

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA E CAPACIDADE  
DE COMBINAÇÃO ENTRE HÍBRIDOS DE  
MILHO**

**WAGNER MATEUS COSTA MELO**

**2000**

**WAGNER MATEUS COSTA MELO**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA E CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO  
ENTRE HÍBRIDOS DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de plantas, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Renzo Garcia Von Pinho



LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

2000

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

Melo, Wagner Mateus Costa

Divergência Genética e Capacidade de Combinação entre Híbridos de Milho / Wagner  
Mateus Costa Melo. – Lavras : UFLA, 2000.

73 p.: il.

Orientador: Renzo Garcia Von Pinho.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Biblioteca.

1. Milho. 2. Melhoramento genético. 3. Capacidade combinatória. 4. Divergência genética.  
5. Heterose. 6. Cruzamentos dialélicos. 7. Marcador molecular.

I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.153

**WAGNER MATEUS COSTA MELO**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA E CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO  
ENTRE HÍBRIDOS DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de plantas, para obtenção do título de “Mestre”.

**APROVADA EM 03 DE MARÇO DE 2000**

**Prof. Daniel Furtado Ferreira**

**UFLA**

**Prof. João Bosco dos Santos**

**UFLA**



**Prof. Renzo Garcia Von Pinho**

**UFLA**

**(Orientador)**

**LAVRAS**

**MINAS GERAIS – BRASIL**

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE

ANNUAL REPORT OF THE ASSISTANT SECRETARY OF AGRICULTURE  
FOR THE YEAR 1911

REPORT OF THE ASSISTANT SECRETARY OF AGRICULTURE  
FOR THE YEAR 1911  
CONTAINING THE REPORT OF THE COMMISSIONER OF THE GENERAL LAND OFFICE  
AND THE REPORT OF THE COMMISSIONER OF THE BUREAU OF LAND MANAGEMENT

CONTENTS

1911

Report of the Commissioner of the General Land Office  
Report of the Commissioner of the Bureau of Land Management

REPORT OF THE COMMISSIONER OF THE GENERAL LAND OFFICE

A 1911

1911

1911

1911

## SUCESSO

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfo e glória, mesmo expondo-se à derrota, do que formar fila com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta, que não conhecem vitória nem derrota.”

*“Franklin Roosevelt”*

À memória de meu avó,  
**Antônio Francisco da Costa**

## MINHA HOMENAGEM

A meu pai,

**José Mateus de Melo**

## EM ESPECIAL

A minha mãe,  
**Ieda Maria Costa Melo**

## DEDICO

Aos meus irmãos,  
**Emílio, Fernanda e Patrícia, pela ajuda, estímulo, carinho e compreensão.**

## OFEREÇO

Aos amigos de república: Henrique, Emerson, Luiz Eduardo, João Bosco, Luiz Fernando, Renato, Rodrigo, Wilson, Almir, Danilo, Heberon e Evandro, pelos bons momentos vivenciados, pelo companherismo, pela compreensão e principalmente pela amizade criada entre a gente.

A todos os colegas do curso de Genética e Melhoramento de Plantas e dos outros cursos de pós-graduação, pelo convívio e amizade.

Aos professores do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, pelos conhecimentos transmitidos.

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

Ao Núcleo de Estudos em Genética (GEN), pelas oportunidades oferecidas.

À associação de Pós-graduação da UFLA.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela saúde, disposição e paciência para a execução deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a CAPES pela concessão das bolsas de estudos.

Ao orientador Renzo Garcia Von Pinho, pela orientação, amizade, dedicação, disponibilidade, paciência, pelos ensinamentos transmitidos no decorrer do curso e sobretudo pela confiança a mim dedicada.

Aos co-orientadores João Bosco dos Santos e Daniel Furtado Ferreira, os quais me auxiliaram muito no decorrer desses dois anos e por todos os ensinamentos prestados, os quais foram valiosos e serão muito úteis na minha vida profissional.

À amiga Giovana Pelegrini de Souza pela amizade e auxílio em várias etapas de desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos do DAG que muito me ajudaram na condução de experimentos de campo: Abeilard, Luiz Otávio, André Brugnera, André, Sérgio e Jacobs.

Aos amigos, funcionários de campo do DAG que muito me ajudaram e me ensinaram nas práticas de campo.

Ao amigo Jair de Moura Duarte e a amiga Renata Silva, por todos os ensinamentos e pelo auxílio com o programa NTSYS – PC.

Ao amigo Leonardo Cunha Melo, por todos os ensinamentos e pelo auxílio no Laboratório de Genética Molecular/DBI.

Aos amigos do Laboratório de Genética Molecular: Everton, Márcia, Viviane e ao laboratorista Lamartine da Nóbrega Filho pela colaboração.

À amiga Giovana Augusta Torres, pelos ensinamentos, sugestões e opiniões apresentadas.



Aos amigos de república: Henrique, Emerson, Luiz Eduardo, João Bosco, Luiz Fernando, Renato, Rodrigo, Wilson, Almir, Danilo, Heberon e Evandro, pelos bons momentos vivenciados, pelo companherismo, pela compreensão e principalmente pela amizade criada entre a gente.

A todos os colegas do curso de Genética e Melhoramento de Plantas e dos outros cursos de pós-graduação, pelo convívio e amizade.

Aos professores do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, pelos conhecimentos transmitidos.

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

Ao Núcleo de Estudos em Genética (GEN), pelas oportunidades oferecidas.

À associação de Pós-graduação da UFLA.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Histórico do melhoramento do milho.....	4
2.2 Escolha de germoplasma para o melhoramento do milho.....	6
2.3 Heterose em milho.....	8
2.4 Métodos para avaliar a capacidade combinatória e a heterose.....	9
2.5 Divergência genética em milho.....	11
2.5.1 Estimativa da divergência genética em milho, utilizando caracteres morfo-agronômicos.....	13
2.5.1.1 Análise de variância multivariada.....	13
2.5.1.2 Variáveis canônicas.....	14
2.5.1.3 Métodos de agrupamento.....	16
2.5.2 Estimativa da divergência genética, utilizando marcadores moleculares.....	18
2.6 Relação entre estimativas da capacidade combinatória com a divergência genética.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 Materiais utilizados, síntese dos cruzamentos e detalhes experimentais..	23
3.2 Análise dos dados.....	25
3.2.1 Análise de variância.....	25
3.2.2 Análise dialélica.....	28
3.2.3 Estimativa da heterose.....	28
3.3 Estimativa da divergência genética entre as cultivares genitoras.....	29
3.3.1 Estimativa da divergência genética utilizando caracteres morfo-agronômicos.....	29
3.3.1.1 Análise de variância.....	32
3.3.1.2 Estimativa das distâncias genéticas.....	33
3.3.2 Estimativa da divergência genética utilizando marcadores moleculares do tipo RAPD.....	34
3.3.2.1 Extração de DNA.....	34
3.3.2.2 Ampliação do DNA e eletroforese.....	35
3.4 Correlação entre as estimativas obtidas.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 Análise dialélica.....	39
4.2 Estimativa da divergência genética utilizando de caracteres morfo-agronômicos.....	45

