OPB-12	CCTTGACGCA	02
OPB-17	AGGGAACGAG	04
OPB-18	CCACAGCAGT	04
OPC-01	TTCGAGCCAG	03
OPC-02	GTGAGGCGTC	08
OPC-08	TGGACCGGTG	01
OPC-09	CTCACCGTCC	03
OPC-11	AAAGCTGCGG	03
OPC-13	AAGCCTCGTC	03
OPC-14	TGCGTGCTTG	04
OPC-16	CACACTCCAG	02
OPD-01	ACCGCGAAGG	02
OPD-02	GGACCCAACC	02
OPD-03	GTCGCCGTCA	02
OPD-05	TGAGCGGACA	03
OPD-11	AGCGCCATTG	01
OPD-15	CATCCGTGCT	02
OPD-20	ACCCGGTCC	03
Total		101

TABELA 8A. Distâncias genéticas (acima da diagonal) e erro padrão estimado (abaixo da diagonal) entre as 20 famílias S₁, duas a duas (1 a 20) e entre cada uma delas e o testador (21). Lavras-MG, 2000.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1		0,49	0,36	0,52	0,46	0,38	0,42	0,39	0,36	0,54	0,71	0,42	0,39	0,53	0,42	0,45	0,39	0,41	0,43	0,49	0,43
2	0,05		0,35	0,29	0,34	0,41	0,50	0,43	0,41	0,53	0,56	0,50	0,42	0,54	0,44	0,51	0,39	0,42	0,41	0,52	0,37
3	0,05	0,05		0,36	0,23	0,24	0,30	0,24	0,24	0,38	0,57	0,32	0,28	0,48	0,27	0,35	0,31	0,29	0,35	0,42	0,25
4	0,05	0,05	0,05		0,39	0,36	0,39	0,38	0,38	0,48	0,55	0,41	0,39	0,54	0,41	0,45	0,42	0,41	0,42	0,46	0,35
5	0,05	0,05	0,04	0,05		0,28	0,35	0,28	0,21	0,41	0,58	0,35	0,23	0,49	0,33	0,36	0,24	0,26	0,25	0,39	0,18
6	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05		0,22	0,21	0,24	0,42	0,61	0,19	0,21	0,38	0,19	0,23	0,21	0,19	0,23	0,34	0,18
7	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04		0,18	0,23	0,46	0,64	0,18	0,27	0,37	0,26	0,25	0,30	0,26	0,32	0,30	0,22
8	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,04	0,04		0,22	0,40	0,60	0,25	0,19	0,40	0,23	0,24	0,22	0,20	0,26	0,30	0,19
9	0,05	0,05	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04		0,42	0,59	0,25	0,23	0,42	0,23	0,26	0,24	0,25	0,28	0,32	0,16
10	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05		0,62	0,41	0,39	0,53	0,43	0,46	0,42	0,43	0,48	0,49	0,40
11	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05		0,67	0,61	0,74	0,66	0,65	0,63	0,67	0,66	0,68	0,57
12	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05		0,27	0,34	0,21	0,30	0,30	0,23	0,30	0,30	0,26
13	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04		0,41	0,22	0,18	0,19	0,19	0,23	0,31	0,13
14	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05		0,39	0,40	0,40	0,36	0,40	0,46	0,38
15	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05		0,25	0,28	0,21	0,25	0,33	0,26
16	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,04		0,29	0,32	0,33	0,31	0,23
17	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05		0,20	0,19	0,32	0,21
18	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05	0,04		0,16	0,30	0,21
19	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,04	0,05	0,04	0,04		0,29	0,25
20	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05		0,30
21	0,05	0,05	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04	0,03	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05

TABELA 9A. Distâncias genéticas (acima da diagonal) e erro padrão estimado (abaixo da diagonal) entre os 190 híbridos teóricos obtidos simuladamente do inter cruzamento das 20 famílias S₁, duas a duas e o testador (1 a 20) e entre os 20 top crosses teóricos e o testador (21). Lavras-MG, 2000.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1		0,32	0,25	0,27	0,18	0,18	0,17	0,16	0,18	0,26	0,33	0,22	0,13	0,25	0,19	0,17	0,20	0,18	0,23	0,20	0,07
2	0,05		0,24	0,32	0,21	0,19	0,19	0,20	0,22	0,24	0,36	0,21	0,17	0,26	0,22	0,18	0,20	0,20	0,21	0,22	0,13
3	0,04	0,04		0,25	0,18	0,18	0,15	0,15	0,16	0,25	0,30	0,19	0,11	0,18	0,17	0,14	0,14	0,14	0,16	0,15	0,09
4	0,04	0,05	0,04		0,24	0,24	0,23	0,21	0,22	0,28	0,35	0,24	0,20	0,27	0,24	0,23	0,21	0,21	0,23	0,23	0,17
5	0,04	0,04	0,04	0,04		0,10	0,11	0,13	0,15	0,22	0,25	0,14	0,11	0,12	0,15	0,10	0,13	0,13	0,14	0,14	0,08
6	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03		0,13	0,11	0,11	0,20	0,26	0,17	0,09	0,17	0,17	0,15	0,13	0,13	0,15	0,14	0,01
7	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03		0,13	0,09	0,21	0,25	0,21	0,09	0,18	0,15	0,15	0,12	0,13	0,15	0,17	0,03
8	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03		0,09	0,21	0,27	0,14	0,10	0,15	0,13	0,14	0,13	0,13	0,15	0,17	0,04
9	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03		0,20	0,26	0,15	0,09	0,13	0,14	0,12	0,13	0,12	0,15	0,14	0,04
10	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04		0,36	0,25	0,17	0,25	0,24	0,19	0,24	0,21	0,22	0,23	0,12
11	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05		0,26	0,21	0,28	0,26	0,24	0,23	0,23	0,24	0,27	0,18
12	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04		0,14	0,22	0,22	0,19	0,17	0,17	0,19	0,22	0,05
13	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04		0,15	0,14	0,11	0,13	0,14	0,15	0,14	0,05
14	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,05	0,04	0,04		0,22	0,20	0,18	0,19	0,20	0,20	0,05
15	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04		0,19	0,15	0,18	0,22	0,20	0,05
16	0,04	0,04	0,03	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04		0,14	0,14	0,17	0,18	0,04
17	0,04	0,04	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04		0,16	0,17	0,18	0,05
18	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04		0,20	0,16	0,04
19	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04		0,19	0,05
20	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04		0,05
21	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,01	0,02	0,02	0,02	0,03	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02