



PAULO EDUARDO RODRIGUES PRADO

**ESTRATÉGIA PARA SELEÇÃO DE PROGÊNIES
DE MILHO E VALIDAÇÃO DE GRUPOS
HETERÓTICOS**

LAVRAS - MG

2015

PAULO EDUARDO RODRIGUES PRADO

**ESTRATÉGIA PARA SELEÇÃO DE PROGÊNIES DE MILHO E
VALIDAÇÃO DE GRUPOS HETERÓTICOS**

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

Orientador

Dr. João Cândido de Sousa

LAVRAS – MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Prado, Paulo Eduardo Rodrigues.

Estratégia para seleção de progênies de milho e validação de grupos heteróticos / Paulo Eduardo Rodrigues Prado. – Lavras : UFLA, 2015.

86 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador: João Cândido de Sousa.

Bibliografia.

1. Capacidade geral de combinação. 2. Capacidade específica de combinação. 3. Classificação de germoplasma. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

PAULO EDUARDO RODRIGUES PRADO

**ESTRATÉGIA PARA SELEÇÃO DE PROGÊNIES DE MILHO E
VALIDAÇÃO DE GRUPOS HETERÓTICOS**

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

APROVADA em 27 de fevereiro de 2015.

| | |
|-------------------------------------|----------------|
| Dra. Flávia Maria Avelar Gonçalves | UFLA |
| Dra. Angêla de Fátima Barbosa Abreu | EMBRAPA |
| Dr. Vitor Hugo Barbosa Barbieri | SYNGENTA SEEDS |
| Dr. Diego Velasquez Faleiro e Silva | SYNGENTA SEEDS |

Dr. João Cândido de Sousa
Orientador

LAVRAS – MG

2015

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) pela oportunidade concedida para a realização do curso de doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de pesquisa.

Aos professores do curso de pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pelos ensinamentos transmitidos e pela prazerosa convivência.

Ao professor João Cândido de Sousa pela confiança, amizade e orientação durante o curso de doutorado.

À professora Flávia Avelar pela amizade, incentivo e contribuições como membro da banca.

À pesquisadora Ângela Abreu pela prazerosa convivência e contribuições como membro da banca.

Ao melhorista Diego Velasquez pela amizade e contribuições como membro da banca.

Ao melhorista Vitor Barbieri pelo incentivo, amizade, ensinamentos e contribuições como membro da banca.

Ao melhorista Ramon Rangel pela amizade e sugestões ao trabalho.

Ao pesquisador Fernando Toledo pela amizade e valiosa contribuição na elaboração deste trabalho.

Aos amigos Carlos Henrique e Lamartine pela valiosa contribuição nas análises de genotipagem.

Ao amigo Kaio Dias pela amizade e as contribuições para a realização deste trabalho.

Aos colegas e amigos do curso de pós graduação: Carlos Henrique, Renatão, Camila, Carlão, Vavá, Natália, Ana, Lucas, Rafael, Juninho, Hugo,

Josiel, Izabel, Kaio, Guilherme, Samuel, Monike, Jerônimo, Bráulio e Lidiane pela amizade e prazerosa convivência. Um agradecimento especial aos membros do grupo do milho pelo importante auxílio na condução dos experimentos e coleta dos dados para realização deste trabalho.

À minha esposa, Patricia, e aos meus familiares pelo amor, incentivo e paciência.

A todos o meu muito obrigado!

RESUMO GERAL

Este trabalho foi particionado em dois tópicos, o primeiro trata das estratégias de seleção de progênies de milho e teve como objetivo verificar quais estratégias aplicadas na geração $S_{0:3}$ resultaram em híbridos de melhor desempenho na geração seguinte. Treze progênies foram cruzadas em esquema de dialelo completo na geração $S_{0:3}$ e $S_{0:4}$. Os híbridos e as progênies da geração $S_{0:3}$ foram avaliados para produtividade de grãos em dois ambientes. Em outros dois ambientes foram avaliados os híbridos da geração $S_{0:4}$. Posteriormente, foram realizadas as análises de variâncias para as progênies na geração $S_{0:3}$ e para os híbridos na geração $S_{0:3}$ e $S_{0:4}$. A análise dialélica foi realizada considerando o dialelo completo com as progênies na geração $S_{0:3}$ e também considerando todas as possibilidades de dialelos parciais onde um dos grupos é composto apenas por duas progênies. Por fim, foi estimado o diferencial de seleção da geração $S_{0:4}$ considerando a seleção das duas melhores progênies na geração $S_{0:3}$ pelas estratégias avaliadas: desempenho *per se* das progênies, desempenho dos híbridos, capacidade geral de combinação (CGC) obtida por meio do dialelo completo e CGC obtida nos dialelos parciais. Dentre as estratégias de seleção avaliadas, a CGC apresentou o melhor desempenho para a obtenção de híbridos de milho. O segundo tópico trata da alocação de progênies de milho em grupos heteróticos e teve como objetivo validar a eficiência de dois híbridos simples, com alta estimativa de capacidade específica de combinação (CEC), em classificar progênies em grupos heteróticos. Treze progênies foram separadas em dois grupos de acordo com seu desempenho em combinações híbridas com dois testadores (híbridos simples). Treze progênies foram cruzadas em esquema de dialelo completo, os híbridos gerados foram avaliados para produção de grãos e os resultados submetidos a análise de variância e dialélica. As progênies foram genotipadas e com os resultados dos marcadores foram estimadas as distâncias genéticas entre as progênies. Visando confirmar os grupos formados por meio dos testadores, outros dois agrupamentos foram realizados. Um utilizando a dissimilaridade genética obtida por meio dos marcadores e o outro utilizando as estimativas de CEC da análise dialélica. Verificou-se que os híbridos simples não foram eficientes na classificação das progênies em grupos heteróticos.

Palavras-chave: Capacidade geral de combinação. Capacidade específica de combinação. Dialelo. Seleção de linhagens. Dissimilaridade genética.

GENERAL ABSTRACT

This work was divided into two topics. The first regards the selection strategies of corn progenies, and had the objective of verifying which strategies applied to the $S_{0:3}$ generation resulted in better performing hybrids in the next generation. We crossed 13 progenies, from generations $S_{0:3}$ and $S_{0:4}$, in a complete diallel scheme. The hybrids and progenies of generation $S_{0:3}$ were evaluated for grain productivity in two environments. In another two environments, we evaluated the hybrids of generation $S_{0:4}$. Posteriorly, we conducted analysis of variance on the progenies from generation $S_{0:3}$ and on hybrids of generations $S_{0:3}$ and $S_{0:4}$. The diallel analysis was performed considering the complete diallel with the progenies in generation $S_{0:3}$, also considering all possibilities of partial diallels, in which one of the groups was comprised of only two progenies. Finally, we estimated the selection differential in generation $S_{0:4}$, considering the selection of two better performing progenies in generation $S_{0:3}$, by using the strategies: *per se* evaluation of the progenies; hybrid performance; general combination ability (GCA), obtained by means of complete diallel; and GCA, obtained from the partial diallels. Among the evaluated strategies, GCA presented the best performance for obtaining corn hybrids. The second topic regards the allocation of corn progenies in heterotic groups, and had the objective of validating the efficiency of two simple cross hybrids, with high estimate of specific combination ability (SCA), in classifying progenies into heterotic groups. We divided 13 progenies into two groups, according to their performance in hybrid combinations, with two testers (simple cross hybrids). The 13 progenies were crossed in a complete diallel scheme. The hybrids generated were evaluated for grain production, and the results submitted to analysis of variance and diallel analysis. The progenies were genotyped and, with the results obtained with the markers, the genetic distances between progenies were estimated. Aiming at confirming the groups formed by means of the testers, another two groupings was performed. One group was formed using the genetic dissimilarity obtained by the markers, and the other, using the SCA estimates obtained by the diallel analysis. We verified that the simple hybrids were not efficient in classifying the progenies into heterotic groups.

Keywords: general combination ability; specific combination ability; diallel; inbred selection; genetic dissimilarity.

SUMÁRIO

| | |
|---|---|
| PRIMEIRA PARTE | |
| 1 | INTRODUÇÃO 9 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO 11 |
| 2.1 | Milho híbrido e heterose 11 |
| 2.2 | Grupos heteróticos e padrão heterótico 14 |
| 2.3 | Marcadores microssatélites 17 |
| 2.4 | Predição do desempenho de híbridos por meio de marcadores moleculares 18 |
| 2.5 | Componentes de produção do milho 20 |
| 2.6 | Seleção de linhagens de milho 23 |
| 2.7 | Cruzamentos dialélicos 25 |
| 3 | CONCLUSÃO 28 |
| | REFERÊNCIAS 29 |
| SEGUNDA PARTE - ARTIGOS 36 | |
| | ARTIGO 1 Estratégia para a seleção de progênies de milho 36 |
| | ARTIGO 2 Validação de grupos heteróticos de milho utilizando híbridos simples como testadores 58 |

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Um programa de melhoramento de milho pode ser dividido em diversas etapas, as quais vão desde introdução e organização do germoplasma até a recomendação de híbridos. Os assuntos abordados neste trabalho estão relacionados especificamente a organização do germoplasma e a estratégia utilizada na seleção de linhagens.

No que concerne a organização do germoplasma, uma estratégia comumente utilizadas em programas comerciais de melhoramento de milho é a formação dos grupos heteróticos, os quais podem ser definidos como uma coleção de germoplasma que, quando cruzado com germoplasma externo ao seu grupo (outro grupo heterótico), tende a exibir, em média, um maior grau de heterose, que quando cruzado com membros do seu próprio grupo (LEE, 1995). Esta estratégia auxilia no direcionamento dos cruzamentos entre as linhagens otimizando recursos.

De forma geral, nos trabalhos encontrados na literatura, a determinação e classificação de grupos heteróticos são realizadas por meio de cruzamentos dialélicos e/ou pela avaliação da dissimilaridade genética obtida por meio de marcadores moleculares. Outra forma de alocar o germoplasma em grupos heteróticos, é realizar o cruzamento do germoplasma a ser classificado com linhagens representativas de cada um dos grupos heteróticos já existentes e posteriormente alocá-los de acordo com o desempenho do híbrido *testcross*. No entanto, isso é possível apenas quando o programa já possui testadores representativos de cada um dos grupos heteróticos. No caso de programas nos quais o germoplasma ainda não está agrupado, uma alternativa seria utilizar como testadores linhagens as quais apresentassem estimativas de alta magnitude da capacidade específica de combinação.

Em relação a seleção de linhagens, via de regra, a estratégia adotada em programas comerciais de obtenção de híbridos de milho é a avaliação e seleção por meio do desempenho de híbridos *testcrosses*. Estes híbridos são obtidos do cruzamento das novas linhagens em avaliação com linhagens elites do grupo heterótico oposto (SOUZA JUNIOR, 2001). São avaliados em experimentos e as linhagens genitoras dos híbridos com as melhores classificações são promovidas para etapas de avaliação subsequentes.

Esta metodologia apresenta como principal vantagem a possibilidade de se identificar híbridos com potencial comercial e avaliá-lo em uma rede robusta de ensaios. No entanto, se a linhagem for selecionada com base no desempenho de apenas uma combinação híbrida, não há como inferir sobre a sua frequência de alelos favoráveis. Para realizar essa inferência seria necessário cruzá-la com um número maior de testadores e assim obter estimativa da capacidade geral de combinação (CGC). Isto seria importante, pois as linhagens em estágio avançado de seleção geralmente são utilizadas na geração das novas populações de onde serão extraídas novas linhagens.

Diante do exposto, os objetivos desse trabalho são verificar a eficiência de dois híbridos simples, os quais apresentam uma alta magnitude da capacidade específica de combinação, em classificar linhagens em grupos heteróticos; e verificar quais estratégias de seleção de linhagens aplicadas na geração $S_{0:3}$ resultam em híbridos de melhor desempenho na geração seguinte.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Milho híbrido e heterose

Foram os trabalhos de George Harrison Shull e Edward Murray East, no início do século XX, sobre a depressão por endogamia e heterose que impulsionaram o estudo e a exploração do milho híbrido. Shull e East conduziram seus trabalhos de forma independente. Shull trabalhou em Cold Spring Harbor. East trabalhou em Connecticut State College. Shull (1908) observou que a autofecundação reduzia a produção e o vigor das plantas de milho, e quando duas linhagens eram cruzadas o vigor era restaurado. Posteriormente, desenvolveu a metodologia para a produção de sementes de híbrido simples que, mais tarde, tornaria padrão nos programas de melhoramento de milho (SHULL, 1909). No mesmo período, East conduziu trabalhos para estudar efeitos deletérios da autofecundação. Ao contrário de Shull, East não estava convencido do potencial econômico do híbrido de milho. Isso, devido ao baixo potencial de produção das linhagens. Fato que elevava o custo das sementes híbridas (CROW, 1998).

Alguns anos depois, Jones (1918) sugeriu o híbrido duplo para contornar o problema do custo de produção das sementes híbridas. Esse fato alavancou a indústria de sementes nos Estados Unidos. E em 1924, Henry A. Wallace realizou a primeira venda de sementes híbridas. No estado de Iowa, em 1935, apenas 10% da área cultivada com milho utilizavam sementes híbridas. Já em 1939, o uso de sementes híbridas no Estado chegou a 90% da área. A adoção dessa tecnologia foi rápida em todos os Estados do “corn belt” (CROW, 1998).

A rapidez na adoção da tecnologia do milho híbrido não foi apenas devido ao seu maior potencial produtivo. Secas atingiram a região do “corn belt” entre os anos de 1934 a 1936 e os produtores observaram que o milho híbrido suportou melhor o déficit hídrico que as variedades. Outro fator importante foi a

uniformidade das plantas híbridas. Característica que facilitou a mecanização das lavouras (CRABB, 1947).

A partir dos primeiros anos da década de 60 os agricultores americanos, buscando maiores incrementos na produtividade, passaram a cultivar híbridos simples. Com o melhoramento *per se* das linhagens, a produção desse tipo de híbrido tornou-se viável economicamente (CROW, 1998).

Machado (2007), baseando-se em dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, retrata os incrementos na produtividade que a adoção do milho híbrido gerou naquele país. Até o ano de 1930 o ganho em produtividade era praticamente nulo (0,88 Kg/ha/ano). Nesse período os agricultores começaram a substituir as variedades por híbridos duplos. Então o incremento na produtividade subiu para 83,97 Kg/ha/ano. Com a adoção do híbrido simples, por volta dos anos 60, os incrementos em produtividade saltaram para 188,43 Kg/ha/ano. Hoje a produtividade média nos Estados Unidos é aproximadamente 5 vezes maior que a produtividade do período no qual utilizava-se apenas variedades. É certo que, esse salto de produtividade não foi apenas em função da adoção de sementes híbridas. No decorrer do século, foram incorporadas muitas outras tecnologias no sistema de produção de milho. No entanto, estima-se que, em torno de 50% destes incrementos sejam devido ao melhoramento genético e a adoção da tecnologia do milho híbrido (DUVICK, 2005; TROYER, 1999).

O segundo país a adotar a tecnologia do milho híbrido foi o Brasil (SAWAZAKI; PATERNIANI, 2004). As pesquisas foram iniciadas em 1933 no Instituto Agrônomo de Campinas – IAC pelo pesquisador Carlos Arnaldo Krug e, em 1939, o IAC produziu o primeiro híbrido duplo brasileiro (PATERNIANI, 2001). Na Escola Superior de Agricultura de Viçosa, Antonio Secundino e Gladstone produziram o primeiro híbrido comercial brasileiro, oriundo do cruzamento das variedades Cateto com Amarelão (SOUZA SOBRINHO, 2001).