<b>4.3 Estimativa da divergência genética utilizando marcadores moleculares do tipo RAPD.....</b>	<b>52</b>
<b>4.4 Correlação entre as estimativas.....</b>	<b>55</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>61</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>72</b>

## RESUMO

MELO, W. M. C. **Divergência Genética e capacidade de combinação entre Híbridos de Milho: UFLA, 2000. 73 p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)\***

Os objetivos deste trabalho foram estimar a capacidade geral de combinação (CGC), a capacidade específica de combinação (CEC) e a heterose entre cultivares de milho e estimar a divergência genética existente entre elas, por meio de caracteres morfo-agronômicos e marcadores moleculares. Procurou-se também, verificar o relacionamento existente entre a capacidade combinatória e heterose das cultivares, com as estimativas da divergência genética. Na avaliação do dialelo, foi utilizado dez cultivares de milho (C 909, C 901, C 333, C 805, Z 8392, Z 8452, P 3041, P 3069, AG 9012 e AG 5011), adotando o método IV proposto por Griffing (1956). Foram instalados três experimentos em três locais do Sul de Minas Gerais (Lavras, Ijaci e Lambari). Foi utilizado o delineamento látice 7x7, com três repetições. Para a avaliação da divergência morfo-agronômica, foram obtidas as distâncias de Mahalanobis ( $D^2$ ) e a estimativa das variáveis canônicas. Para a obtenção destes dados, foram conduzidos dois experimentos em dois locais do Sul de Minas Gerais (Lavras e Ijaci). Foram utilizados o delineamento blocos casualizados com três repetições. Na avaliação da divergência por meio de marcadores moleculares (RAPD), foi utilizado o coeficiente de similaridade de Sorence – Dice, sendo esse transformado em distância genética e estas agrupadas a partir de um dendograma (método UPGMA). Pelos resultados obtidos pode-se concluir que: as cultivares pertencentes a grupos diferentes, quanto a divergência genética avaliada por meio dos caracteres morfo-agronômicos, não resultam em híbridos  $F_1$ 's com maior CEC; a distância de Mahalanobis ( $D^2$ ) não é útil para a seleção de genitores com maior probabilidade de formar bons híbridos  $F_1$ 's, indicando que, uma maior divergência genética entre os materiais não implicam, necessariamente, em altas estimativas para a capacidade de combinação; a correlação entre a estimativa da divergência genética avaliada por meio de caracteres morfo-agronômicos e a estimada por meio de marcadores moleculares, embora tenha sido significativa, é de pequena magnitude, indicando que são medidas distintas e complementares. Dessa forma, a utilização de uma estimativa não substitui a necessidade de se avaliar a outra.

---

\* Comitê orientador: Renzo Garcia Von Pinho - UFLA (orientador), Daniel Furtado Ferreira - UFLA, João Bosco dos Santos - UFLA.

## ABSTRACT

MELO, W. M. C. **Genetic divergence and combining capacity among corn hybrids: UFLA, 2000. 73 p. (Dissertation – Master in Genetics and Plant breeding).**\*

The objectives of this work were to estimate the general combining capacity (GCC), the specific capacity (SCC) and heterosis among corn cultivars and evaluate the genetic divergence existing among them by means of morpho-agronomical. Characters and molecular markers. It was sought, also, to verify the relationship existing between the combining capacity and heterosis of the cultivars with the estimates of genetics divergence. In the evaluation of the diallel, ten corn cultivars were utilized ( C 909, C 901, C 333, C 805, Z 8392, Z 8452, P 3041, P 3069, AG 9012 and AG 5011) by adopting method IV proposed by Griffing (1956). Three experiments at three sites were set up in the south of Minas Gerais ( Lavras, Ijaci and Lambari). The 7x7 lattice design with three replications was utilized. For the evaluation of the morpho-agronomical evaluation, Mahalanobis distances ( $D^2$ ) and the estimates of the canonical variables were obtained. For the achievement of those data, two experiments at two sites of the south of Minas Gerais (Lavras and Ijaci) were conducted. The randomized block design with three replications was utilized. In the evaluation of divergence by means of molecular markers (RAPD), Sorence – Dice's, similarity coefficient was utilized, this one being transformed into genetic distance and these ones grouped from a dendogram (UPGMA method). From the results obtained, it may be concluded, that the cultivars belonging to different groups as to genetics divergence evaluated by means of the morpho-agronomical; characters do not result into  $F_1$ 's hybrids with greater SCC, Mahalanobis distance ( $D^2$ ) is not useful for the selection of parents with a greater probability of building good  $F_1$ 's hybrids; point out that a greater genetic divergence among the materi als does not imply, necessarily into high estimates for the combining capacity, the correlation among the estimates for combining capacity the correlation between the estimate of the genetic divergence evaluated by means of molecular markers, although it has been significant is of small magnitude, indicating that they are distinct and complementar measures. This use of an estimate do not replace the need of evaluating the other.

---

\* Guindance Committee: Renzo Garcia Von Pinho - UFLA (adviser), Daniel Furtado Ferreira - UFLA, João Bosco dos Santos – UFLA.

# 1 INTRODUÇÃO

Ao se iniciar um programa de melhoramento de milho, deve-se tomar várias decisões e, entre elas, a escolha e formação da população base, sobre a qual a seleção que atuará será de vital importância para a obtenção de linhagens com fenótipos mais desejáveis e quando cruzadas, resultem em híbridos superiores. Uma questão que surge a este respeito, é sobre qual tipo de germoplasma utilizar.

O uso de cultivares de polinização aberta, como fonte de germoplasma para a formação da população base, tem diminuído muito nos últimos anos, principalmente devido ao baixo potencial de produção e a presença de alguns fenótipos indesejáveis na maioria destes materiais (Hallauer, 1990).

Deste modo, a maior parte dos melhoristas de milho no mundo tem preferido utilizar populações de base genética estreita, incluindo sintéticos de linhagens elites, híbridos comerciais, simples ou triplos, e populações obtidas por meio de retrocruzamentos (Hallauer et al., 1988; Hallauer, 1990 e Troyer, 1994). No Brasil tem sido muito utilizado, híbridos comerciais e/ou experimentais, que são germoplasmas amplamente avaliados com relação ao seu desempenho “per-se” e também devido suas linhagens terem sido selecionadas para fenótipos desejáveis.

Muitos melhoristas realizam a extração de linhagens a partir de populações formadas com esse tipo de germoplasma, sem conhecer a heterose existente entre elas. Assim, muitas vezes não são obtidas linhagens que apresentem boa heterose, dificultando a obtenção de combinações híbridas superiores. Com o conhecimento da relação heterótica existente entre estes germoplasmas, podem-se formar populações com esses materiais, para posteriormente realizar a extração de linhagens, ou então optar para a síntese de

compostos. Estes compostos são formados a partir da avaliação da heterose e da divergência genética dos germoplasmas.

Para a avaliação e seleção dos germoplasmas a serem utilizados, tem sido empregado o esquema dos cruzamentos dialélicos, o qual possibilita averiguar a resposta heterótica dos germoplasmas. Além do mais, deve-se avaliar a capacidade de combinação das linhagens extraídas dos germoplasmas ou das populações, através de "Top Cross", visando deste modo, a seleção das melhores.

Um outro método que tem sido utilizado pelos melhoristas, para a seleção dos materiais é a avaliação da divergência genética, que pode ser estimada considerando a divergência morfo-agronômica, avaliada por meio de diversos caracteres de interesse da planta ou por marcadores moleculares.

Com o desenvolvimento da biologia molecular tem sido muito utilizada a estimativa da divergência genética, a partir da obtenção de marcadores moleculares. Neste caso, a vantagem é a possibilidade de se obter um grande número de marcadores, o que permite amostrar a variabilidade genética de modo mais eficiente e, conseqüentemente, obter uma estimativa mais precisa da divergência genética. Entre os marcadores moleculares que existem atualmente, o RAPD é o método mais utilizado por ser o mais simples e de custo mais acessível.

Com os resultados obtidos por estes métodos, pode-se verificar a relação existente entre eles, o que possibilitará a adoção de um ou mais métodos, visando à seleção dos melhores materiais para a formação da população base.

Os objetivos deste trabalho foram estimar a capacidade geral de combinação (CGC), a capacidade específica de combinação (CEC), a heterose entre cultivares de milho, utilizando cruzamentos dialélicos e estimar a divergência genética existente entre eles, por meio de caracteres morfo-agronômicos e marcadores moleculares. Procurou-se também, verificar o

**relacionamento existente entre a capacidade combinatória, heterose das cultivares e as estimativas da divergência genética.**



## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Histórico do melhoramento do milho

Um dos primeiros trabalhos sobre melhoramento do milho foi realizado por Shull (1909), que constatou a perda de vigor em plantas de milho com sucessivas autofecundações sendo, porém, restaurada por meio da hibridização. A partir de então, foi sugerido realizar várias autofecundações até atingir a homozigose (linhagens) e o posterior cruzamento para a obtenção da geração  $F_1$  híbrida. Apesar dessas informações terem sido limitadas, elas forneceram a base para o aparecimento e crescimento da indústria do milho híbrido em todo o mundo.

Inicialmente, foi proposta a utilização do híbrido simples, mas essa idéia não foi disseminada na época, visto que as linhagens apresentavam baixo vigor e conseqüentemente baixa produtividade. Deste modo, foi proposto por Jones (1918), a produção do híbrido duplo, tomando exequível a produção comercial das sementes híbridas, visto que a semente  $F_1$  é oriunda do cruzamento de dois híbridos simples.

A partir dessa idéia, houve um grande interesse na produção de híbridos comerciais de milho, por parte das empresas e de vários pesquisadores. Segundo Viégas e Miranda Filho (1987), foi a partir de 1919 que se iniciou na iniciativa privada o desenvolvimento de pesquisas para a produção de milho híbrido, sendo estes, produzidos primeiramente para a região central do cinturão do milho nos Estados Unidos. Neste período a aceitação foi lenta e em 1933 apenas 1% do milho cultivado era híbrido.

Vários fatos ocorreram para o aumento da demanda de milho híbrido, como a seca de 1934 e 1936, nos Estados Unidos, na qual o milho híbrido mostrou-se certa superioridade nessas condições, sendo que a partir de então, as

variedades de polinização aberta, foram substituídas gradativamente por cultivares híbridas. Em 1939, 75% da área plantada com milho nos Estados Unidos era com sementes de milho híbrido (Ryan e Gross, 1950).

No Brasil, o primeiro trabalho realizado para a introdução do milho híbrido, foi conduzido por C. A. Krug, no instituto Agronômico de Campinas em 1932.

Várias instituições de vários estados brasileiros, se empenharam em desenvolver trabalhos de melhoramento do milho, visando a produção de híbridos comerciais. Em Minas Gerais destacaram-se: a Escola de Agricultura de Viçosa, que iniciou trabalhos com melhoramento de milho em 1934 (Drummond, 1965); a partir de 1947 o instituto Agronômico de Belo Horizonte, desenvolveu trabalho semelhante (Groszmann, 1957 e Coimbra, 1962); a Estação Experimental do Centro-Oeste, em Sete Lagoas, iniciou em 1960 trabalhos de obtenção de linhagens e produção de híbridos.

Valiosa participação também foi dada por empresas produtoras de sementes, que contribuíram para organizar e estruturar o mercado de sementes de milho híbrido e variedades melhoradas no país.

A primeira empresa de sementes de milho a surgir no Brasil foi a Agrocere, que foi criada em 1945 e, apesar de ter enfrentado uma agricultura pouco desenvolvida e que não valorizava o milho como uma cultura de importância comercial, conseguiu se desenvolver e tornar-se uma grande empresa produtora de sementes de milho. Várias outras empresas se instalaram no Brasil a partir de 1960, como a Cargill Agrícola S.A, a Pioneer, a Zeneca entre outras.

## 2.2 Escolha de germoplasmas para o melhoramento do milho

A escolha do tipo de germoplasma a ser utilizado em um programa de melhoramento deve ser a mais criteriosa possível, pois dependendo do material empregado gastar-se-á muito tempo para se obter boas linhagens que resultem em híbridos superiores. Atualmente, muitos melhoristas de milho preferem utilizar germoplasmas de base genética estreita, como linhagens elites e híbridos simples e triplos, os quais já foram muito avaliados, aumentando assim, a chance de obtenção de linhagens superiores.