A superioridade do milho híbrido, em relação às variedades, ocorre devido a maior exploração da heterose, a qual, conceitualmente, é a superioridade da geração F_1 (híbrido) em relação a média dos seus genitores. A heterose é importante em diversas culturas, mas na cultura do milho é mais estudada e explorada.

Hallauer, Carena e Miranda Filho (2010), afirmam que o fenômeno da heterose apesar de ser explorado comercialmente e nos programas de melhoramento, ainda é pouco compreendido. Segundo Falconer e Mackay (1996), a heterose depende do grau de dominância do caráter e do quadrado da diferença na frequência alélica entre os genitores. Hipóteses sobre a base genética da heterose foram propostas e debatidas no decorrer dos últimos 100 anos. A hipótese da dominância propõe que o vigor híbrido é consequência do acúmulo de alelos dominantes provenientes de ambos os pais. E os alelos recessivos ficam encobertos no heterozigoto. Já a hipótese da sobredominância afirma que heterose ocorre em decorrência da condição heterozigótica dos locos que controlam o caráter, e dessa forma, os locos em heterozigose seriam superiores aos locos em homozigose. Argumentações sobre essas teorias podem ser encontradas em Bernardo (2002) e Hallauer, Carena e Miranda Filho (2010).

Com os avanços das técnicas moleculares nas últimas décadas, tornou-se possível a realização de estudos genômicos e de expressão gênica, na tentativa de melhor compreender a heterose. Hochholdinger e Hocker (2007) apresentam uma revisão onde discutem a organização do genoma e sua não-colinearidade em linhagens de milho, o que, segundo os autores, pode explicar parte do alto grau de heterose encontrado nessa espécie. Porém, ressaltam que outros mecanismos moleculares devem estar envolvidos no fenômeno, uma vez que nem todas as espécies que apresentam heterose apresentam alto grau de não-colinearidade como o milho.

Conforme já comentado, o desconhecimento das reais bases genéticas e moleculares da heterose não impediu que os melhoristas de milho explorassem

de forma intensiva a heterose. Com conhecimento empírico obtido por meio de observação e análises dos resultados de hibridações entre germoplasmas, os melhoristas criaram os conceitos de grupos heteróticos e padrão heterótico.

2.2 Grupos heteróticos e padrão heterótico

Grupo heterótico pode ser definido como uma coleção de germoplasma que, quando cruzado com germoplasma externo ao seu grupo (outro grupo heterótico), tende a exibir, em média, um maior grau de heterose, que quando cruzado com membros do seu próprio grupo (LEE, 1995). A formação desses grupos ocorre pelo distanciamento genético promovido pelo isolamento ou pela seleção (natural ou humana) para a adaptação através do tempo. Já o padrão heterótico é determinado empiricamente entre os grupos heteróticos, ou seja, é o desempenho relativo ao cruzamento de dois grupos (HALLAUER; RUSSELL; LAMKEY, 1988).

Esses conceitos são de grande importância no melhoramento de milho. Sabe-se que a heterose ocorre em função de ação gênica dominante e de diferenças nas frequências alélicas. No entanto, muitas vezes, essas informações são desconhecidas. Assim o nível de heterose é determinado empiricamente, avaliando os parentais e os cruzamentos. Com essas avaliações podem ser formados os grupos heteróticos dentro do programa de melhoramento. Essa estratégia gera economia de tempo e recurso, pois a síntese de híbridos pode ser dirigida em função de padrões heteróticos. Embora seja possível identificar híbridos superiores com parentais do mesmo grupo heterótico, as chances são maiores entre linhagens de grupos diferentes. Com a separação em grupos heteróticos pode-se reduzir o número de híbridos a serem avaliados. Permitindo avaliá-los em um maior número de locais e repetições ou mesmo explorar melhor os padrões heteróticos já conhecidos, sintetizando e avaliando um maior

número de híbridos oriundos de cruzamentos entre grupos heteróticos promissores.

Segundo MELCHINGER (1999), têm sido utilizadas diferentes estratégias para classificação e identificação de grupos heteróticos. Quando se trabalha com um pequeno número de linhagens ou de populações, a utilização de cruzamentos dialélicos pode ser uma opção. Entretanto, quando se tem um grande número de linhagens ou populações, podem ser utilizados testadores comuns de grupos heteróticos já conhecidos. A utilização da similaridade genética, obtida por meio de marcadores moleculares, também pode auxiliar no estabelecimento de grupos heteróticos. No entanto, encontramos opiniões e resultados controversos na literatura em relação a eficiência de marcadores para tal finalidade (LI et al., 2001; BARATA; CARENA, 2006; AGUIAR et al., 2008).

No germoplasma temperado já existem padrões heteróticos de milho bem definidos e eficientemente explorados. Pode-se citar como exemplo Reid Yellow Dent X Lancaster Sure Crop nos Estados Unidos e European Flint X U.S Dent na Europa (BETRÁN; MENZ; BANZIGER, 2004). Os padrões heteróticos dos Estados Unidos originaram-se da mistura de duas raças de milho: *Northern Flints* e *Southern Dents*. Essas duas raças ficaram separadas geograficamente por cerca de 2500 anos e foram dispersas por rotas que apresentavam condições climáticas distintas. Os *Northern Flints* chegaram ao Arizona e Novo México em torno do ano 1000 a.C. e avançaram lentamente através das grandes planícies, chegando a New England no ano 1000 d.C. Os *Southern Dents* foram levados pelos conquistadores espanhóis do México para a Flórida, Carolina do Sul e Virgínia. A partir dessas duas raças, surgiram várias populações as quais foram desenvolvidas, melhoradas e cultivadas em várias regiões do “corn belt” (TROYER, 2006). Anderson e Brown (1952) declaram que, uma maior expressão da heterose pode ser esperada em cruzamentos entre linhagens as quais se assemelhem com *Northern Flints* e com os *Southern Dents*. Um dos

híbridos mais populares do mundo, o B73 x MO17, ilustra bem a declaração dos autores. A linhagem B73 se assemelha com os *Southern Dents* e a MO17 tem características dos *Northern Flints* (TROYER, 2006).

Em relação ao germoplasma tropical, devido à grande diversidade genética e aos programas de melhoramento ainda serem recentes, existe a oportunidade de formação de novos e competitivos grupos heteróticos. Pode-se citar como padrão heterótico tropical, cruzamentos de Tuxpeño com o Composto ETO, Suwan 1, Cateto, entre outros. Esses padrões heteróticos apresentam uma base genética mais ampla que os padrões temperados (BETRÁN; MENZ; BANZIGER, 2004). Crossa, Taba e Welhausen, (1990) afirmam que, nas Américas existe uma grande diversidade genética de milho. Resultado de milhares de anos de evolução dirigida por domesticação e hibridação e que essa diversidade não tem sido bem explorada. O trabalho de Sánchez, Goodman e Stuber, (2007) evidencia essa diversidade. Os autores estudaram a relação entre as raças de milho do Brasil e áreas adjacentes, por meio de dados morfológicos e de isoenzimas e agruparam as raças em oito grupos raciais, tendo um dos grupos dividido em subgrupos.

Nos programas de melhoramento, os padrões heteróticos já definidos são intensificados e otimizados por meio de seleção e recombinação. Novos padrões heteróticos também têm sido desenvolvidos com a intensa reciclagem de linhagens elites (BETRÁN; MENZ; BANZIGER, 2004). Alguns autores também têm sugerido a introdução de germoplasma exótico com o objetivo de aumentar a variabilidade ou incorporar características desejáveis, e assim, aumentar as chances de desenvolver padrões heteróticos interessantes (FAN et al., 2008; LOPEZ et al., 2009).

2.3 Marcadores microssatélites

Microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeats) são sequências de 1 a 6 nucleotídeos de comprimento, repetidas em tandem, ao longo da molécula de DNA. As sequências de DNA que flanqueiam os microssatélites são geralmente conservadas entre indivíduos de uma mesma espécie, permitindo a seleção de *primers* específicos que, amplificam, via PCR, fragmentos contendo DNA repetitivo em todos os genótipos. Os microssatélites amplificados quase invariavelmente apresentam um extensivo polimorfismo para o tamanho de bandas. Essa variação no tamanho dos produtos da PCR é resultado da ocorrência de diferentes números de unidades repetidas dentro da estrutura do microssatélite (CAIXETA et al., 2009).

Supõe-se que a variação no número de unidades repetidas dentro do microssatélite pode ter sua origem no *crossing over* desigual ou em erros da DNA polimerase durante a replicação (LEVISON; GUTMAN, 1987). Variações no número de repetições em tandem acumulam-se mais rápido na população que mutações de ponto e eventos de inserção/deleções responsáveis pelo polimorfismo de outros marcadores moleculares (BROWN et al., 1996).

No genoma vegetal os marcadores microssatélites são largamente distribuídos com uma frequência de 1 a cada 50 mil pares de bases, sendo o dinucleotídeo AT o mais comum (MORGANTE; OLIVEIRI, 1993) .

Segundo Ferreira e Grattapaglia (1998), os marcadores microssatélites são caracterizados por sua hipervariabilidade, abundância e uniformidade, pois são distribuídos ao longo do genoma, permitindo a cobertura completa dos cromossomos de uma determinada espécie. Apresentam reprodutibilidade que permite intercâmbio entre diferentes grupos de pesquisa e a vantagem de possuírem herança mendeliana e serem codominantes, ou seja, possibilitam a identificação de genótipos homozigotos e heterozigotos. Além disso, já existe um grande conjunto de microssatélites disponíveis para a utilização em milho,

muitos deles identificados como sendo associados à QTL's para a produtividade de grãos e componentes de produção (SIBOV et al., 2003; BENTO, 2006; MORÔ, 2011).

2.4 Predição do desempenho de híbridos por meio de marcadores moleculares

Os marcadores moleculares têm tornando-se uma ferramenta cada vez mais utilizada dentro dos programas de melhoramento de plantas. Eles têm sido empregados com diversas finalidades: identificação de genes de resistência a doenças e, ou, insetos-praga, na avaliação e caracterização de germoplasma, na introgressão gênica e seleção assistida por marcadores, no desenvolvimento de mapas gênicos, nos estudos da interação genótipos x ambientes, entre outros (FERREIRA; GRATAPLAGIA, 1998; CAIXETA et al., 2009).

Também tem sido utilizado para classificar linhagens de milho em grupos heteróticos (BARATA; CARENA, 2006; SSERUMAGA et al., 2014) e prever o comportamento dos híbridos com base na distância genética (BARBOSA et al., 2003; AMORIM, et al., 2006). A fundamentação desses trabalhos esta na participação da heterozigosidade no fenômeno da heterose, o que tornaria possível a predição da heterose baseada na quantificação da distância genética entre os genitores (ÁRCADE et al., 1996).

Os primeiros marcadores utilizados com o intuito de relacionar a distância genética e o desempenho de híbridos de milho foram os sistemas enzimáticos (GONELLA; PETERSON, 1978, FREI; STUBER; GOODMAN, 1986, LAMKEY; HALLAUER; KAHLER, 1987). No entanto, as isoenzimas apresentam algumas limitações, tais como o pequeno número de locos amostrados, aliado à limitada descrição das relações entre linhagens e híbridos de milho, e também aos poucos locos polimórficos no germoplasma elite (MELCHINGER et al., 1990).

Posteriormente surgiram os marcadores de DNA, e com eles a possibilidade de explorar o polimorfismo ao nível da variação na sequência de bases. Assim, vários trabalhos têm utilizado esses marcadores para estimar distâncias genéticas entre parentais e associá-las ao desempenho de seus híbridos. No entanto, os resultados encontrados na literatura são bastante inconsistentes quanto à eficiência da predição (BARBOSA et al., 2003; AMORIM, et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2007; PATERNIANI et al., 2008).

Barbosa et al. (2003), realizaram cruzamentos em esquema dialelo entre linhagens S_3 oriundas de duas populações (BR-106 e BR-105), obtendo híbridos intra e interpopulacionais. As linhagens também foram genotipadas por meio dos marcadores AFLP e SSR. As distâncias genéticas entre as linhagens foram determinadas utilizando o coeficiente de Jaccard (dados de AFLP) e a distância modificada de Rogers (dados de SSR). Os coeficientes de correlação da distância genética com a produtividade de grãos e heterose foram altos para BR-106 x BR-106 ($r = 0,91$ para AFLP e $0,82$ para SSR), moderados para BR-105 x BR-105 ($r = 0,52$ para AFLP e SSR) e baixos para BR-106 x BR-105 ($r = 0,29$ para AFLP e $0,16$ para SSR). Os autores argumentam que a baixa correlação interpopulacional pode estar associada à pequena variação na distância Genética entre os genitores. Isso porque houve uma prévia seleção entre as populações para a capacidade de combinação por meio de seleção recorrente recíproca.

Amorim et al. (2006), trabalhando com três populações S_0 de híbridos comerciais de milho, obtiveram 163 híbridos (110 interpopulacionais e 53 intrapopulacionais). Os dois melhores e os dois piores híbridos inter e intrapopulacionais foram selecionados, e seus genitores, mantidos a partir da autofecundação da segunda espiga de cada planta S_0 , foram genotipados por meio do marcador SSR. Posteriormente obteve-se a correlação entre a distância modificada de Rogers e a produtividade e a heterose dos híbridos. A correlação foi alta e significativa para os cruzamentos interpopulacionais ($r = 0,84$) e baixa ($r = 0,18$) e não significativa para os cruzamentos intrapopulacionais.

Devi e Singh (2011) procuraram correlacionar a distância genética, obtida por meio do marcador RAPD, e estimada por meio do coeficiente de similaridade de Jaccard com a heterose e a produção de 10 híbridos resultantes de um dialelo entre 5 linhagens. Os resultados das correlações foram não significativos. Os autores ressaltaram que, diferentemente dos marcadores ligados a QTL's, os quais aparentemente estão fortemente ligados a regiões que afetam características agrônômicas importantes, como por exemplo, a produção; o marcador utilizado neste trabalho pode não ter sido suficiente para a cobertura do genoma, resultando em distâncias genéticas que não correspondem com a heterose. Bernardo (1992) também comenta que o fato do marcador não estar ligado a QTL's pode ser uma explicação para a baixa correlação entre a distância genética e a heterose.

2.5 Componentes de produção do milho

A grande maioria dos trabalhos que buscam prever o desempenho de híbridos de milho é baseada no caráter produção. Isso é perfeitamente compreensível, uma vez que é o caráter de maior importância econômica na cultura e foco da grande maioria dos programas de melhoramento de milho. No entanto, a produção é um caráter de alta complexidade genética e é influenciado por vários outros caracteres da planta. Dessa forma, a predição do desempenho híbrido focado apenas na produção pode ter dificultado a compreensão da base genética da heterose e o desenvolvimento de preditores do desempenho híbrido mais eficiente (FLINT-GARCIA et al., 2009).