O uso de germoplasmas de base genética estreita tem a finalidade de conservar o genoma. Segundo Troyer (1994), isto é importante devido a necessidade de se preservar determinadas características importantes acumuladas nesses germoplasmas, os quais irão compor o germoplasma básico para a extração de linhagens.

A vantagem da utilização de linhagens elites para a formação de germoplasmas é que estas já foram selecionadas pelo melhorista para as características consideradas importantes. Assim, Troyer (1994), afirma que a ênfase na utilização de linhagens elites como integrantes de novos germoplasmas, deve ser a maior possível.

Híbridos comerciais são germoplasmas que também já foram muito avaliados, tendo portanto, acumulado muitas características desejáveis, tornando mais fácil e mais rápido o trabalho dos melhoristas, principalmente em empresa privada, onde a pressão para o lançamento de novas cultivares é muito grande. Esses híbridos, também apresentam um melhor desempenho para aquelas características importantes para o melhoramento, quando comparado com as variedades de polinização aberta, visto que, as variedades, geralmente, são materiais pouco melhorados, necessitando de trabalhos adicionais de melhoramento, gastando-se mais tempo e recursos até a obtenção das linhagens.

A escolha do tipo de germoplasma a ser utilizado, deverá ser baseada em resultados de pesquisa. Para isto é importante conhecer o comportamento dos diversos germoplasmas disponíveis na área de abrangência do programa. A avaliação desses materiais em experimentos é necessária, para a identificação dos melhores germoplasmas, sendo que, esta avaliação é realizada, com base em diversas características agronômicas de interesse. Após esta seleção, estes germoplasmas poderão ser utilizados, visando a obtenção de linhagens, ou então, para a formação de compostos.

Esta pode ser uma boa opção, entretanto, em um programa comercial, onde há um grande dinamismo na formação de híbridos, o tempo necessário para a síntese e avaliação destes compostos poderá atrasar ou até mesmo inviabilizar o programa.

A seleção dos germoplasmas para a utilização em programas de melhoramento, também deve ser baseada na avaliação da heterose manifestada por eles, quando em cruzamento com outros materiais, e também pela avaliação da divergência genética observada entre os materiais.

O estudo da divergência genética entre materiais a serem utilizados como genitores, é uma ferramenta adicional para a síntese de novas populações. Melhores resultados são obtidos se os germoplasmas utilizados como genitores, possuem também alta média para as características de interesse (Maluf e Ferreira, 1983). A presença de variabilidade genética entre os germoplasmas é essencial na formação da população base (Eberhart et al, 1987, citado por Paterniani e Miranda Filho, 1987). Neste sentido, Arunachalam (1981), afirma que a boa escolha de germoplasmas é função direta da divergência genética. O uso da análise multivariada para estudos de divergência genética conduz à compreensão dos fatores responsáveis por essa divergência e ajuda nessa escolha (Jeswani; Murty e Mehra, 1970).

Visando ao estudo da divergência genética, o melhorista pode utilizar da avaliação de características morfo-agronômicas, bem como utilizar marcadores moleculares, como o RAPD.

### **2.3 Heterose em milho**

A heterose pode ser definida como sendo o vigor manifestado em cruzamentos entre indivíduos geneticamente divergentes, resultando no aumento em valor, dos caracteres quantitativos observados nos híbridos em relação aos pais (Shull, 1948; Suresh e Khasma, 1975).

A heterose é função dos efeitos de dominância dos genes para o caráter em questão e do quadrado da diferença das frequências alélicas dos genitores, além dos efeitos epistáticos que, geralmente, são negligenciados (Falconer, 1981).

Há várias hipóteses para explicar o fenômeno da heterose, algumas baseadas na dominância ou na sobredominância e outras, podem ser consideradas extensões destas (Suresh e Khasma, 1975). Evidências obtidas em trabalhos com a cultura do milho indicam que os efeitos gênicos não aditivos e dominantes explicam de maneira satisfatória o fenômeno, podendo-se negligenciar a ação epistática (Silva, 1969).

Beal (1880), citado por Falconer (1981), foi o primeiro pesquisador a relatar a manifestação da heterose em cruzamentos de variedades de milho. A partir desse trabalho, vários outros vem sendo realizados visando a quantificação da heterose.

Até 1932 a heterose observada nos cruzamentos intervarietais era de pequena magnitude, já a partir de 1955, observou-se um aumento da heterose, como pode-se constatar nos trabalhos resumidos por Hallawer e Miranda Filho (1981), nos quais constata-se um aumento de 10% da heterose. Esse aumento da

expressão da heterose devem-se ao desenvolvimento a partir de 1950, da genética quantitativa e da seleção recorrente como método de melhoramento populacional, tendo os cruzamentos intervarietais recebidos uma maior atenção dos melhoristas. Além disso, os métodos utilizados para a quantificação da heterose não se baseavam mais em um ou poucos testadores e sim, no uso de metodologias de análise dialélica, as quais foram propostas nas décadas de 50 e 60, e possibilitaram a avaliação da capacidade dos genitores de se combinarem em híbridos, produzindo populações segregantes promissoras (Ramalho, Santos e Zimmermann, 1993).

Em milho é muito utilizado pelos melhoristas, o termo grupo heterótico, o qual não tem uma definição clara e objetiva na literatura. Este termo foi estabelecido empiricamente através da relação da heterose observada nos cruzamentos envolvendo diferentes cultivares de polinização aberta (Hallauer et al, 1988). Para o melhorista, este termo é importante pelo fato de que os cruzamentos entre grupos heteróticos distintos resultam em uma alta heterose.

Vários trabalhos em milho buscam quantificar a heterose, visando a posterior seleção dos pais, entre eles destaca-se o de Fuzzato (1999). Este trabalho utilizou a metodologia do dialelo para estimar a heterose, sendo que por meio dessa metodologia é possível também conhecer a capacidade combinatória dos materiais utilizados como genitores, além da possibilidade de se conhecer o controle genético dos caracteres o que orientará na condução das populações segregantes e na seleção.

#### **2.4 Métodos para avaliar a capacidade combinatória e a heterose**

Como já comentado, a avaliação da heterose e da capacidade combinatória dos genitores pode ser feita com a utilização do esquema de cruzamentos dialélicos. Esse termo, tem sido utilizado para expressar um

conjunto de  $p(p-1)/2$  combinações híbridas resultantes do cruzamento de "p" germoplasmas (linhagens, híbridos, clones, etc.) podendo incluir, além dos pais os híbridos recíprocos (Cruz e Regazzi, 1994). A metodologia de cruzamentos dialélicos estima a capacidade geral de combinação (CGC) e a capacidade específica de combinação (CEC) dos híbridos ou linhagens em cruzamentos e ao conceito de CEC, está relacionado a resposta heterótica ou heterose (Griffing 1956).

Segundo Sprague e Tatum (1942), a CGC é o comportamento médio de uma linhagem em uma série de combinações híbridas. Já a CEC é quanto do comportamento de certas combinações híbridas mostram-se superiores ou inferiores ao que seria esperado, com base no comportamento médio das linhagens genitoras envolvidas, mais os valores de CGC dessas linhagens. De acordo com estes autores a CGC está relacionada à variância genética aditiva e a CEC reflete a variância genética não-aditiva, controlada pelos efeitos dominantes, epistáticos e vários tipos de interações.

A capacidade combinatória está sujeita às interações com o ambiente e os genótipos com alta e positiva CGC, apresentam uma maior estabilidade quanto à essa interação (Delboni, 1987). Altas estimativas da CGC e CEC, geralmente ocorrem em genótipos com maior frequência de alelos favoráveis e portanto, são bons indicadores da estrutura genética dos materiais avaliados (Vencovsky, 1987).

Para a análise dos cruzamentos dialélicos existem vários métodos, sendo os mais empregados, os métodos de Jinks e Hayman (1953), Griffing (1956) e Gardner e Eberhart (1966), ambos citados por Ramalho (1993). Estes métodos utilizam para a análise, as médias dos dados experimentais obtidos nas várias repetições, sendo que, o método mais utilizado pelos melhoristas de milho, é o proposto por Griffing (1956). Neste caso, são estimados valores para a CGC e para a CEC, existindo quatro métodos para a análise, que deverão ser escolhidos

dependendo da inclusão ou não dos genitores e híbridos recíprocos no esquema do dialelo, que são os seguintes: o método 1, que inclui as  $p^2$  combinações; o método 2 que inclui  $p(p+1)/2$  combinações, faltando os híbridos  $F_1$ 's recíprocos; o método 3 inclui  $p(p-1)$  combinações, faltando os genitores; o método 4 inclui  $p(p-1)/2$  combinações, faltando os genitores e os híbridos  $F_1$ 's recíprocos. Além disso, cada um desses métodos podem ser classificados como fixo ou aleatório, dependendo da natureza amostral dos genitores.

## 2.5 Divergência genética em milho

Um método alternativo para a seleção de germoplasmas, visando a síntese de populações e que é muito utilizado por melhoristas de milho, é a avaliação da divergência genética entre os genitores. Este método visa a selecionar aqueles materiais mais promissores e diminuir os gastos e o tempo necessário para a realização de várias combinações híbridas, que as vezes são desnecessárias. Permite, portanto, concentrar esforços apenas naquelas combinações mais promissoras, ou seja, naquelas entre materiais mais divergentes. Segundo alguns autores, quanto maior a divergência genética entre os materiais cruzados, maior será a heterose e conseqüentemente, maior a produtividade. Deste modo, os trabalhos sobre divergência genética visam, além de estudar o grau de divergência entre os materiais, verificar as relações entre divergência genética, capacidade de combinação e heterose (Behl, Singh e Paroda, 1985; Oliveira, 1989; Shamsuddin, 1985 e Souza, 1985).

Alguns autores afirmam que é de fundamental importância para a obtenção de novas variedades e/ou híbridos superiores, a existência de divergência genética entre os materiais a serem utilizados como genitores. São obtidos melhores resultados se a população base, sobre a qual a seleção atuará, possuir também uma média alta (Maluf e Ferreira, 1983).



A avaliação da divergência genética entre materiais pode ser feita por meio de diferenças fisiológicas, morfológicas, agrônômicas e moleculares existentes entre esses materiais e também por meio da heterose ou da capacidade específica de combinação, manifestada numa série de cruzamentos entre as variedades e/ou híbridos. Com estas medidas, estimam-se valores de similaridade e dissimilaridade com o uso de técnicas multivariadas, sendo estas consideradas como distâncias genéticas entre os materiais (Bryant e Meffert, 1990).

A divergência genética tem sido avaliada já há algum tempo por diversos melhoristas, visando classificar os genótipos em grupos, facilitando deste modo, a escolha de genitores para hibridações, tendo como base, medidas estatísticas como a estatística  $D^2$  de Mahalanobis e a distância Euclidiana (Jeswani, Murty e Mehra, 1970 e Singh, 1981).

Conforme Morais (1992), a divergência genética pode ser estimada também, por estudos genealógicos, diversidade geográfica de origem dos materiais, análise dialélica (na qual os genitores são incluídos) e análise multivariada.

A divergência geográfica de origem dos materiais, pode ser explorada no melhoramento como fonte de divergência genética, sendo que há alguns trabalhos na literatura que relatam a existência da associação entre a divergência geográfica e a divergência genética dos materiais (Ram e Panwar, 1970 e Rao et al., 1980). No entanto, outros trabalhos não encontraram tal associação, mostrando que, os materiais de origem diferentes não necessariamente são divergentes (Amalraj, 1982; Ahmad Katiyar e Shyam, 1980; Singh, Kumar e Chauhan, 1981, Jain, Pandya e Pande, 1981 e Asthana e Pandey, 1980). Rao et al. (1985), afirmam que outros fatores, além da diversidade de origem geográfica, como a hibridação e seleção, contribuem para a divergência entre os genótipos.

## **2.5.1 Estimativa da divergência genética utilizando caracteres morfo-agronômicos**

Tem-se utilizado como já relatado, a avaliação da divergência genética por meio de caracteres morfo-agronômicos. Após a obtenção dos dados desses caracteres faz-se o uso das técnicas multivariadas para se estimar a divergência genética. Estas técnicas têm sido utilizadas em diversos trabalhos (Ferreira, 1993 e Fuzzato 1999) e permitem reduzir os esforços na obtenção dos híbridos e concentrá-los somente nas melhores combinações entre os genitores a serem utilizados ou então, podem ser utilizadas para a identificação de híbridos superiores (Miranda, Cruz e Costa, 1988; Maluf e Ferreira, 1983; Mafuf, Ferreira e Miranda, 1983 e Rao, Ramachandran e Sharma, 1980).