Na cultura do milho, a produção é função direta de uma série de caracteres denominados componentes de produção (JUGENHEIMER, 1976), como é o caso da prolificidade, comprimento e diâmetro da espiga, número de fileiras por espiga e número de grãos por fileira, peso médio de grãos e profundidade dos grãos. Os componentes de produção também podem ser

analisados como primários e secundários. Os componentes primários são aqueles compostos por outros componentes, como por exemplo, peso médio de grãos. Já os secundários correspondem aos caracteres formados por alguma combinação dos primários, como por exemplo, o número de grãos por espiga que depende do número de fileiras por espiga e do número de grãos por fileira (LENG, 1954).

De forma geral, em milho, o caráter produção de grãos apresenta baixa herdabilidade. Hallauer, Carena e Miranda Filho (2010) apresentam uma sumarização de estimativas de herdabilidades para produção e para os componentes de produção; correlações entre o caráter produção e seus componentes; correlações entre parentais e seus híbridos para a produção e caracteres relacionados a ela; estimativas da relação entre a variância de dominância e a variância aditiva para a produção e para os componentes de produção. Para obter essas estimativas os autores compilaram dados disponíveis na literatura. Observaram que a produção é o caráter que apresenta os menores valores de herdabilidade, em média, 18,7% e os maiores valores para a relação entre a variância de dominância e a variância aditiva, em média, 0,9377, o que comprova a importância, já conhecida, dos efeitos de dominância para este caráter. Em relação à correlação entre as linhagens e os híbridos, com exceção do caráter número de fileiras de grãos por espiga, as correlações não foram altas. Apresentaram estimativas com valores intermediários para comprimento e diâmetro de espiga e estimativas com valores baixos para os outros componentes e para a produção. Os autores observaram uma relação inversa entre a correlação da linhagem com híbridos e a relação da variância de dominância e a variância aditiva. Fato já esperado, pois quanto maior o grau de dominância, menor é a eficiência da predição do desempenho dos híbridos baseado no desempenho *per se* das linhagens parentais. No entanto, estas estimativas devem ser analisadas com ressalvas, pois os trabalhos utilizados para obtê-las não são os mesmos, e assim, as estimativas foram obtidas utilizando-se diferentes populações, que, possivelmente apresentavam diferentes graus de endogamia.

Morô (2011) realizou o cruzamento de 256 linhagens S_1 com dois testadores, obtendo 512 testcrosses. Estes foram avaliados para produção, juntamente com seus parentais em seis ambientes. Nas linhagens S_1 também foram avaliados os componentes de produção: prolificidade, comprimento de espiga, diâmetro de espiga, número de grãos por fileira, profundidade de grãos e peso médio de 500 grãos. O autor estimou as correlações fenotípicas e genéticas entre os componentes de produção das linhagens e a produção dos testecrosses. De forma geral, os resultados apresentaram baixas magnitudes e, em alguns casos, foram não significativos. O componente que apresentou os maiores valores de correlação foi a prolificidade.

Flint-Garcia et al. (2009) trabalhando com um conjunto de 267 linhagens de diferentes grupos heteróticos, realizou cruzamentos utilizando como testador a linhagem B73. Os autores avaliaram os testcrosses e os parentais em 3 ambientes, tomando dados de produção, dos componentes de produção e dados morfológicos e fenológicos. Posteriormente, 115 linhagens do conjunto anterior foram novamente cruzadas com a linhagem B73 e com a linhagem MO17. Nesse novo conjunto de linhagens, poucas linhagens do germoplasma tropical estavam presentes. Os híbridos testcrosses e os parentais foram avaliados em um local e tomados os dados de produção e dos componentes de produção. Também foi estimada a divergência genética entre os parentais por meio do marcador SSR. Os autores estimaram a heterobeltiose para as características avaliadas e a percentagem de híbridos que apresentavam superioridade sobre o melhor genitor para cada uma das características. Avaliaram também a correlação entre a distância genética e a heterobeltiose para cada característica e a correlação entre as heterobeltiose dos diferentes caracteres. O caráter produção destaca-se por apresentar a maior percentagem de heterobeltiose média (185%) e por quase a totalidade dos híbridos superarem o melhor genitor (98%). Os componentes de produção (comprimento de espiga, profundidade de grãos, peso de 10 grãos) apresentaram heterobeltiose variando

de 24 a 30%, e no mínimo, 80% dos híbridos superaram o melhor genitor para esses componentes. A correlação entre a distância genética e a heterobeltiose apresentou estimativas significativas para a maioria dos caracteres. Para a produção e para os componentes essas estimativas apresentaram valores intermediários (0,36-0,57). A heterobeltiose para produção apresentou correlação significativa de 0,598 e 0,656 com a heterobeltiose para a profundidade de grãos e comprimento da espiga, respectivamente. Os autores, no entanto, alertam que esse estudo foi realizado utilizando apenas dois testadores, o que pode afetar as conclusões sobre a heterose. Essa mesma argumentação também poderia aplicar-se ao trabalho de Morô (2011).

2.6 Seleção de linhagens de milho.

Em um programa para o desenvolvimento de híbridos de milho, pelo menos quatro etapas estão envolvidas: escolha das populações para extração de linhagens, obtenção das linhagens, avaliação da capacidade de combinação e teste das combinações híbridas em diversos ambientes (PATERNIANI; CAMPOS, 1999).

Desconsiderando as particularidades de cada programa de melhoramento, o processo de obtenção e seleção de linhagens resume-se na extração das linhagens de uma população base, seja pelo método tradicional, com sucessivas autofecundações, ou pela tecnologia de duplos haploides; e posterior hibridação das novas linhagens com uma ou mais linhagens elites. Os híbridos obtidos são avaliados em uma rede de experimentos e as linhagens que compõem os melhores híbridos são avançadas para as etapas subsequentes.

Este critério de seleção, apesar de proporcionar o uso direto dos seus resultados, produzindo híbridos simples ou híbridos triplos conforme o testador utilizado (SOUZA JUNIOR et al., 2001) é pautado no desempenho da combinação híbrida e não no desempenho da linhagem. Parte do desempenho do

híbrido é devido aos componentes genéticos não aditivos, os quais não são herdáveis. Isso é particularmente importante quando se deseja explorar as linhagens selecionadas em outras combinações híbridas ou mesmo utilizá-las como fundadoras de novas populações para extração de linhagens.

Troyer e Wellin (2009) recomendam que no processo de seleção de linhagens, primeiramente seja realizado uma seleção pelo desempenho *per se* e só depois as linhagens sejam avaliadas combinações híbridas. Os autores apoiam seu argumento na conclusão de que heterose presente nos híbridos está estabilizada e com tendência de declínio e que a produtividade presente nos híbridos atuais é em decorrência das melhorias no desempenho das linhagens parentais. Esta conclusão também apoia outra afirmação dos autores de que não há sentido em avaliar as linhagens com múltiplos testadores com o objetivo de buscar uma maior expressão da heterose. O uso de múltiplos testadores visando buscar novos padrões heteróticos também é desencorajada no trabalho, pois segundo eles, o padrão heterótico para o “*Corn Belt*” dos Estados Unidos já está bem definido em “*Stiff Stalk*” e não “*Stiff Stalk*”.

Avaliando a contribuição da heterose em híbridos simples utilizados na China de 1964 a 2001, Li et al. (2014) observaram que a heterose é mais importante para ambientes sob stress. Isso é esperado pois genótipos heterozigotos são menos influenciados pelas variações do ambiente do que genótipos homozigotos (RAMALHO et al., 2012).

No caso do melhoramento de milho para as regiões tropicais, em especial para a segunda safra brasileira, a constatação de Li et al. (2014) é muito relevante, pois são ambientes com alto risco de stress, o que torna a contribuição da heterose muito importante. Além disso, a correlação entre o desempenho das linhagens e de seus respectivos híbridos é muito baixa e não tem valor preditivo (MIHALJEVIC et al., 2005).

Outra alternativa para a seleção de linhagens é realizá-la com base na sua capacidade geral de combinação que pode ser obtida por meio de cruzamentos dialélicos.

2.7 Cruzamentos dialélicos

Cruzamentos dialélicos são delineamentos genéticos estatísticos onde, n genitores são cruzados dois a dois, resultando em n^2 combinações possíveis, as quais correspondem aos n parentais, $n(n-1)/2$ híbridos simples e $n(n-1)/2$ recíprocos dos híbridos simples. Esses delineamentos são extensamente utilizados para se obter informações sobre o comportamento dos parentais em cruzamentos e no entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres, além de permitir a identificação de grupos heteróticos (HALLAUER; CARENA; MIRANDA FILHO, 2010; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; PINTO; GARCIA; SOUZA JR., et al., 2001).

Existem várias metodologias para a análise de cruzamentos dialélicos, sendo mais empregadas as metodologias de Hayman (1954), Griffing (1956) e Gardner e Eberhart (1966).

A metodologia proposta por Griffing (1956) baseia-se nos conceitos desenvolvidos por Sprague e Tatum (1942) sobre a capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC). Onde a CGC refere-se ao comportamento médio de cada genitor em suas combinações híbridas. Já a CEC é interpretada como um efeito na expressão do híbrido que não é explicado pelos efeitos da CGC dos parentais e é associada a efeitos gênicos não aditivos. A CEC é resultante da complementação gênica entre os parentais, o que possibilita antever respostas de ganho genético com a exploração da heterose (BASTOS et al., 2003).

A metodologia de Griffing (1956) pode apresentar variações quanto ao método de análise:

- a) Método 1 – são avaliados os n parentais, os cruzamentos entre esses parentais e os cruzamentos recíprocos, totalizando n^2 genótipos avaliados;
- b) Método 2 – são avaliados os n parentais e os cruzamentos entre esses parentais, totalizando $n(n + 1)/2$ genótipos avaliados. Os cruzamentos recíprocos não são avaliados;
- c) Método 3 – são avaliados os cruzamentos e seus recíprocos, totalizando $n(n - 1)$ genótipos avaliados. Os parentais não são avaliados;
- d) Método 4 – são avaliados apenas os cruzamentos, totalizando $n(n - 1)/2$ genótipos.

Os métodos 2 e 4 de Griffing (1956) e de Gardner e Eberhart (1966) foram comparados por Cruz e Vencovsky (1989). Os autores observaram que, apesar do método de Gardner e Eberhart (1966) parecer ser mais informativo, devido ao maior detalhamento da heterose, ele é igualmente eficiente em termos de informações contidas nos efeitos ao método 2 de Griffing (1956). Destacam ainda o método 4 de Griffing (1956), que, embora seja menos informativo que os anteriores, muitas vezes são preferidos pela vantagem de não incluir os parentais, evitando em certos casos problemas experimentais.

Talvez a maior limitação para o uso dos cruzamentos dialélicos seja o número de parentais envolvidos. À medida que este número aumenta, fica mais difícil realizar os cruzamentos entre os parentais e avaliar seus híbridos. Para contornar essa dificuldade, surgiram outros esquemas de dialelos: parcial e circulante.

O dialelo parcial é utilizado quando se dispõe de dois grupos distintos de variedades ou populações, por exemplo, ciclo precoce x ciclo tardio (MIRANDA FILHO; GERALDI, 1984; GERALDI; MIRANDA FILHO, 1988). Esse esquema de dialelo permite estimar a variabilidade dentro dos grupos e

verificar os efeitos resultantes da hibridação entre os dois grupos distintos (MORELLO; MIRANDA FILHO; GORGULHO, 2001).

Já o dialelo circulante permite obter informações sobre os parentais com um número menor de cruzamentos, neste caso, ocorrem perdas de informações a respeito de certas combinações híbridas e quando o número de combinações híbridas de cada genitor é pequena, as estimativas das capacidades combinatórias são questionáveis (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004). No entanto, Veiga, Ferreira e Ramalho (2000), trabalhando com dados simulados, concluíram que os dialelos circulantes são tão eficientes quanto os completos, tanto na classificação dos pais, quanto na estimativa da CGC e da CEC.

Outra dificuldade encontrada em dialelos com um grande número de parentais é obter e avaliar todas as combinações híbridas, pois com maior número de parentais, aumenta a chance de perda de uma ou mais combinações híbridas. Isso acontece devido às dificuldades no cruzamento dos genitores (florescimento não coincidente), pouca disponibilidade de sementes ou mesmo perda do tratamento durante a condução do experimento. Quando isso ocorre, os dialelos completos ou parciais passam a ser denominados dialelos incompletos e a CGC e a CEC são estimadas pelo método dos quadrados mínimos ponderados (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004).

3 CONCLUSÃO

Dentre as estratégias de seleção de linhagens avaliadas, a capacidade geral de combinação apresentou os melhores resultados para a obtenção de híbridos de milho.

Os híbridos simples não foram eficientes na classificação das linhagens de milho em grupos heteróticos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C. G.; S et al. Heterotic groups in tropical maize germplasm by test crosses and simple sequence repeat markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 4, p. 1233-1244, 2008.
- AMORIM, E. P. et al. Genetic distance based on SSR and grain yield of inter and intra populational maize single cross hybrid. **Maydica**, Bergamo, v. 51, p. 507-513, 2006.
- ANDERSON, E.; BROWN, W. L. Origin of corn belt maize and its genetics significance. In: GOWEN, J. W. **Heterosis**. Ames: Iowa State Colege, 1952. p. 124-148.
- ÁRCADE, A. et al. Heterozigosity and hybrid performance in larch. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 93, n. 8, p. 1274-1281, Dec.1996.
- BARATA, C.; CARENA, J. M. Classification of North Dakota maize inbred lines into heterotic groups based on molecular and testcross data. **Euphytica**, Netherlands, v.1 1, n. 3, p. 339-349, Oct. 2006.
- BARBOSA, A. M. M. et al. Relationship of intra- and inter population tropical maize single cross hybrid performance and genetic distances computed from AFLP and SSR markers. **Euphytica**, Netherlands, v. 130, n. 1, p. 87-99, Mar. 2003.
- BASTOS, I. T. et al. Análise dialélica em clones de cana-de-açúcar. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 199-206, abr./jun. 2003.
- BENTO, D. A. V. **Mapeamento de QTLs para produção de grãos e seus componentes em uma população de milho tropical**. 2006. 133 p. Tese (Doutorado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2006.
- BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Hardbound, Minnesota, 2002. 400 p.
- BERNARDO, R. Relationship between single cross performance and molecular marker heterozigosity. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 83, n. 5, p. 628-634, Mar. 1992.

BETRÁN, E. J.; MENZ, M.; BANZIGER, M. Corn breeding. In: SMITH, C. W.; BERTÁN, E. J.; RUNGE, E. C. A. **Corn: origin, history, technology, and production**. Hoboken: J. Wiley, 2004. p. 305-398.

BROWN, S. M. et al. Multiple methods for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 93, n. 1/2, p. 190-198, July 1996.

CAIXETA, E. T. et al. Tipos de marcadores moleculares. In: CAIXETA, E. T.; BORÉM, A. **Marcadores moleculares**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2009. p.11-93.

CRABB A. R. **The hybrid-corn makers: prophets of plenty**. New Brunswick: Rutgers University, 1947.

CROSSA, J.; TABA, S.; WELHAUSEN, E. J. Heterotic patterns among mexican races of maize. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 6, p. 1182-1190, 1990.

CROW, J. F. 90 years ago: the beginning of hybrid maize. **Genetics**, Austin, v. 148, n. 3, p. 923-928, Mar. 1998.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. v. 1, 480 p.

CRUZ, C. D.; VENCOVSKY, R. Comparação de alguns métodos de análise dialélica. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 2, p. 425-438, 1989.