Existem várias técnicas multivariadas, que podem ser utilizadas para estimar a divergência genética existente entre um grupo de materiais a serem utilizados como genitores, quer seja para a formação de germoplasmas para o melhoramento populacional ou para a síntese de híbridos comerciais. Entre estas, destacam-se a análise de variância multivariada, as variáveis canônicas e os métodos de agrupamento (Cruz, 1990 e Miranda, Cruz e Costa, 1988).

### **2.5.1.1 Análise de variância multivariada**

Esta análise é uma generalização da análise de variância univariada, e que pode ser aplicada a todo tipo de delineamento experimental (Negrillo e Perre, 1987). Segundo Godoi (1985), a análise multivariada estuda os procedimentos de combinação das múltiplas informações obtidas dos caracteres morfo-agronômicos, dentro da unidade experimental, levando em consideração a

estrutura de covariância entre os caracteres e fornecendo testes mais poderosos para as hipóteses formuladas.

Esta metodologia é possível de ser utilizada, devido ao fato dos diversos caracteres morfo-agronômicos disponíveis, poderem ser considerados simultaneamente, possibilitando deste modo, interpretações que não seriam possíveis com a análise de apenas um caráter individualmente (James e McCulloch, 1990).

Considerando a variabilidade global existente nos múltiplos caracteres, por meio dessa análise é possível averiguar se o material contém alguma divergência genética. Há vários relatos na literatura em diversas culturas, fazendo-se uso desta análise (Goodman, 1968 e Cruz, 1990 com milho; Rao et al., 1980 com arroz; Viana et al., 1991 com clones de cana; Ahmad, Katiyar e Shyam, 1980 com trigo e Kalloo e Sidhu, 1982 com melão).

Para averiguar se houve diferenças significativas entre os materiais avaliados, tem-se alguns critérios, como os de Wilks, Pillais, Hotelling – Lawley e Roys (Ferreira 1993). Dentre estes, o critério de Wilks é o que tem sido mais utilizado, como pode ser observado nos trabalhos de Cruz (1990) e Ferreira (1993).

### **2.5.1.2 Variáveis canônicas**

Nesta técnica é explicado a estrutura de variância – covariância, por meio de um número restrito de combinações lineares dos caracteres avaliados, considerando tanto a matriz de covariância residual quanto a de tratamentos. Neste caso é necessário avaliar “p” caracteres de “n” variedades e/ou híbridos para reproduzir a variabilidade total. Geralmente, grande parte dessa variação pode ser avaliada em um número menor de variáveis canônicas, sem muita perda de informação existente nos “p” caracteres avaliados. Usando-se as variáveis

canônicas costuma-se transformar as variáveis originais em variáveis padronizadas e não correlacionadas, de modo que a matriz de dispersão residual se iguale à unidade, aplicando-se o processo de condensação pivotal descrito por Rao (1952).

Hussaini, Goodman e Timothy (1977), citam que as variáveis canônicas são o resultado de transformações das variáveis originais, de tal forma a maximizar a razão entre grupos e variação dentro de grupos. Quando as primeiras variáveis canônicas explicarem mais de 70% da variação total populacional, os caracteres avaliados podem ser substituídos por estas (Bock, 1975).

Sendo as variáveis canônicas combinações lineares dos caracteres avaliados, cujos coeficientes são elementos dos autovetores ( $\tilde{a}_i$ ) associados com o correspondente autovalor ( $\lambda_i$ ), extraído da matriz  $TE^{-1}$ , onde T é a matriz de covariância entre tratamentos e  $E^{-1}$  é a inversa da matriz de covariância residual. Desta forma, por definição, a primeira variável canônica é aquela associada com o maior autovalor, que é interpretado como variância da mesma. O autovetor correspondente, representado por ( $\tilde{a}_i$ ), é determinado de tal forma que  $\tilde{a}_i'E\tilde{a}_i = 1$ . O i-ésimo e j-ésimo autovetores são ortogonais, o que implica a independência entre a i-ésima e j-ésima variável canônica, ou que a covariância entre elas é zero (Johnson e Wichern, 1988 e Morrison, 1967). Constituem portanto no resultado de uma série de transformações ortogonais que seqüencialmente maximizam a razão da variação entre tratamentos e minimiza a variação residual (Hussaini, Goodman e Timothy, 1977).

As variáveis canônicas possuem a vantagem em relação aos componentes principais, por considerar a estrutura de covariância residual e ser invariante com respeito a transformação não singular dos caracteres originais (Bock, 1975).

Segundo Ferreira (1993), as variáveis canônicas possuem alguns objetivos, tais como: resumir o número de caracteres em um grupo de variáveis independentes entre si de menor dimensão e que possuam uma fácil explicação biológica; construção de índices que possibilitem o agrupamento de indivíduos; avaliar a importância relativa de cada caráter e verificar a viabilidade de seu descarte através do seu coeficiente de correlação com cada variável canônica; e permitir o agrupamento de indivíduos com o mais alto grau de similaridade, mediante a exames visuais em dispersões gráficas no espaço bi ou tridimensional.

Na literatura existem vários trabalhos, nos quais faz-se uso das variáveis canônicas para o estudo da divergência genética, em várias culturas como no arroz (Singh e Ramanujam, 1981; Rao et al., 1980), e no milho (Ferreira, 1993; Cruz, 1990; Fuzatto, 1999).

### **2.5.1.3 Métodos de agrupamento**

Os métodos de agrupamento possuem como objetivos, dividir um grupo original de observações em vários grupos, baseado na similaridade ou dissimilaridade (distâncias multivariadas) dos materiais (Johnson e Wichern, 1988). Há uma grande subjetividade na escolha das medidas de dissimilaridade e similaridade, dentre estas, as mais comumente utilizadas nas análises de agrupamento, são as distâncias de Mahalanobis e a Euclidiana (Ferreira, 1993). Para a escolha de uma dessas medidas deve-se observar a natureza das variáveis avaliadas, precisão das estimativas e facilidade de computação dos dados. Em relação aos métodos de agrupamento, deve-se ter cautela ao se escolher o mais adequado, já que diferentes técnicas podem levar a diferentes padrões de agrupamento (Cruz, 1990).

Dentre os métodos de agrupamento, os mais utilizados são os hierárquicos, que se baseiam no princípio de que com “n” variedades, inicia-se a formação de “n” grupos, cada um contendo um único indivíduo e assim vai combinando-se os genitores conforme a distância entre eles, sendo este processo repetido em vários níveis até que seja estabelecido o dendograma ou o diagrama de árvores.