DEVI, P.; SINGH, N. K. Heterosis, molecular diversity, combining ability and their interrelationships in short duration maize (*Zea mays* L.) across the environments. **Euphytica**, Netherlands, v. 178, n. 1, p.71-81, Mar. 2011.

DUVICK, D. N. The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 86, p. 83-145, 2005.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4. ed. Edinburg: Pearson Education, 1996. 459 p.

FAN, X. M. et al. A new maize heterotic pattern between temperate and tropical germplasms. **Agronomy Journal**, Madison, v.100, n. 4, p. 917-923, 2008.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1998. 220 p.

FLINT-GARCIA, S. A. et al. Heterosis is prevalent for multiple traits in diverse maize germplasm. **Plos One**, v. 4, n. 10, e7433, 2009.

FREI, O. M.; STUBER, C. W.; GOODMAN, M. M. Uses of allozymes as genetic markers for predicting performance in maize single-cross hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 26, p. 37-42, 1986.

GARDNER, C. O.; EBERHART, S. A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**, Washington, v. 22, n. 3, p. 439-452, Sept. 1966.

GERALDI, I. O.; MIRANDA FILHO, J. B. Adapted models for the analysis of combining ability of varieties in partial diallel crosses. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 2, p. 419-430, 1988.

GONELLA, J. A.; PETERSON, P. A. Isozyme relatedness of inbred lines of maize and performance of their hybrids. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 85, p. 961-968, 1978.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Science**, East Melbourn, v. 9, p. 463-493, 1956.

GUIMARÃES, P. de S. et al. Correlação da heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 6, p. 811-816, jun. 2007.

HALLAUER, A. R.; CARENA, M. J.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. New York: Springer/London: Dordrecht Heidelberg, 2010. 663 p. (Handbook of Plant Breeding, 6).

HALLAUER, A. R.; RUSSELL, W. A.; LAMKEY, K. R. Corn breeding. In: SPRAGUE, G. F.; DUDLEY, J. W. **Corn and corn improvement**. Madison: ASA, 1988. p. 469-564.

HAYMAN, B. I. The theory and analysis of diallel crosses. **Genetics**, Bethesda, v. 39, n. 6, p. 789-809, 1954.

- HOCHHOLDINGER, F.; HOECKER, N. Towards the molecular basis of heterosis. **Trends in Plant Science**, Netherlands, v. 12, n. 9, p. 427-432, Sept. 2007.
- JONES, D. F. The effects of inbreeding and crossbreeding upon development. **Bulletin of the Connecticut Agricultural Experimental Station**, New Haven, v. 207, p. 5-100, 1918.
- JUGENHEIMER, R. W. **Corn improvement, seed production and uses**. New York: Wiley-Interscience, 1976. 670 p.
- LAMKEY, K. R.; HALLAUER, A. R.; KAHLER, A. L. Allelic differences at enzyme loci and hybrid performance in maize. **The Journal of Heredity**, Washington, v. 78, p. 231-234, 1987.
- LEE, M. DNA markers and plant breeding programs. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.5 5, p. 265-344, 1995.
- LENG, E. R. Effects of heterosis on the major components of grain yield in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 46, n. 9, p. 502-506, 1954.
- LEVISON, G.; GUTMAN, G. A. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. **Molecular and Biology Evolution**, v. 4, n. 3, p. 203-221, May 1987.
- LI, X. H. et al. Heterosis among CIMMYT population and chinese key inbred in maize. **Acta Agronomy, Sinica**, v. 27, p. 575-581, 2001.
- LI, Y. et al. Contributions of parental inbreds and heterosis to morphology and yield of single-cross maize hybrids in China. **Crop Science**, Madison, v. 54, n. 1, p. 76-88, 2014.
- LOPEZ, C. G.; BERTOIA, L. M.; BURAK, R. Heterosis and heterotic patterns among maize landraces for forage. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, p. 229-238, June 2009.
- MACHADO, J. C. **Estabilidade de produção e da capacidade de combinação em híbridos de milho**. 2007. 78 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- MELCHINGER, A. E. et al. Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms: relation to estimated genetic effects in maize inbreds. **Crop Science**, Madison, v. 30, p. 1033-1040, 1990.

- MELCHINGER, A. E. Genetic diversity and heterosis. In: COORS, J. G.; PANDEY, S. **The genetics and exploitation of heterosis in crops**. Madison: ASA, 1999. p. 99-118.
- MIHALJEVIC, R. et al. Correlations and QTL correspondence between line per se and testcross performance for agronomic traits in four populations of European maize. **Crop Science**, Madison, v. 45, p. 114-122, 2005.
- MIRANDA FILHO, J. B.; GERALDI, I. O. An adapted model for the analysis of partial diallel crosses. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 3, p. 677-688, 1984.
- MORELLO, C. L. de; MIRANDA FILHO, J. B.; GORGULHO, E. P. Partial diallel cross between exotic and adapted maize populations evaluated in acid soil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 2, p. 313-319, 2001.
- MORGANTE, M.; OLIVERI, A. M. PCR-amplification microsateles as marker in plant genetics. **The Plant Journal**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 175-182, Jan. 1993.
- MORÔ, G. V. **Uso da seleção genômica e fenotípica em linhagens para a predição de teste crosses em milho**. 2011.116 p. Tese (Doutorado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2011.
- PATERNIANI, E.; CAMPOS, M. S. Melhoramento do milho. In: BORÉM, A. (Org.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: Editora UFV, 1999. p. 429-485.
- PATERNIANI, M. E. A. G. Z. et al. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 639-648, maio/jun. 2008.
- PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Use of heterosis in maize breeding: history, methods and perspectives – a review. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 159-178, 2001.
- PINTO, R. M. C.; GARCIA, A. F. A.; SOUZA JR., C. L. Alocação de linhagens de milho derivadas das populações BR-105 e BR-106 em grupos heteróticos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 541-548, 2001.
- RAMALHO, M. A. P. et al. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. 1. ed. Lavras: UFLA, 2012. v. 1. 522 p.

- SÁNCHEZ, J. J.; GOODMAN, M. M.; STUBER, C. W. Racial diversity of maize in Brazil and adjacent areas. **Maydica**, Bergamo, v. 52, p. 13-30, 2007.
- SAWAZAKI, E.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Evolução dos cultivares de milho no Brasil. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. **Tecnologias de produção do milho**. 20. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. v. 1, p.13-53.
- SHULL, G. H. A pure line method of corn breeding. **American Breeders Association Report**, Washington, v. 5, p. 51-59, 1909.
- SHULL, G. H. The composition of a field of maize. **American Breeders Association Report**, Washington, v. 4, p. 296-301, 1908.
- SIBOV, S. T. et al. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsattelites markers: 2., quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. **Hereditas**, Copenhagen, v. 139, n. 2, p. 107-115, 2003.
- SOUZA JUNIOR, C. L. de et al. Melhoramento de espécies alógamas. In: NASS, L. L. et al. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento: plantas**. Rondonópolis: Fundação Rondonópolis, 2001. p. 159-199.
- SOUZA SOBRINHO, F. **Divergência genética de híbridos simples e alternativas para a obtenção de híbridos duplos de milho**. 2001. 96 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of American Society of Agronomy**, Madison, v. 34, p. 923-932, Oct. 1942.
- SSERUMAGA, J. P. et al. Molecular characterization of tropical maize inbred lines using microsatellite DNA markers. **Maydica**, Bergamo, v. 59, p. 267-272, Sept. 2014.
- TROYER, A. F. Adaptedness and heterosis in corn and mule hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 46, p. 528-543, Mar./Apr. 2006.
- TROYER, A. F. Background of U. S. hybrid corn. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 3, p. 601-626, May/June 1999.
- TROYER, A. F.; WELLIN, E. J. Heterosis decreasing in hybrids: yield test inbreds. **Crop Science**, Madison, v. 49, p. 1969-1979, Nov./Dec. 2009.

VEIGA, R. D.; FERREIRA, D. F.; RAMALHO, M. A. P. Eficiência dos dialelos circulantes na escolha dos genitores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 7, p. 1395-1406, 2000.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 Estratégia para a seleção de progênies de milho

PAUL¹O EDUARDO RODRIGUES PRADO

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003).

¹ paulo.prado@syngenta.com; Engenheiro Agrônomo, DSc em Genética e Melhoramento de Plantas.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar quais estratégias de seleção de progênies aplicadas na geração $S_{0:3}$ resultaram em híbridos de melhor desempenho na geração seguinte. Treze progênies foram cruzadas em esquema de dialelo completo na geração $S_{0:3}$ e na geração $S_{0:4}$. Os híbridos e as progênies da geração $S_{0:3}$ foram avaliados para produtividade de grãos em experimentos contíguos em dois ambientes. Em outros dois ambientes distintos foram avaliados os híbridos obtidos com os cruzamentos das progênies na geração $S_{0:4}$. Posteriormente, foram realizadas as análises de variâncias para as progênies na geração $S_{0:3}$ e para os híbridos produzidos com as progênies na geração $S_{0:3}$ e $S_{0:4}$. A análise dialélica foi realizada considerando o dialelo completo com as progênies na geração $S_{0:3}$ e também considerando todas as possibilidades de dialelos parciais onde um dos grupos é composto apenas por duas progênies. Por fim, foi estimado o diferencial de seleção na geração $S_{0:4}$ considerando a seleção das duas progênies de melhor performance na geração $S_{0:3}$ pelas diferentes estratégias utilizadas: avaliação *per se* das progênies, desempenho dos híbridos, capacidade geral de combinação obtida por meio da análise do dialelo completo e capacidade geral de combinação obtida nos dialelos parciais. Dentre as estratégias de seleção de progênies avaliadas, a capacidade geral de combinação apresentou o melhor desempenho para a obtenção de híbridos de milho.

Palavras chave: seleção de linhagens; capacidade geral de combinação; dialelo.

1 INTRODUÇÃO

Em programas comerciais de melhoramento de milho é comum a geração de milhares de novas linhagens todos os anos, seja pelo método tradicional, por meio de sucessivas autofecundações, ou através da tecnologia de duplos haplóides. A seleção dessas linhagens geralmente é realizada através da avaliação de híbridos *testcrosses*. Estes híbridos são obtidos do cruzamento das novas linhagens com linhagens elites do grupo heterótico oposto (SOUZA JUNIOR, 2001). São avaliados em experimentos e as linhagens genitoras dos híbridos com as melhores classificações são promovidas para etapas de avaliação subseqüentes.

Esta metodologia apresenta como principal vantagem a possibilidade de se identificar híbridos com potencial comercial e avaliá-lo em uma rede robusta de ensaios. No entanto, se a linhagem for selecionada com base no desempenho de apenas uma combinação híbrida, não há como inferir sobre a sua frequência de alelos favoráveis. Para realizar essa inferência seria necessário cruzá-la com um número maior de testadores e assim obter estimativa da capacidade geral de combinação (CGC). Isto seria importante, pois as linhagens em estágio avançado de seleção geralmente são utilizadas na geração das novas populações de onde serão extraídas novas linhagens. Porém, na prática, o uso de muitos testadores irá gerar um número muito grande de híbridos, tornando o processo de avaliação muito oneroso.

Uma alternativa seria cruzar as linhagens com um número reduzido de testadores e avaliá-las como um dialelo parcial. Contudo, a dúvida que permanece é se a seleção das linhagens com base em

estimativas de CGC obtidas de um dialelo parcial com poucos testadores seria tão eficiente quanto uma seleção com base nas estimativas de CGC obtidas com um grande número de testadores ou em um dialelo completo.

Por outro lado, Troyer e Wellin (2009) recomendam que no processo de seleção de linhagens, primeiramente seja realizada uma seleção pelo desempenho *per se* das linhagens e só depois avaliadas em combinações híbridas. Os autores apoiam seu argumento na conclusão de que a heterose presente nos híbridos esta estabilizada e com tendência de declínio e que os incrementos de produtividades presentes nos híbridos atuais é em decorrência das melhorias no desempenho das linhagens parentais. No entanto, a correlação entre o desempenho das linhagens e seus híbridos é muito baixa para ter algum valor preditivo (MIHALJEVIC et al., 2005; Hallauer e Lopez-Perez, 1979).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar quais estratégias de seleção de progênies aplicadas na geração $S_{0:3}$ resultaram em híbridos de melhor desempenho na geração seguinte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Cento e quarenta e duas progênies na geração $S_{0:1}$ foram extraídas de um composto (UFLA -1), obtido pelo inter cruzamento de vários híbridos comerciais recomendados para a região centro-sul do Brasil. Posteriormente, todas as progênies foram cruzadas com dois híbridos simples comerciais e os testcrosses gerados foram avaliados para a produtividade de grãos. Com os resultados dessas avaliações, treze progênies foram selecionadas pelo bom desempenho em combinação híbrida com um ou outro testador.

Com as treze progênies selecionadas foi realizado o cruzamento em esquema de dialelo completo originando 78 híbridos. O dialelo foi realizado com as progênies na geração $S_{0:3}$ e posteriormente refeito com as progênies na geração $S_{0:4}$.

Os híbridos e as progênies da geração $S_{0:3}$ foram avaliados para produtividade de grãos, em kg ha^{-1} corrigido para 13% de umidade, em experimentos contíguos em dois ambientes distintos. E em outros dois ambientes distintos foram avaliados os experimentos com os híbridos obtidos dos cruzamentos das progênies na geração $S_{0:4}$.

O delineamento utilizado em todos os casos foi o de blocos casualizados, com três repetições. As parcelas foram constituídas por duas linhas de três metros de comprimento, com espaçamento de 0,6 metros e quatro plantas por metro linear. As operações de manejo recomendadas para a cultura foram realizadas a fim de proporcionar as melhores condições para o desenvolvimento das plantas.

De posse dos dados, as análises de variância foram realizadas primeiramente considerando a estrutura experimental e posteriormente o delineamento genético. Na primeira etapa foram realizadas as análises de variâncias individuais e conjuntas para os híbridos e para as progênes na geração S_{0:3} e também as análises de variâncias individuais e conjunta para os híbridos obtidos dos cruzamentos com as progênes na geração S_{0:4}. Em todas as análises de variâncias os efeitos do modelo estatístico foram considerados como fixos, exceto o erro experimental:

$$Y_{ikj} = \mu + t_i + l_k + b_{j(k)} + (tl)_{ik} + e_{ikj} \quad (1)$$

Em que:

Y_{ikj} : valor do tratamento do i dentro do ambiente k dentro do bloco j ;

μ : média geral do experimento;

t_i : efeito do tratamento i;

l_k : efeito do ambiente k;

$b_{j(k)}$: efeito do bloco j dentro do ambiente k;

$(tl)_{ik}$: efeito da interação entre o tratamento i com o ambiente k;

e_{ikj} : erro experimental associado à observação Y_{ikj} com $e_{ikj} \cap N(0, \sigma_e^2)$.

Na segunda etapa foi realizada a análise dialélica, pelo método IV de Griffing (1956), onde os efeitos de tratamento e da interação Tratamentos x Ambientes do modelo (1) foram desdobrados visando estimar os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) e a

capacidade específica de combinação (CEC), bem como suas interações com Ambientes:

$$t_i = g_n + g_{n'} + s_{nn'} \quad (2)$$

$$(tl)_{ik} = (gl)_{nk} + (gl)_{n'k} + (sl)_{mn'k} \quad (3)$$

Neste desdobramento, g_n e $g_{n'}$, são os efeitos de capacidade geral de combinação dos genitores n e n' , respectivamente e $s_{nn'}$ é o efeito da capacidade específica de combinação entre os genitores n e n' . A expressão 3 contém os efeitos da interação de Ambientes com as capacidades de combinação da expressão 2.