Os métodos hierárquicos são divididos em métodos aglomerativos, aqueles que procedem por uma série de sucessivas fusões e os divisíveis, aqueles que sofrem uma série de sucessivas divisões (Johson e Wichern, 1988).

Nos métodos aglomerativos, citam-se o do vizinho mais próximo; o do vizinho mais distante e o de ligação média, ponderado ou não. Dentre os métodos divisíveis, o mais conhecido é o de Edwards e Cavalli-Sforza (1965), o qual é uma generalização do teste de Skott e Knott, Cruz e Regazzi (1997).

A análise de variância pode ser utilizada como técnica de agrupamento, devido a simplicidade de cálculo e sua utilidade nos testes de significância (Scott e Knott, 1974). Um outro método de agrupamento que é muito empregado no melhoramento genético é o de otimização, proposto por Tocher, citado por Rao (1952), que maximiza a variação inter-grupo e minimiza a variação intra-grupo.

Há relatos na literatura de diversos trabalhos, nas mais diversas culturas, utilizando-se dos métodos de agrupamento, visando a descrever ou identificar a existência de variabilidade genética entre os materiais, como: Ferreira, (1993) e Fuzatto, (1999), com milho; Abreu, (1997) com feijão; Miranda, (1998), com soja. Com exceção deste último trabalho, ao qual adotou-se o método de otimização de Tocher, os demais trabalhos citados utilizaram o método de agrupamento hierárquico do vizinho mais próximo. Uma dificuldade do método hierárquico é o ponto de corte no dendograma, que é feito de maneira bastante arbitrária (Johson e Wichern, 1988 e Cruz e Regazzi, 1997).

## **2.5.2 Estimativa da divergência genética utilizando marcadores moleculares**

Outro método utilizado para estimar a divergência genética entre materiais é por meio de marcadores moleculares. Estes surgiram com o advento das técnicas de biologia molecular, sendo que o primeiro a surgir foi o RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms), o qual utiliza enzimas de restrição.

Nos anos 90, com o desenvolvimento do processo de amplificação em cadeia, utilizando uma DNA polimerase, surgiram outros tipos de marcadores moleculares, como o RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) e AFLP entre outros (Ferreira e Grattapaglia, 1995). Estes marcadores tem sido considerados úteis nos estudos de genética e melhoramento, por identificarem grande polimorfismo, não apresentarem efeito pleiotrópico, não serem influenciados pelo ambiente, além de poderem ser analisados em qualquer estágio de desenvolvimento da planta (Willians et al., 1990).

Dentre os marcadores moleculares disponíveis, destacam-se como os de maior utilização o RFLP, o RAPD, os microssatélites e o AFLP, sendo que o RAPD possui algumas vantagens sobre os demais, porque possui um menor preço e é tecnicamente mais acessível (Santos et al., 1994).

A técnica de RAPD foi descrita independentemente por Welsh e McClelland (1990) e Willians et al. (1990) e constitui basicamente em uma variação do protocolo do PCR, mas diferenciando-se deste, por utilizar um iniciador único, ao invés de um par de iniciadores, tendo este uma seqüência de bases arbitrária e por isto dispensa o conhecimento da seqüência de fragmentos de DNA, diminuindo o seu custo (Tingey, Rafalski e Willians, 1992).

Essa técnica está aumentando a aplicação da avaliação da divergência genética observada em várias espécies, através do uso de marcadores moleculares. Com essa técnica ocorre a síntese diferencial de segmentos

aleatórios de DNA genômico in vitro, por meio de uma DNA polimerase termorresistente. Os produtos são facilmente separados por eletroforese e visualizados por iluminação ultravioleta de géis corados com brometo de etídio (Silva, 1996).

As marcas de RAPD, são altamente polimórficas e podem ser detectadas diretamente em gel de eletroforese, sem a necessidade de sondas e radioisótopos usados em RFLP. A tecnologia de RAPD é mais acessível que o RFLP e promove um número equivalente de marcas para cobrir o genoma inteiro (Grattapaglia et al., 1992).

Conforme Duarte (1998), para se utilizar o RAPD para distinguir dois genótipos, tem que se obter coeficientes de similaridade/dissimilaridade entre esses dois indivíduos. Os coeficientes de similaridade mais simples, relacionam-se com variáveis dicotômicas, onde cada variável tem só dois valores. Marcadores como RAPD, que são binários, são então incluídos nesse tipo de variável. Para estes marcadores as quatro possíveis observações de comparação entre dois genótipos são baseadas na presença (1) ou ausência (0) de um marcador para cada genótipo.

Na literatura são propostos vários coeficientes de similaridade, combinando as quantidades das quatro possíveis observações, tais como: Simple Matching, Sorence-Dice, Rogers e Tanimoto e o índice de Jaccard (Sokal e Sneath, 1963 e Gower, 1985).

Para o estudo da divergência genética, a partir de marcadores moleculares, são empregadas algumas técnicas multivariadas, como os métodos de agrupamento.



## 2.6 Relação entre estimativas da capacidade combinatória com a divergência genética

Diversos trabalhos têm sido conduzidos, no sentido de se avaliar o grau de associação existente entre as diferentes estimativas (CEC, CGC, produtividade, heterose e medidas de divergência genética). Dentre essas associações, tem sido estudado por alguns pesquisadores a correlação entre os diferentes métodos de avaliação da divergência genética. Na cultura do milho, alguns autores encontraram forte associação entre divergência genética obtida por marcadores moleculares e a divergência obtida por meio de dados morfo-agronômicos. Entre eles destaca-se o trabalho de Smith et al (1990), que obtiveram alta correlação ( $r = 0,90$ ). Valor equivalente ( $r = 0,91$ ) foi obtido por Smith e Smith (1991), que trabalharam com 24 híbridos de milho.

Duarte (1998), também verificou alta correlação (0,89), da estimativa da divergência genética usando marcadores RAPD, com estimativa da divergência genética utilizando caracteres morfo-agronômicos (distância de Mahalanobis).

Outro estudo que tem sido realizado por alguns pesquisadores é a relação entre a divergência genética e a heterose. Neste caso, o estudo da divergência genética entre os genitores pode ser utilizado, para prever o comportamento heterótico dos descendentes, assim como para avaliar as potencialidades de populações segregantes (Machado, 1986).

Alguns autores verificaram a necessidade de divergência genética entre os genitores para a obtenção da máxima heterose. Deste modo, segundo Machado (1986), vários trabalhos a respeito da hibridação intrapopulacional, deram ênfase à existência de divergência genética entre as variedades para que a heterose fosse explorada ao máximo.