Posteriormente, com os dados dos experimentos dos híbridos obtidos com o cruzamento das progênes na geração $S_{0:3}$ foram realizadas 78 análises dialélicas, considerando todas as possibilidades de dialelos parciais onde um dos grupos é composto por duas progênes. Os modelos utilizados são os mesmos citados anteriormente, no entanto, os efeitos das CGC e suas interações são específicos para cada um dos grupos dos dialelos parciais.

Por fim, com os resultados de todas as análises foi estimado o diferencial de seleção na geração $S_{0:4}$ considerando a seleção das duas progênes de melhor performance na geração $S_{0:3}$ pelas diferentes estratégias utilizadas: avaliação per se das progênes, desempenho dos híbridos, capacidade geral de combinação obtida por meio da análise do dialelo completo e capacidade geral de combinação obtida nos 78 dialelos

parciais. Para esta última estratégia o diferencial de seleção é composto da média das 78 estimativas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas análises de variâncias apresentadas na Tabela 1, observa-se que a fonte de variação tratamento apresentou diferenças significativas para os híbridos obtidos com as progênies nas gerações $S_{0.3}$ e $S_{0.4}$ e para as progênies (geração $S_{0.3}$). Ramalho et al. (2012) comenta que genótipos heterozigóticos são menos influenciados pelas variações ambientais do que genótipos homozigóticos. Isso foi observado nos trabalhos de Li et al. (2014) e Geiger, Gordillo e Koch, (2013), porém nesse trabalho, apesar das fontes de variação não serem diretamente comparáveis por se tratar de experimentos distintos, isso não ocorreu. A fonte de variação da interação Tratamentos x Ambientes apresentou diferenças significativas apenas para os híbridos e não para as progênies.

Tabela 1 Resumo das análises de variância conjuntas para a capacidade geral de combinação (CGC), capacidade específica de combinação (CEC) e produção de grãos de híbridos obtidos com as progênes na geração S_{0:3} e produção de grãos para híbridos obtidos com as progênes na geração S_{0:4} e produção de grãos para as progênes na geração S_{0:3}

| FV | Híbridos | | | Progênes | |
|-----------------|--------------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|---------------|
| | Geração S _{0:3} | | Geração S _{0:4} | Geração S _{0:3} | |
| | GL | QM | QM | GL | QM |
| Ambiente (A) | 1 | 420838083** | 18627112* | 1 | 95852364,67** |
| Bloco/Ambiente | 4 | 9721633** | 5297141 | 4 | 2836847,99** |
| Tratamento (T) | 77 | 26328674** | 14208793** | 12 | 4423839,16** |
| CGC | 12 | 104637997** | | | |
| CEC | 65 | 11871569** | | | |
| T x A | 77 | 3514074* | 8572461** | 12 | 1163532,80 |
| CGC x A | 12 | 6815733** | | | |
| CEC x A | 65 | 2904537 | | | |
| Resíduo | 294 | 2475620 | 3807680 | 48 | 745586,8 |
| r _{gg} | | 0,90 | 0,86 | | 0,91 |

*, **: significativo a 5% e 1%, respectivamente, pelo teste F;

As estimativas da acurácia seletiva, em todas as análises, foram superiores a 0,86 (Tabela 1). Segundo Resende e Duarte (2007) estimativas de acurácia superiores a 0,85 é indicativo de alta precisão experimental. Em relação a análise dialélica resultante dos desdobramentos dos e feitos de tratamento e da interação Tratamentos x Ambientes, nota-se que com exceção da interação CEC x Ambiente, todas as fontes de variação apresentaram diferenças significativas.

O híbrido que apresentou a melhor média na geração $S_{0:3}$ foi oriundo do cruzamento das progênies 2 e 12. Este híbrido produziu em média $15.349 \text{ kg ha}^{-1}$ e apresentou a quarta melhor estimativa de CEC na análise dialélica. As progênies 2 e 10 foram as que apresentaram as melhores estimativas de CGC no dialelo completo e na avaliação *per se* as melhores médias foram das progênies 3 e 13 (TABELA 2). Nota-se que as três estratégias utilizadas para a seleção de progênies apresentam resultados de seleção divergentes. Apenas a seleção da progênies 2 é coincidente na seleção pela CGC do dialelo completo e pelo desempenho do híbrido.

Tabela 2 Estimativas de capacidade geral de combinação (CGC) na diagonal, estimativa da capacidade específica de combinação (CEC) acima da diagonal, médias de produtividade de grãos, em kg ha⁻¹, dos híbridos obtidos com as progêneses na geração S_{0:3} abaixo da diagonal e médias de produtividade de grãos, em kg ha⁻¹, das progêneses na geração S_{0:3}

| Progêneses | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|-----------------------|-----------------|-------------------|-----------------|---------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|----------------|--------------------|
| 1 | -1901,50 | 3916,70* | 2859,00 | 2087,33 | 2589,00 | 144,00 | -67,33 | 218,00 | 2370,83 | 2259,50 | -637,17 | 2169,67 | -17909,50 |
| 2 | 14636,00 | 34810,70** | 3598,10* | 3586,17* | -2827,00 | -589,18 | 148,48 | 2444,83 | 3572,33* | -2289,33 | 2144,40 | 4832,50** | -18538,00 |
| 3 | 8456,00 | 12476,00 | -2638,20 | 5296,33** | 2760,83 | 3337,83* | 3317,67* | 2410,50 | 3337,83* | 4942,67** | 2849,83* | 2722,33* | -37432,90** |
| 4 | 8333,00 | 13112,00 | 9700,00 | 557,40 | 3298,50* | 1940,90 | 2237,67 | 2244,67 | 4170,17** | 5433,00** | -754,83 | 3955,17** | -33495,10* |
| 5 | 12209,00 | 10074,00 | 10539,00 | 11725,00 | 24075,20** | 2838,33 | 1990,33 | 1822,83 | 2598,83 | -604,83 | 1934,40 | 3490,33** | -19891,60 |
| 6 | 7447,00 | 9994,00 | 8799,00 | 8051,00 | 12323,00 | -6737,70** | 1284,50 | 167,00 | 1258,50 | 3305,90* | -417,50 | 1297,17 | -14567,50 |
| 7 | 7547,00 | 11043,00 | 9090,00 | 8658,00 | 11786,00 | 8763,00 | -6800,00** | -1684,88 | 1580,69 | 1502,83 | 373,33 | 402,67 | -11086,00 |
| 8 | 7943,00 | 13450,00 | 8293,00 | 8776,00 | 11729,00 | 7756,00 | 6215,00 | -7732,40** | 235,83 | 2239,67 | -104,00 | -1056,33 | -8938,12 |
| 9 | 8628,00 | 13110,00 | 7753,00 | 9234,00 | 11037,00 | 7380,00 | 8013,00 | 6779,00 | -4763,70 | 3938,67** | 2792,48** | 2189,50 | -28045,70* |
| 10 | 11456,00 | 10187,00 | 12297,00 | 13436,00 | 10773,00 | 12366,00 | 10874,00 | 11721,00 | 11953,00 | 27649,40** | 3793,17** | 3610,33** | -28131,60* |
| 11 | 8454,00 | 14516,00 | 10100,00 | 7143,00 | 13207,00 | 8538,00 | 9640,00 | 9273,00 | 10702,00 | 14642,00 | 10340,60** | -126812,00 | 114837,50 |
| 12 | 9406,00 | 15349,00 | 8117,00 | 9999,00 | 12908,00 | 8398,00 | 7814,00 | 6466,00 | 8245,00 | 12604,00 | 8889,00 | 1576,70 | 103198,30 |
| 13 | 9240,00 | 12520,00 | 7398,00 | 8047,00 | 11421,00 | 9104,00 | 9415,00 | 9526,00 | 8058,00 | 10997,00 | 10893,00 | 9038,00 | -68436,50** |
| Médias ⁽¹⁾ | 5374,00 | 5246,00 | 6360,00 | 4278,00 | 3562,00 | 4386,00 | 4925,00 | 5246,00 | 6065,00 | 5462,00 | 4264,00 | 4978,00 | 6438,00 |

*, **: significativo a 5% e 1%, respectivamente, pelo teste t; ⁽¹⁾ Médias de produtividade de grãos, em kg ha⁻¹, das progêneses na geração S_{0:3}.

Para a análise do dialelo parcial, optou-se por formar os grupos contendo de um lado onze progênies e do outro as duas progênies restantes. Essa formação permite estimar a CGC das progênies sob avaliação considerando o menor número possível de testadores, ou seja, duas progênies. Assim como nas outras estratégias, para cada uma das 78 análises dos dialelos parciais, foram selecionadas as duas progênies que apresentaram melhor estimativa de CGC. Porém, quando a progênie foi utilizada como testadora ela não estava no grupo onde foi aplicada a seleção. A distribuição de frequência das progênies selecionadas nos 78 dialelos parciais é apresentada na Figura 1. Nota-se que as progênies com estimativa negativa ou não significativas de CGC no dialelo completo (Tabela 2) como é o caso das progênies 1, 3, 4, 6, 7, 8 e 9 não estão dentre as selecionadas nos dialelos parciais ou foram selecionadas poucas vezes. A exceção é a progênie 13 selecionada em torno de 10% dos casos e no dialelo completo apresenta CGC negativa. Este resultado denota a coerência entre a seleção das progênies pelas estimativas de CGC dos diferentes dialelos.

Na Figura 2 observa-se a distribuição das estimativas de CGC nos dialelos parciais. Observa-se que as quatro progênies melhores classificadas são as 2, 5, 10 e 11. Apenas estas progênies apresentaram estimativas positivas e significativas de CGC no dialelo completo. Em relação as outras progênies que apresentaram estimativas negativas ou não significativas de CGC no dialelo completo, a coincidência da classificação com os resultados dos dialelos parciais não foi boa.

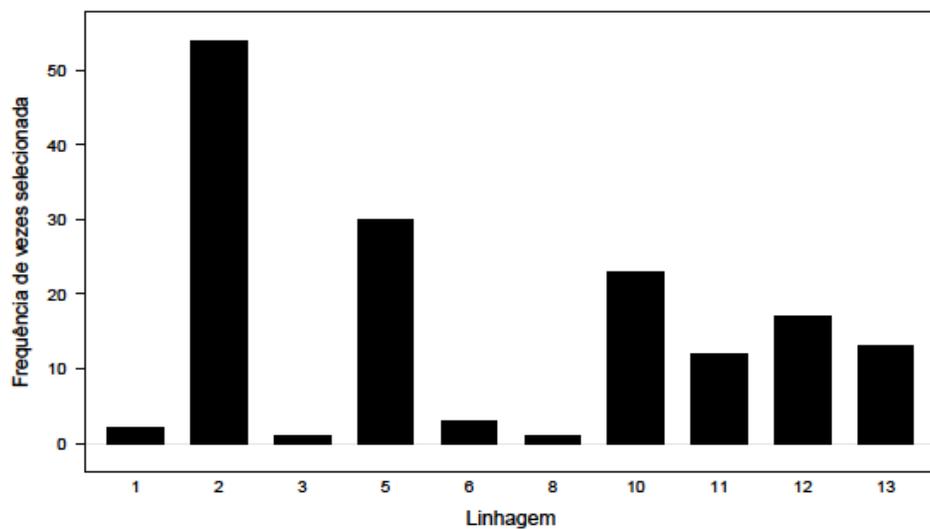


Figura 1 Frequência da seleção das progênies de milho com base nas estimativas de CGC estimadas nos dialelos parciais

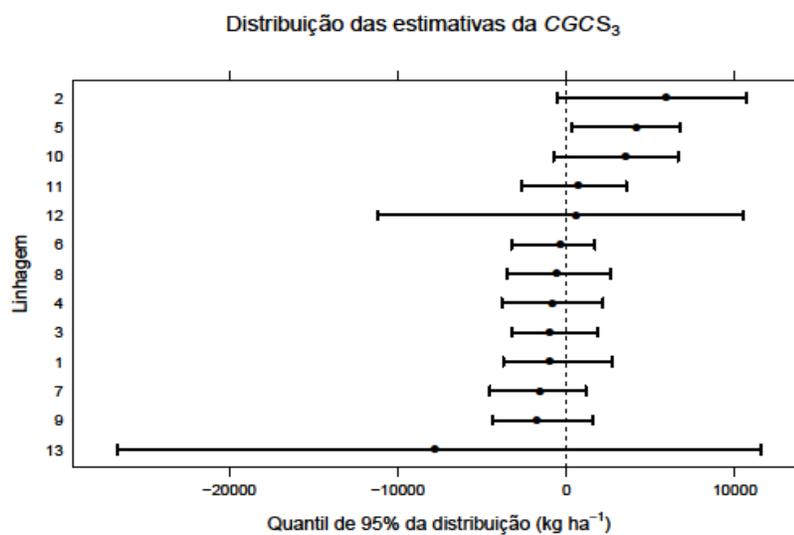


Figura 2 Distribuição das estimativas CGC das progênies de milho estimadas nos dialelos parciais

Ferreira et al. (2004), avaliando a produção de espigas de milho, observaram que na comparação entre o dialelo completo e o dialelo circulante, a redução de 30% no número de cruzamentos não trouxe prejuízo na escolha dos melhores genitores e das melhores combinações híbridas. Com dados simulados, Veiga, Ferreira e Ramalho (2000) constataram que para caracteres de alta herdabilidade a classificação dos pais pela CGC no dialelo completo e no dialelo circulante é bastante semelhante. E considerando uma herdabilidade de 10%, com presença de dominância e um pequeno número de cruzamentos no dialelo circulante a correlação classificatória é em torno de 0,5 entre os dialelos. No presente trabalho, considerando os dialelos parciais, a redução do número de cruzamentos foi drástica em relação ao dialelo completo - superior a 70%, e ao menos para as melhores estimativas de CGC, observou - se boa coincidência na seleção.

Em relação ao resultado da seleção realizada na geração $S_{0:3}$ e mensurado na geração seguinte, pode-se observar que a estratégia de seleção por meio da CGC do dialelo completo apresentou o maior diferencial de seleção – 1.682 kg/ha. A segunda melhor estimativa foi a seleção por meio da CGC dos dialelos parciais, seguida da seleção pelo desempenho do híbrido e por último a seleção pelo desempenho *per se*, na qual obteve-se estimativa negativa de diferencial de seleção (TABELA 3). Vale ressaltar que a estimativa apresentada pelo dialelo parcial é a média de cada um dos diferenciais de seleção dos 78 dialelos parciais avaliados. Avaliando-se cada um dos 78 dos dialelos parciais em mais de 50% dos casos seriam selecionadas as progênies 2 e 5 (22 vezes) ou as progênies 2 e 10 (19 vezes), o que resulta em uma média ponderada do

diferencial de seleção de 1.179 kg/ha. Estimativa superior a proporcionada pela estratégia comumente utilizada que é a seleção com base no desempenho do híbrido.

Tabela 3 Progênes selecionadas na geração $S_{0:3}$ para cada uma das estratégias avaliadas e o respectivo diferencial de seleção obtido na geração $S_{0:4}$

| Estratégia de Seleção | Progênes Selecionadas | Diferencial de Seleção |
|-----------------------------|-----------------------|------------------------|
| Híbridos | 2 - 12 | 674,42 |
| Dialelo Completo | 2 - 10 | 1682,01 |
| Progênes (Per se) | 3 - 13 | -240,92 |
| Média dos dialelos Parciais | | 914,70 ¹ |

¹Média do diferencial de seleção de todos os 78 dialelos parciais.

Visualiza-se na Figura 3 a relação entre o desempenho *per se* das progênes na geração $S_{0:3}$ e das estimativas de CGC dos dialelos completos na geração $S_{0:3}$ com a média do desempenho dos híbridos que cada uma das progênes compõem na geração $S_{0:4}$. Observa-se o baixo potencial preditivo das progênes em relação a performance de seus híbridos. O contrário pode-se afirmar da CGC, pois nota-se que quanto maior a estimativa de CGC da progênes melhor é a média dos híbridos que esta progênes compõem.

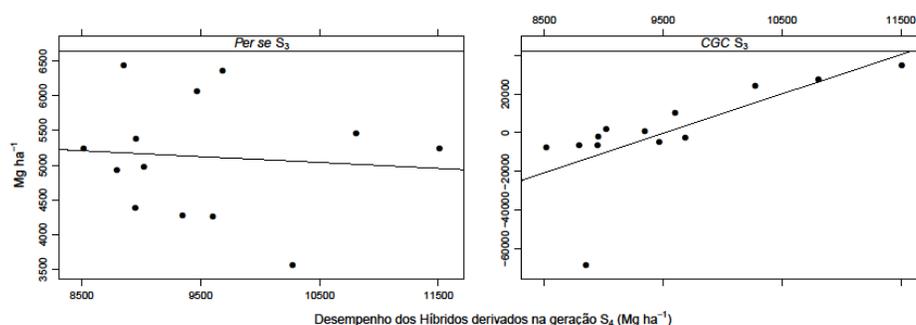


Tabela 4 Relação entre o desempenho *per se* das progêneses S_{0:3} e das estimativas de CGC estimadas na geração S_{0:3} com a performance média dos híbridos na geração S_{0:4}

Em grande parte, a baixa relação entre o desempenho *per se* das progêneses e o desempenho dos seus híbridos esta relacionado com os efeitos não aditivos envolvidos no controle genético do caráter produtividade de grãos. Para caracteres que apresentam controle genético do tipo aditivo as estimativas das correlações são mais elevadas (PRADO et al., 2013).

Troyer e Wellin (2009) comentam que os programas comerciais de melhoramento de milho necessitam ser mais eficientes e rever suas estratégias. Apoiados em estudos realizados nos Estados Unidos, os quais apontam uma tendência de redução da participação da heterose no desempenho dos híbridos, os autores sugerem avaliar o desempenho *per se* das linhagens e só depois suas combinações híbridas. Observando os resultados do presente trabalho, infere-se que a estratégia proposta pelos

autores pode resultar no descarte de progênies com bom potencial em combinações híbridas.

A seleção das progênies com base na sua CGC nos estágios iniciais do programa de melhoramento pode ser uma alternativa mais interessante. As novas progênies poderiam ser testadas com o maior número possível de testadores e só depois de selecionadas seriam avaliadas com base na sua CEC. Isto proporcionaria a formação de um banco de progênies avançadas com alta frequência de alelos favoráveis o que poderia proporcionar a melhora do germoplasma em longo prazo.

4 CONCLUSÃO

Dentre as estratégias de seleção de progênies avaliadas a capacidade geral de combinação apresentou o melhor desempenho para a obtenção de híbridos de milho.

STRATEGY FOR THE SELECTION OF CORN PROGENIES

ABSTRACT

The objective of this work was to verify which progeny selection strategies, applied to generation $S_{0:3}$, would result in better performing hybrids in the next generation. We crossed 13 progenies, from generations $S_{0:3}$ and $S_{0:4}$, in a complete diallel scheme. The hybrids and generation $S_{0:3}$ progenies were evaluated for grain productivity in continuous experiments in two distinct environments. In another two distinct environments, we evaluated the hybrids obtained with the crosses of generation $S_{0:4}$ progenies. Posteriorly, we conducted analysis of variance on the progenies from generation $S_{0:3}$ and on hybrids produced with the progenies of generations $S_{0:3}$ and $S_{0:4}$. The diallel analysis was performed considering the complete diallel, with progenies from generation $S_{0:3}$, also considering all possibilities of partial diallels, in which one of the groups was comprised of only two progenies. Finally, we estimated the selection differential on generation $S_{0:4}$, considering the selection of the two best performing progenies from generation $S_{0:3}$, by the different methodologies used: *per se* evaluation of the progenies; hybrid performance; general combination ability, obtained by the complete diallel analysis; and general combination ability, obtained by the partial diallels. Among the evaluated progeny selection strategies, the general combination ability presented the best performance for obtaining corn hybrids.

Keywords: Inbred lines selection. General combination ability. Diallel.

REFERÊNCIAS

FERREIRA, F. M. et al. Efficiency of circulant diallels as compared to complete diallels for the estimation of combining ability. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 145-151, June 2004.

GEIGER, H. H.; GORDILHO, G. A.; KOCH, S. Genetic correlations among haploids, doubled haploids and testcrosses in maize. **Crop Science**, Madison, v. 53, n. 6, p. 2313-2320, Sept. 2013.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Science**, East Melbourne, v. 9, p. 463-493, 1956.

HALLAUER, A. R.; LOPEZ-PEREZ, E. Comparación among tester for evaluating lines of corn. In: CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 34., 1979, Chicago. **Proceedings...** Washington: AM. SEED TRADE ASS., 1979. p. 57-75.

LI, Y. et al. Contributions of parental inbreds and heterosis to morphology and yield of single-cross maize hybrids in China. **Crop Science**, Madison, v. 54, n. 1, p. 76-88, 2014.

MIHALJEVIC, R. et al. Correlations and QTL correspondence between line per se and testcross performance for agronomic traits in four populations of European maize. **Crop Science**, Madison, v. 45, p. 114-122, 2005.

PRADO, S. A. et al. Correlations between parental inbred lines and derived hybrid performance for grain filling traits in maize. **Crop Science**, Madison, v. 53, n. 4, p. 1636-1645, Nov. 2013.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. 1. ed. Lavras: UFLA, 2012. v. 1. 522 p.

RESENDE, M. D. V. de; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade de experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182-194, set. 2007.

SOUZA JUNIOR, C. L. de et al. Melhoramento de espécies alógamas. In: NASS, L. L. et al. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento**: plantas. Rondonópolis: Fundação Rondonópolis, 2001. p. 159-199.

TROYER, A. F.; WELLIN, E. J. Heterosis decreasing in hybrids: yield test inbreds. **Crop Science**, Madison, v. 49, p. 1969-1979, Nov./Dec. 2009.

VEIGA, R. D.; FERREIRA, D. F.; RAMALHO, M. A. P. Eficiência dos dialelos circulantes na escolha dos genitores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 7, p. 1395-1406, 2000.

**ARTIGO 2 Validação de grupos heteróticos de milho utilizando híbridos
simples como testadores**

Artigo formatado de acordo com a norma da Pesquisa Agropecuária

Tropical e adaptado a versão final da UFLA.

1 **VALIDAÇÃO DE GRUPOS HETERÓTICOS DE MILHO**
2 **UTILIZANDO HÍBRIDOS SIMPLES COMO TESTADORES**

3

4 **Resumo**

5 A alocação de progênies em grupos heteróticos é uma estratégia utilizada
6 em programas de melhoramento de milho, pois possibilita maior
7 eficiência na exploração da heterose. De forma geral, a determinação de
8 grupos heteróticos é realizada por meio de cruzamentos dialélicos e/ou
9 pela avaliação da similaridade genética, obtida por meio de marcadores
10 moleculares. O objetivo desse trabalho foi validar a eficiência de dois
11 híbridos simples, com alta estimativa de capacidade específica de
12 combinação (CEC), em classificar progênies em grupos heteróticos. Treze
13 progênies foram separadas em dois grupos (I e II) de acordo com seu
14 desempenho em combinações híbridas com dois testadores (híbridos F e
15 G). Posteriormente, as 13 progênies foram cruzadas em esquema de
16 dialelo completo, os híbridos gerados foram avaliados para produção de
17 grãos, e os resultados submetidos à análise de variância e à análise
18 dialélica. As progênies parentais também foram genotipadas com
19 quarenta e um *primers* microssatélites, e com os resultados dos

20 marcadores foram estimadas as distâncias genéticas entre as progênies.
21 Visando a confirmação dos grupos formados por meio dos testadores,
22 outros dois agrupamentos foram realizados, sendo um utilizando a
23 dissimilaridade genética obtida por meio dos marcadores, e outro
24 utilizando as estimativas de CEC obtidas na análise dialélica. Verificou-se
25 que os agrupamentos gerados pelas diferentes metodologias não foi
26 coincidente, e que os híbridos simples não foram eficientes na
27 classificação das progênies em grupos heteróticos.

28 Palavras chave: Capacidade específica de combinação; dissimilaridade
29 genética; dendograma.

30

31 **VALIDATION OF HETEROTIC CORN GROUPS USING SINGLE**
32 **CROSS HYBRIDS AS TESTERS**

33 **ABSTRACT**

34 The allocation of progenies within heterotic groups is a strategy used in
35 corn breeding programs, and allows for a better efficiency in exploring
36 heterosis. Generally, the determination of heterotic groups is done by
37 means of diallel crossings and/or by evaluating the genetic similarity
38 obtained by molecular markers. The objective of this work was to validate
39 the efficiency of two single cross hybrids, with high estimate of specific
40 combination ability, in classifying progenies in heterotic groups. We
41 divided 13 progenies into two groups (I and II), according to their
42 performance in hybrid combinations, with two testers (hybrids F and G).
43 Subsequently, the 13 progenies were crossed in complete diallel scheme.
44 The hybrids generated were evaluated for grain production, and the
45 results submitted to analysis of variance and diallel analysis. The parental
46 progenies were also genotyped with 41 microsatellite primers. With the
47 results obtained from the markers, the genetic distances between
48 progenies were estimated. With the objective of confirming the groups
49 formed by the testers, another two groupings were performed. One group

50 was formed by using the genetic dissimilarity obtained by the markers,
51 and the other, using the specific combination abilities estimates obtained
52 in the diallel analysis. We verified that the groups generated by the
53 different methodologies did not coincide, and that the single cross hybrids
54 were not efficient in classifying the progenies into heterotic groups.

55 Keywords: Specific combination ability; genetic dissimilarity;
56 dendrogram.

57

58 **INTRODUÇÃO**

59 O sucesso das sementes híbridas, em grande parte, pode ser explicado
60 pela exploração da heterose. Nos últimos 100 anos, várias hipóteses e
61 trabalhos foram apresentados com o objetivo de colaborar com o melhor
62 entendimento da heterose: hipótese da dominância; hipótese da
63 sobredominância; participação dos efeitos epistáticos na heterose; heterose
64 resultante da ação multiplicativa de genes relacionados a componentes de
65 produção; não colinearidade genética (Schenell & Cockerham 1992,
66 Hochholdinger & Hocker 2007, Bernardo 2010, Melo et al. 2014). No
67 entanto, Hallauer et al. (2010), afirmam que a heterose apesar de ser

68 explorada comercialmente nos programas de melhoramento, ainda é
69 pouco compreendida.

70 Diante do desconhecimento das reais bases genéticas e moleculares da
71 heterose, algumas técnicas e estratégias são apontadas como alternativas
72 para direcionar cruzamentos entre as linhagens parentais, e tornar os
73 programas de melhoramento mais eficientes. Pode-se citar como
74 exemplos a organização do germoplasma em grupos heteróticos e o uso
75 de dissimilaridade genética para predição do vigor híbrido. Porém, os
76 resultados obtidos por essa última abordagem são inconsistentes, e por
77 essa razão, não tem sido utilizada em larga escala nos programas de
78 melhoramento (Balestre et al. 2008, Devi & Singh 2011).

79 Flint-Garcia et al. (2009) comentam sobre o fato desses estudos terem
80 como único foco a heterose para produção de grãos, o que é
81 compreensível, devido a importância desse caráter. No entanto, a
82 produção possivelmente é o caráter de maior complexidade genética na
83 planta, pois é influenciada por vários outros caracteres. Assim, a
84 realização de trabalhos com objetivo de estudar a heterose para os
85 caracteres que compõem a produtividade, bem como a sua associação

86 com a distância genética, obtida por meio de marcadores moleculares,
87 pode auxiliar no maior entendimento da heterose para produtividade.

88 Por outro lado, a estratégia de agrupar o germoplasma em grupos
89 heteróticos é comum nos programas de melhoramento, pois possibilita
90 explorar a heterose com maior eficiência, uma vez que cruzamentos entre
91 genótipos de grupos distintos, em média, apresentam maior grau de
92 heterose (Lee 1995). Além disso, colaboram para o melhor gerenciamento
93 do germoplasma e torna possível o direcionamento do melhoramento das
94 linhagens, com o objetivo de serem utilizadas como fêmea ou macho, de
95 acordo com o papel que cada grupo heterótico assume na síntese dos
96 híbridos (Lauer et al. 2012).

97 De forma geral, nos trabalhos encontrados na literatura, a determinação e
98 classificação de grupos heteróticos são realizadas por meio de
99 cruzamentos dialélicos e/ou pela avaliação da similaridade genética
100 obtida por meio de marcadores moleculares. O uso do dialelo é uma boa
101 opção quando se trabalha com um pequeno número de linhagens ou de
102 populações. Neste caso, considera-se que as linhagens são de grupos
103 distintos, quando apresentam elevada magnitude da capacidade específica
104 de combinação (Pinto et al. 2001, Fan et al. 2014). Porém, quando um

105 grande número de linhagens impossibilita o uso do cruzamento dialélico,
106 a utilização da similaridade genética, obtida por meio de marcadores
107 moleculares, pode ser utilizada, embora, como relatado anteriormente,
108 ocorram opiniões e resultados controversos sobre a eficiência dessa
109 técnica (Barata & Carena 2006, Sserumaga et al. 2014).

110 Outra forma de alocar o germoplasma em grupos heteróticos é realizar o
111 cruzamento do germoplasma a ser classificado, com genótipos
112 representativos de cada um dos grupos heteróticos já existentes e,
113 posteriormente, alocá-los de acordo com o desempenho do híbrido
114 *testcross*. No entanto, isso é possível apenas quando o programa já possui
115 testadores representativos de cada um dos grupos heteróticos. No caso de
116 programas nos quais o germoplasma ainda não está agrupado, uma
117 alternativa seria utilizar como testadores, genótipos que apresentem
118 estimativas de alta magnitude da capacidade específica de combinação
119 (Pinto et al. 2001).

120 Diante do exposto, os objetivos desse trabalho são: validar a eficiência de
121 dois híbridos simples, os quais apresentam uma alta magnitude da
122 capacidade específica de combinação, em classificar linhagens em grupos
123 heteróticos; verificar a existência de correlação entre a distância genética,

124 estimada por meio de marcadores, com a heterose para produção de grãos
125 e para os componentes de produção; verificar a existência de correlações
126 entre a heterose para produção de grãos e as heteroses para os
127 componentes de produção.

128 **MATERIAL E MÉTODOS**

129 Vários híbridos comerciais recomendados para a região centro-sul do
130 Brasil foram inter cruzados obtendo-se o composto UFLA-1. Deste
131 composto, foram extraídas 142 progênies. Posteriormente, na geração
132 $S_{0:2}$, essas progênies foram cruzadas com dois híbridos simples
133 comerciais, denominados híbrido F e híbrido G, os quais apresentam uma
134 elevada estimativa de capacidade específica de combinação (Machado et
135 al. 2009).

136 Os híbridos produzidos foram avaliados em dois ambientes, e com os
137 resultados desses experimentos foram selecionadas as seis melhores
138 progênies em combinação híbrida com o testador F, formando o Grupo I.
139 O Grupo II foi formado pelas sete melhores progênies em combinação
140 híbrida com o testador G. Dessa forma, as progênies 1, 2, 3, 4, 5 e 6
141 compõem o Grupo I e as progênies 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13 compõem o
142 Grupo II.

143 Com as treze progênies selecionadas e alocadas nos Grupos I e II, foram
144 realizados cruzamentos em esquema de dialelo completo, obtendo setenta
145 e oito híbridos simples. O cruzamento dialélico foi realizado com as
146 progênies na geração $S_{0:3}$ e, posteriormente, refeito na geração $S_{0:4}$. Os
147 híbridos e as progênies foram avaliados em experimentos contíguos em
148 quatro ambientes distintos, sendo dois ambientes com os híbridos obtidos
149 com as progênies na geração $S_{0:3}$, e dois ambientes com os híbridos
150 obtidos com as progênies na geração $S_{0:4}$.

151 O delineamento utilizado em todos os casos foi o de blocos casualizados,
152 com três repetições. As parcelas foram constituídas por duas linhas de três
153 metros de comprimento, com espaçamento de 0,6 metros e quatro plantas
154 por metro linear. As operações de manejo recomendadas para a cultura
155 foram realizadas, a fim de proporcionar as melhores condições para o
156 desenvolvimento das plantas.

157 Foram avaliados os caracteres de produtividade de grãos (PRD), em kg
158 ha^{-1} corrigido para 13% de umidade; prolificidade (PRL), obtido pela
159 relação entre o número de espigas na parcela e o estande de plantas;
160 comprimento de espiga (COE), em centímetros; número de fileiras por
161 espiga (NFE); número de grãos por fileira (NGF); peso de 100 grãos

162 (P100), em gramas; e profundidade de grãos (PRG), em milímetros. Os
163 caracteres COE, NFE, NGF, P100 e PRG foram mensurados em cinco
164 espigas, tomados aleatoriamente em cada uma das parcelas.

165 De posse dos dados, as análises de variância foram realizadas,
166 primeiramente considerando a estrutura experimental e, posteriormente, o
167 delineamento genético. Na primeira etapa foram realizadas as análises de
168 variâncias individuais e conjuntas para todos os caracteres avaliados,
169 considerando-se todos os efeitos como fixos, exceto o erro experimental:

$$170 \quad Y_{imkj} = \mu + t_i + p_m + l_{k(m)} + b_{j(km)} + (tp)_{im} + (tl)_{ik(m)} + e_{imkj} \quad (1)$$

171 em que:

172 Y_{imkj} : valor tratamento i na geração m dentro do ambiente k dentro do
173 bloco j ;

174 μ : média geral do experimento;

175 t_i : efeito do tratamento i ;

176 p_m : efeito da geração m ;

177 $l_{k(m)}$: efeito do ambiente k dentro da geração m ;

178 $b_{j(km)}$:efeito do bloco j dentro do ambiente k dentro da geração m ;

179 $(tp)_{im}$: efeito da interação entre tratamento i com a geração m ;

180 $(tl)_{ik(m)}$: efeito da interação entre o tratamento i com o ambiente k dentro
 181 da geração m ;

182 e_{imkj} : erro experimental associado à observação Y_{imkj} com $e_{imkj} \cap N(0,$
 183 $\sigma_e^2)$.

184 Para os caracteres COE, NFE, NGF, P100 e PRG utilizou-se a média dos
 185 valores mensurados em cada uma das cinco espigas amostradas.

186 Após a obtenção das médias nas análises de variância conjunta, para cada
 187 um dos caracteres avaliados, foram estimadas as heteroses em percentual
 188 da média dos pais.

189 Na segunda etapa, para o caráter produtividade, foi realizada a análise
 190 dialélica, pelo método IV de Griffing (1956). Alguns efeitos do modelo
 191 (1) foram desdobrados visando estimar os efeitos de capacidade geral de
 192 combinação (CGC) e a capacidade específica de combinação (CEC), bem
 193 como suas interações com Geração e com Ambientes dentro de Geração:

$$194 \quad t_i = g_n + g_{n'} + s_{nn'} \quad (2)$$

$$195 \quad (tp)_{im} = (gp)_{nm} + (gp)_{n'm} + (sp)_{nn'm} \quad (3)$$

$$196 \quad (tl)_{ik(m)} = (gl)_{nk(m)} + (gl)_{n'k(m)} + (sl)_{nn'k(m)} \quad (4)$$

197 Neste desdobramento, g_n e $g_{n'}$, são os efeitos de capacidade geral de
 198 combinação dos genitores n e n' , respectivamente e, $s_{nn'}$, é o efeito da

199 capacidade específica de combinação entre os genitores n e n' . A
200 expressão 3 contém os efeitos da interação das gerações com as
201 capacidades de combinação da expressão 2. Na expressão 4, estão
202 contidos os efeitos das interações dos Ambientes dentro de gerações com
203 as capacidades de combinação.

204 As progênies parentais também foram genotipadas com quarenta e um
205 *primers* microssatélites (SSR) distribuídos ao longo de todos os
206 cromossomos. Para extração do DNA utilizou-se um *bulk* da segunda
207 folha de vinte plântulas de cada progênie na geração $S_{0:4}$. A extração do
208 DNA e preparo das reações seguiu os procedimentos descrito por Balestre
209 et al. (2008). Os marcadores foram avaliados como codominantes (Ferrão
210 et al. 2014), e considerando o complemento do Índice Ponderado (Cruz et
211 al. 2011), foram estimadas as distâncias genéticas (DG) entre as
212 progênies. Com a matriz de dissimilaridade, visando separar os grupos
213 heteróticos, foi realizado o agrupamento para a construção do
214 dendograma, por meio da metodologia UPGMA. Com a mesma
215 metodologia foi realizado outro agrupamento, porém, utilizando-se as
216 estimativas de CEC (Pinto et al. 2001). Devido a existência de estimativas

217 negativas de CEC, uma constante foi adicionada aos valores para torná-
218 los positivos.

219 Por fim, foi estimada a correlação de Pearson entre as heteroses do caráter
220 produção de grãos e dos componentes de produção (PRL, COE, NFE,
221 NGF, P100 e PRG), e entre dissimilaridade genética obtida por meio dos
222 marcadores moleculares e a heterose de produção de grãos e as heteroses
223 dos componentes de produção.

224 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

225 Na análise de variância conjunta, considerando os caracteres avaliados:
226 produtividade de grãos (PRD); prolificidade (PRL); comprimento de
227 espiga (COE); número de fileiras por espiga (NFE); número de grãos por
228 fileira (NGF); peso de 100 grãos (P100) e; profundidade dos grãos (PRG)
229 foram observadas diferenças significativas ($P < 0,01$) entre os híbridos
230 (Tabela 1). Para a fonte de variação Geração, apenas os caracteres COE,
231 NFE e PGR não apresentaram diferenças significativas, ou seja, para
232 esses caracteres a média dos híbridos entre as gerações não se
233 diferenciam. No entanto, o mesmo resultado não foi observado para a
234 fonte de variação Ambientes dentro de Geração. Para esta fonte de
235 variação todos os caracteres foram significativos ($P < 0,01$), o que denota

236 maior importância do efeito de ambiente em detrimento ao efeito de
 237 geração, para os caracteres relacionados com o tamanho da espiga e do
 238 grão (COE, NGF e PRG).

239 Tabela 1. Resumo da análise de variância conjunta dos híbridos para os
 240 caracteres produção; em kg ha⁻¹; (PRD), prolificidade (PRL);
 241 comprimento de espiga, em centímetros, (COE); número de
 242 fileira por espiga (NFE); número de grãos por fileira (NGF);
 243 peso de 100 grãos em gramas (P100) e; profundidade de grãos,
 244 em milímetros, (PRG)

| FV | GL | QM | | | | | | |
|-------------|-----|-------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | PRD | PRL | COE | NFE | NGF | P100 | PRG |
| Híbrido (H) | 77 | 34127046** | 0,254** | 32,95** | 5,33** | 203,1** | 85,94** | 9,755** |
| Geração (G) | 1 | 68821350** | 3,594** | 0,507 | 0,002 | 0,02** | 125,8** | 0,917 |
| H x G | 77 | 5829592** | 0,068** | 2,177** | 0,703** | 9,47 | 1,02 | 0,557** |
| Ambientes/G | 2 | 235091754** | 1,689** | 294,4** | 6,446** | 400,6** | 318,6** | 44,23** |
| Bloco/A/G | 8 | 7759414 | 0,408** | 2,024 | 1,053 | 10,75 | 1,33 | 0,595 |
| H x A/G | 153 | 6026737** | 0,042 | 1,679 | 0,449 | 11,12 | 1,22 | 0,418 |
| Erro Médio | 580 | 3132463 | 0,037 | 1,357 | 0,449 | 8,522 | 7,412 | 0,372 |
| Média | | 9742 | 1,26 | 16,6 | 13,9 | 34,09 | 30,69 | 9,207 |
| CV(%) | | 18,17 | 15,32 | 7,05 | 4,82 | 8,56 | 8,87 | 6,62 |

245 ** Significativo a 1% pelo teste F.

246 Em relação às interações Híbridos x Gerações e Híbridos x Ambientes
247 dentro de Geração, apenas a PRD apresentou diferenças significativas
248 ($P < 0,01$), para ambas as fontes de variação, evidenciando a maior
249 complexidade deste carácter, em relação aos componentes de produção
250 (PRL, COE, NFE, NGF, P100 e PRG). Os caracteres PRL, COE, NFE e
251 PRG também apresentaram diferenças significativas para a interação
252 Híbridos x Gerações e todos os caracteres classificados como
253 componentes de produção (PRL, COE, NFE, NGF, P100 e PRG), não
254 apresentaram diferenças significativas para a fonte de variação Híbridos x
255 Ambientes dentro de Geração (Tabela 1).

256 Na análise de variância conjunta das progênies parentais, o carácter PRD
257 apresentou efeito significativo para todas as fontes de variação, exceto
258 para interação Progênies x Geração (dados não apresentados). Já para os
259 componentes de produção, assim como na análise de variância conjunta
260 dos híbridos, o efeito da fonte de variação Progênies foi significativo para
261 todos os caracteres, e o efeito de Ambientes dentro de Geração foi mais
262 importante que o efeito de Gerações. Apenas o componente P100
263 apresentou diferença significativa para o efeito de Geração. Apenas

264 ocorreu interação: Progênes x Gerações para o NFG e Progênes x
265 Ambientes dentro de Geração para P100 (dados não apresentados).

266 As estimativas da heterose para PRD e para os componentes de produção
267 são apresentadas na Tabela 2. Pode-se observar um pronunciado efeito da
268 heterose para a produtividade, em média 93%. As estimativas de heterose
269 para produtividade relatadas na literatura são bastante diversas, por
270 exemplo, Solomon et al. (2012) observaram heterose média para espigas
271 despalhadas de 61,4%; Assunção et al. (2010) detectaram heterose média
272 para produção de grãos de 136%. No presente trabalho, a menor
273 estimativa para produção de grãos apresentada por um híbrido foi de
274 36,45% e a maior foi de 190,43%. Ainda observando a Tabela 2,
275 destacam-se as estimativas médias de heterose de alguns componentes de
276 produção. No caso de PRL e NFE, as estimativas observadas foram
277 baixas: 2,23% e 8,22%, respectivamente. Dentre os componentes de
278 produção, a estimativa de maior magnitude foi no carácter NGF: 48,23%.

279 Flint-Garcia et al. (2009) observaram estimativas de heterobeltiose para
280 os caracteres COE, PRG e peso de 10 grãos de 30%, 30% e 24%,
281 respectivamente. Ribeiro et al. (2014) relatam heterose para massa de 100

282 grãos de 23,2%. As estimativas observadas por esses autores são de
 283 magnitudes semelhantes às encontradas nesse trabalho.

284 Tabela 2. Percentual de heterose média, mínima e máxima para os
 285 caracteres produção (PRD); prolificidade (PRL);
 286 comprimento de espiga (COE); número de fileira por espiga
 287 (NFE); número de grãos por fileira (NGF); peso de 100
 288 grãos (P100) e; profundidade de grãos (PRG)

| Heterose (%) | PRD | PRL | COE | NFE | NGF | P100 | PRG |
|--------------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Máxima | 190,43 | 33,15 | 42,68 | 20,40 | 85,19 | 45,26 | 50,02 |
| Mínima | 36,45 | -21,68 | 2,50 | 0,0 | 20,17 | 0,73 | 14,69 |
| Média | 93,43 | 2,23 | 20,83 | 8,22 | 48,23 | 18,43 | 29,93 |

289 Foi estimada a correlação de Pearson entre a heterose do carácter PRD
 290 com as demais estimativas de heterose dos componentes de produção; e
 291 entre a dissimilaridade genética, estimada por meio de marcadores
 292 moleculares, com as heteroses de todos os caracteres avaliados (Tabela
 293 3). A princípio, se a heterose é uma propriedade de uma determinada
 294 combinação híbrida, então deveria ser observada para a maioria dos
 295 caracteres do genótipo, ou pelo menos, entre os caracteres que são
 296 relacionados um ao outro, como é o caso da produção de grãos com os
 297 componentes de produção. Isso pode ser mensurado pela correlação entre

298 as heteroses dos diversos caracteres. Nesse trabalho, essa correlação foi
 299 observada. Todas as estimativas de correlação foram significativas
 300 ($P < 0,01$). A maior correlação observada foi entre as heteroses dos
 301 caracteres PRD e NGF (0,83) e a menor estimativa foi entre as heteroses
 302 de PRD e NFE (0,41). Este resultado indica que o NGF contribui de
 303 forma mais expressiva para a produtividade que o NFE. As estimativas
 304 observadas nesse trabalho foram de magnitude superior às apresentadas
 305 por Flint-Garcia et al. (2009), no entanto, deve-se ressaltar que estes
 306 autores estimaram a heterobeltiose.

307 Tabela 3. Correlação entre a heterose para o carácter produção (PRD) e
 308 as heteroses dos componentes de produção (PRL, COE, NFE,
 309 NGF, P100, PRG) e entre a dissimilaridade genética (DG) e as
 310 heteroses de produção (PRD) e dos componentes de produção
 311 (PRL, COE, NFE, NGF, P100, PRG).

| | DG | PRL | COE | NFE | NGF | P100 | PRG |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| PRD | 0,51** | 0,72** | 0,79** | 0,41** | 0,83** | 0,69** | 0,80** |
| DG | - | 0,47** | 0,58** | 0,07 | 0,42** | 0,60** | 0,38** |

312 **significativo a 1% pelo teste de t.

313 Sobre a correlação entre a distância genética e a heterose dos caracteres
 314 mensurados, de maneira geral, as estimativas foram significativas e de

315 magnitude mediana, sendo que para o carácter PRD esta estimativa foi de
316 0,51. A exceção foi o carácter NFE, pois, a correlação não foi
317 significativa (Tabela 3). Muitos autores também observaram correlação
318 positiva entre a produção de grãos e a distância genética, porém, muitos
319 resultados conflitantes foram constatados (Balestre et al. 2008, Devi &
320 Singh 2011). Para a determinação de grupos heteróticos por meio da
321 distância genética, quanto maior for a magnitude da correlação, melhor
322 será a formação dos grupos. Dentre os caracteres correlacionados com a
323 distância genética, o P100, apresentou a maior correlação (0,60). Na
324 literatura não há muitos relatos da correlação dos componentes de
325 produção com a dissimilaridade genética. Flint-Garcia et al. (2009)
326 observaram que correlações da heterose de caracteres como comprimento
327 da espiga e peso de grãos com a distância genética, podem variar de
328 acordo com a população em estudo. Esperava-se que as estimativas das
329 correlações entre a dissimilaridade genética e as heteroses dos
330 componentes de produção fossem superiores às estimativas da correlação
331 com a produção, devido a maior complexidade desse último carácter, no
332 entanto, isso não foi observado neste trabalho (Tabela 3). As estimativas,
333 de forma geral, foram semelhantes. Bernardo (1992) comenta que o fato

334 do marcador não estar ligado a QTL's pode ser uma explicação para a
335 baixa correlação entre a distância genética e a heterose.

336 Na Tabela 4, pode-se visualizar o resultado da análise considerando o
337 delineamento genético para o carácter PRD. O efeito do Cruzamento
338 (híbridos) e das interações Cruzamentos x Gerações e Cruzamentos x
339 Ambientes dentro de Geração foram desdobrados em capacidade geral de
340 combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) e suas
341 interações. A contribuição para a soma de quadrados da CEC, em todos
342 os desdobramentos, foi superior a 85%. Esse resultado evidencia a
343 importância dos efeitos não aditivos para o carácter produção de grãos.
344 Resultados que mostram a maior contribuição dos efeitos não aditivos
345 para a produção de grãos em milho, são comuns na literatura (Machado et
346 al. 2009, Werle et al. 2014). Também pode-se observar que os efeitos da
347 CGC e suas interações com Geração e Ambientes dentro de Geração não
348 foram significativos, assim, infere-se que as progênies parentais não se
349 diferenciam em relação a frequência de alelos favoráveis. O contrário foi
350 observado para a CEC e suas interações, pois, todos esses efeitos
351 apresentaram diferenças significativas, indicando existência de
352 variabilidade.

353

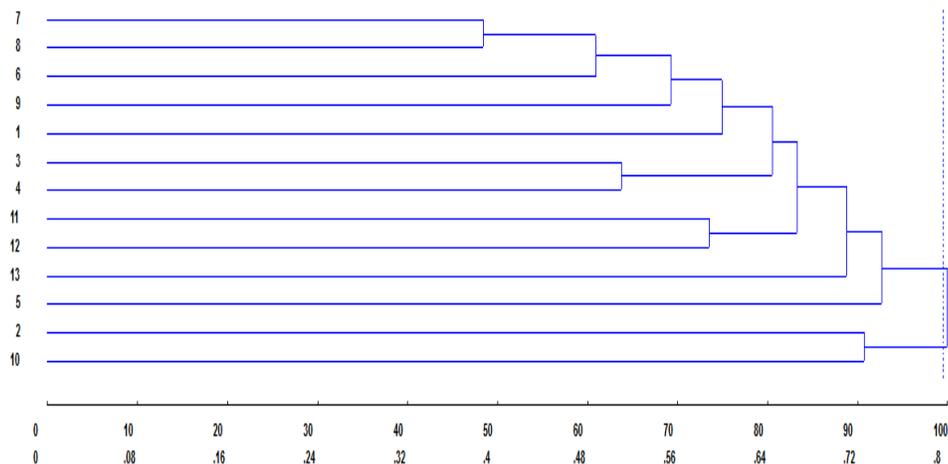
354 Tabela 4. Análise de variância conjunta para a capacidade geral de
 355 combinação (CGC) e capacidade específica de combinação
 356 (CEC) para o carácter produção de grãos

| FV | GL | QM | F |
|--------------------------------|-----|-----------|---------|
| Geração | 1 | 65417020 | 20,88** |
| Ambiente/Geração | 2 | 219732597 | 70,14** |
| Bloco/Ambiente/Geração | 8 | 7509387 | 2,39* |
| Cruzamentos | 77 | 34382213 | 10,97** |
| CGC | 12 | 2724746 | 0,87 |
| CEC | 65 | 40226669 | 12,84** |
| Cruzamentos x Geração | 77 | 6155254 | 1,96** |
| CGC x Geração | 12 | 4739217 | 1,15 |
| CEC x Geração | 65 | 6416676 | 2,04** |
| Cruzamentos x Ambiente/Geração | 153 | 6029737 | 1,92** |
| CGC x Ambiente/Geração | 24 | 2999024 | 0,95 |
| CEC x Ambiente/Geração | 129 | 6590032 | 2,10** |
| Resíduo | 580 | 3132463 | |

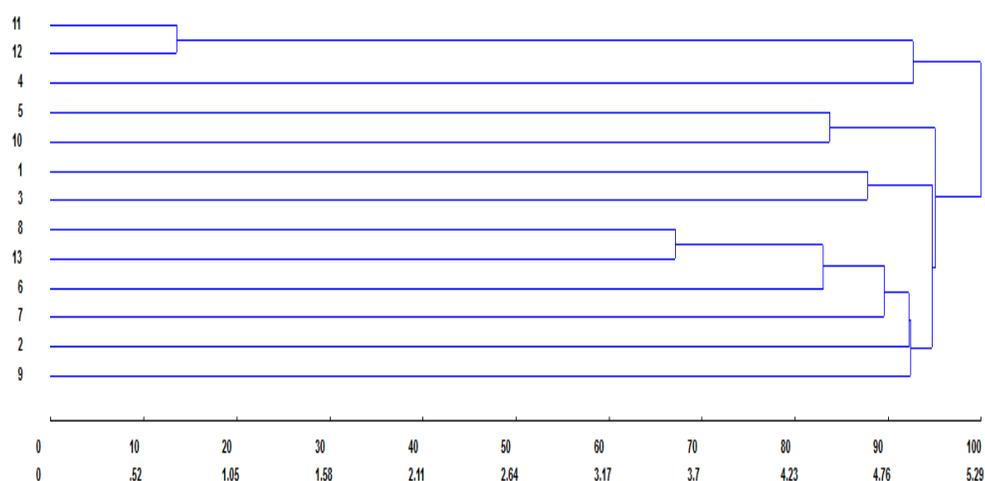
357 *, **: significativo a 5% e 1%, respectivamente, pelo teste F.

358 Nas Figuras 1 e 2 observam-se os dendogramas obtidos com a matriz de
 359 dissimilaridade genética e com a matriz das estimativas de CEC,
 360 respectivamente. A correlação cofenética, para o primeiro dendograma foi

361 de 0,88 e para o segundo de 0,70. Quanto mais próximo do valor 1, menor
 362 é a distorção provocada pelo agrupamento dos indivíduos pelo método
 363 UPGMA. O percentual de estresse, parâmetro que determina a precisão
 364 de ajuste da matriz em estudo no dendograma, foi de 6,71% para matriz
 365 de dissimilaridade genética e de 11,31% para a matriz de CEC. Kruskal
 366 (1964) classifica níveis de estresses entre 5% e 10% como bom e até 20%
 367 como regular.



368
 369 Figura 1. Dendrograma obtido a partir da dissimilaridade genética de
 370 progênies de milho, e agrupado pelo método UPGMA



371

372 Figura 2. Dendrograma obtido a partir das estimativas de CEC de
 373 progênies de milho e agrupado pelo método UPGMA.

374 No dendrograma obtido com as dissimilaridades genéticas foi detectada
 375 diferença significativa no agrupamento das progênies. As progênies 2 e
 376 10 formaram um grupo, e as demais um outro grupo (FIGURA 1). Já para
 377 o dendrograma obtido com as estimativas de CEC, não foi possível
 378 detectar a formação de grupos. Embora se observe um maior
 379 distanciamento das progênies 4, 11 e 12, em relação as demais.

380 Comparando os dois dendogramas, observa-se uma grande divergência
 381 entre os resultados. Barata & Carena (2006), também relatam
 382 divergências no agrupamento de linhagens utilizando divergência
 383 genética em comparação com os pedigrees. Os autores enumeram
 384 diferentes razões para estas divergências: número insuficiente de marcas

385 utilizadas; presença residual de heterozigosidade nas linhagens; deriva
386 aleatória; erros de polinização; mutação ocasional e; erro humano. Estas
387 mesmas razões também podem ser a causa da divergência dos
388 dendogramas deste trabalho. Fan et al. (2014), observou que no mesmo
389 dialelo, o fato de se considerar os cruzamentos recíprocos pode alterar o
390 agrupamento das linhagens. No presente trabalho, os cruzamentos
391 recíprocos não foram considerados.

392 Comparando o agrupamento inicial, obtido por meio dos testadores –
393 Grupo I e II, com os dendogramas, pode-se afirmar que não há relação
394 entre os agrupamentos obtidos pelas diferentes metodologias. A
395 inconsistência dos resultados apresentados pelos diferentes métodos pode
396 estar relacionada com a amplitude do *background* do germoplasma
397 utilizado neste estudo. As treze progênies avaliadas provêm de uma
398 população formada pela autofecundação de diversos híbridos comerciais.
399 Portanto, diversos grupos heteróticos explorados comercialmente no
400 Brasil central, compõem o *background* dessas progênies. O mesmo pode
401 ser dito sobre os testadores utilizados – híbridos comerciais
402 recomendados para a região central do Brasil, os quais, muito
403 provavelmente, foram sintetizados pelo cruzamento de linhagens de

404 grupos heteróticos distintos. Essa grande variabilidade genética pode ser a
405 causa da inconsistência nos agrupamentos, que impossibilita a separação
406 dos grupos heteróticos.

407 **CONCLUSÕES**

408 Os híbridos simples utilizados no trabalho não foram eficientes na
409 classificação das progênes de milho em grupos heteróticos.

410 Foi observada correlação positiva e significativa entre a distância
411 genética, estimada por meio de marcadores, com a heterose para produção
412 e para os componentes de produção, sendo o número de fileiras por
413 espiga, o único componente no qual não foi observada correlação
414 significativa.

415 As correlações entre a heterose para produção e as heteroses para os
416 componentes de produção, foram positivas e significativas.

417

418 **REFERÊNCIAS**

419

420 ASSUNÇÃO, A. et al. Heterosis performance in industrial and yield
421 components of sweet corn. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*,
422 Viçosa, MG, v. 10, p. 183-190, 2010.

423

424 BALESTRE, M. et al. Comparison of similarity and dissimilarity genetic
425 coefficients based on microsatellites markers. *Genetics and Molecular
426 Research*, Ribeirão Preto, v. 7, n. 4, p. 695-705, July/Aug. 2008.

427

- 428 BARATA, C.; CARENA, J. M. Classification of North Dakota maize
429 inbred lines into heterotic groups based on molecular and testcross data.
430 *Euphytica*, Wageningen, v. 151, p. 339-349, 2006.
431
- 432 BERNARDO, R. *Breeding for quantitative traits in plants*. Minnesota:
433 Hardbound, 2010.
434
- 435 BERNARDO, R. Relationship between single cross performance and
436 molecular marker heterozygosity. *Theoretical and Applied Genetics*,
437 Berlin, v. 83, p. 628-634, 1992.
438
- 439 CRUZ, C. D. et al. *Biometria aplicada ao estudo de diversidade genética*.
440 Viçosa, MG: UFV, 2011.
441
- 442 DEVI, P.; SINGH, N. K. Heterosis, molecular diversity, combining
443 ability and their interrelationships in short duration maize (*Zea mays* L.)
444 across the environments. *Euphytica*, Wageningen, v. 178, p. 71-81, 2011.
445
- 446 FAN, X. M. et al. Reciprocal diallel crosses impact combining ability,
447 variance estimation, and heterotic group classification. *Crop Science*,
448 Madison, v. 54, p. 89-97, 2014.
449
- 450 FERRÃO, L. F. V. et al. The effects of encoding data in diversity studies
451 and the applicability of the weighting index approach for data analysis
452 from different molecular markers. *Plant Systematics and Evolution*, New
453 York, v. 300, n. 7, p. 1649-1661, 2014.
454
- 455 FLINT-GARCIA, S. A. et al. Heterosis is prevalent for multiple traits in
456 diverse maize germplasm. *Plos One*, San Francisco, v. 4, n. 10, p. e7433,
457 2009.
458
- 459 GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in
460 relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological
461 Science*, East Melbourne, v. 9, p. 463-493, 1956.
462
- 463 HALLAUER, A. R. et al. *Quantitative genetics in maize breeding*. New
464 York: Springer, 2010.
465

- 466 HOCHHOLDINGER, F.; HOECKER, N. Towards the molecular basis of
467 heterosis. *Trends in Plant Science*, Wageningen, v. 12, n. 9, p. 427-432,
468 2007.
- 469
- 470 KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit
471 to a non-metric hypothesis. *Psychometrika*, Williamsburg, v. 29, n. 1, p.
472 1-27, Mar. 1964.
- 473
- 474 LAUER, S. et al. Morphological changes in parental lines of pioneer
475 brand maize hybrids in the U.S. Central Corn Belt. *Crop Science*,
476 Madison, v. 52, n. 3, p. 295-322, 2012.
- 477
- 478 LEE, M. DNA markers and plant breeding programs. *Advances in*
479 *Agronomy*, San Diego, v. 55, p. 265-344, 1995.
- 480
- 481 MACHADO, J. C. et al. Stability of combining ability effects in maize
482 hybrids. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 66, n. 4, p. 494-498, 2009.
- 483
- 484 MELO, W. M. C. et al. Genetic control of the performance of maize
485 hybrids using complex pedigrees and microsatellite markers. *Euphytica*,
486 Wageningen, v. 195, p. 331-344, 2014.
- 487
- 488 PINTO, R. M. C. et al. Alocação de linhagens de milho derivadas das
489 populações BR-105 e BR-106 em grupos heteróticos. *Scientia Agricola*,
490 Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 541-548, 2001.
- 491
- 492 RIBEIRO, C. B. et al. Contribuição dos caracteres vegetativos e
493 reprodutivos da planta de milho para a heterose na produção de grãos.
494 *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, v. 13, n. 1, p. 59-68,
495 2014.
- 496
- 497 SCHNELL, F. W.; COCKERHAM, C. C. Multiplicative vs. arbitrary
498 gene action in heterosis. *Genetics*, Austin, v. 131, p. 461-469, 1992.
- 499
- 500 SOLOMON, K. B. et al. Combining ability, genetic diversity and
501 heterosis in relation to F1 performance of tropically adapted shrunken
502 (sh2) sweet corn lines. *Plant Breeding*, Berlin, v. 131, p. 430- 436, 2012.
- 503

- 504 SSERUMAGA, J. P. et al. Molecular characterization of tropical maize
505 inbred lines using microsatellite DNA markers. *Maydica*, Bergamo, v. 59,
506 p. 267-274, 2014.
507
- 508 WERLE, A. J. K. et al. Diallel analysis of maize inbred lines for grain
509 yield, oil and protein content. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*,
510 Londrina, v. 14, p. 23-28, 2014.
511