A análise da divergência genética tenta identificar os melhores genitores para obtenção de heterose e embora haja na literatura referências de

~~\_\_\_\_\_~~

relacionamento entre divergência genética e heterose, não há nada conclusivo sobre esse assunto, podendo ocorrer ou não esse relacionamento e, nem sempre a divergência genética entre os pais resulta em frequências mais elevadas de progênies heteróticas (Arunachalam, 1981).

Assim, existem na literatura autores que relatam, que há associação entre divergência genética e heterose, como Shamsuddin (1985), que trabalhou com trigo e Maluf et al (1983), trabalhando com tomate. Por outro lado, outros autores não têm verificado essa associação, como Ranudran e Appadurai (1984).

Moll, Salhuana e Robinson (1962), trabalhando com milho, relacionaram heterose com diversidade genética e relataram que a heterose foi máxima até um determinado nível de diversidade, a partir do qual aconteceu uma queda na sua expressão. A heterose pode ser considerada como um indicador de divergência genética. Porém, somente a divergência não é garantia de heterose e a sua ausência, não implica a similaridade genética, pois pode ocorrer casos de dominância gênica bidirecional (Cress, 1966).

Também tem sido estudado, correlações entre distâncias genéticas determinadas por marcadores moleculares e desempenho de híbridos, avaliados pela sua produtividade (Maroof et al., 1997). Os autores concluíram que as correlações, em geral, dos marcadores com o desempenho dos híbridos e com a heterose são, na maioria das vezes, baixas.

Por outro lado, Ajmone Marsan et al (1997), observaram associação entre a divergência genética, utilizando marcadores RFLP e AFLP, com a produção de grãos de milho. Eles constataram que as correlações foram positivas, embora tenham considerado pouco úteis como valor preditivo. Os autores destacaram, ainda, que os marcadores podem ser úteis na escolha dos genitores divergentes. Resultados similares foram obtidos por Lee, Godshalk e Lamkey (1989) e Melchinger et al (1990).



Chowdari et al (1998) estudaram na cultura do milho o desempenho de híbridos e a distância genética dos respectivos genitores por meio de marcadores moleculares do tipo Microsatélites e RAPD. Concluíram que os marcadores podem ser úteis no agrupamento de genitores.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais utilizados, síntese dos cruzamentos e detalhes experimentais

Foram utilizadas 10 cultivares de milho (Tabela 1), provenientes de quatro empresas produtoras de sementes. Estas cultivares foram selecionadas por apresentarem bom desempenho na região e por serem recomendadas para o Sul de Minas Gerais.

TABELA 1. Cultivares de milho utilizadas nos experimentos.

Cultivar	Ciclo	Empresa	Tipo de Material	Tipo de grão
C 901	Superprecoce	Cargill	Híbrido simples	Semidentado Amarelo
C 333	Normal	Cargill	Híbrido simples	Semiduro Alaranjado
C 909	Superprecoce	Cargill	Híbrido simples	Semiduro Amarelo
C 805	Superprecoce	Cargill	Híbrido triplo	Semiduro Alaranjado
AG 9012	Superprecoce	Agrocerec	Híbrido simples	Duro Avermelhado
AG 5011	Precoce	Agrocerec	Híbrido triplo	Semidentado Amarelo
P3069	Superprecoce	Pioneer	Híbrido simples	Duro Alaranjado
P 3041	Precoce	Pioneer	Híbrido triplo	Duro Alaranjado
Z 8392	Supreprecoce	Zeneca	Híbrido simples	Semiduro Alaranjado
Z 8452	Precoce	Zeneca	Híbrido simples	Semiduro Alaranjado

No ano agrícola de 1996/97, em área experimental do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, foi instalado um campo para produção das sementes dos híbridos  $F_1$ 's, resultantes do intercruzamento dessas cultivares. Este campo foi composto de 4 fileiras de 5 metros para cada cultivar,

sendo utilizadas duas épocas de semeadura para garantirem a coincidência no florescimento. Para prevenir cruzamentos indesejados, as espigas foram protegidas com sacos plásticos, antes da emissão dos estilo-estígmata. Quando os estilo-estígmata estavam receptivos, foram realizadas manualmente, todos os cruzamentos possíveis, no esquema dialélico, entre as cultivares, ou seja, foram obtidos os 45 híbridos  $F_1$ 's. Após a colheita e secagem, as espigas oriundas dos cruzamentos foram debulhadas manualmente e as sementes, após expurgo, foram classificadas quanto ao tamanho. Nesta classificação, foram eliminadas sementes que passaram pela peneira 18.

O experimento para a avaliação do dialelo e para a avaliação das cultivares genitoras foram conduzidos em áreas experimentais distintas, porém próximas, sendo instalados nas mesmas datas de semeadura e nos mesmos locais.

Para a avaliação do dialelo, foram conduzidos três experimentos, no ano agrícola 1997/98, nos municípios de Lavras, Ijaci e Lambari, todos situados na região Sul de Minas Gerais, com semeaduras realizadas em 03/11/1997, 10/11/1997 e 17/11/1997, respectivamente. Lavras, está situada a  $21^{\circ}14'$  S de latitude e  $45^{\circ}00'$  W de longitude, possuindo altitude média de 918m. Lambari, está situado a 896m de altitude,  $21^{\circ}58'10''$  de latitude sul e  $45^{\circ}22'00''$  de longitude e Ijaci, está situada a 950m de altitude,  $21^{\circ}17'$  S de latitude e  $44^{\circ}15'$  W de longitude.

Foi utilizado o delineamento experimental látice  $7 \times 7$ , com três repetições, sendo que os 49 tratamentos foram constituídos pelos 45 híbridos  $F_1$ 's mais 4 cultivares (C 909, C 333, AG 9012 e Z 8392). A parcela foi de duas fileiras de 5m de comprimento, espaçadas de 0,9m, com 25 plantas/fileira, após o desbaste, que foi realizado 25 dias após a emergência das plantas.

Para a avaliação das dez cultivares genitoras, foram conduzidos dois experimentos, um em Lavras-MG e o outro em Ijaci-MG. Foi utilizado o

delineamento blocos casualizados com 3 repetições e os demais detalhes experimentais, foram os mesmos dos experimentos para a avaliação do dialelo.

As adubações de sementeira para cada experimento foram de 400 kg/ha da fórmula 8:28:16. Foram realizadas duas adubações de cobertura, sendo que na primeira, aos 30 dias após a emergência das plantas, foram aplicados 60 kg/ha de nitrogênio da fonte sulfato de amônio e 50 kg/ha de potássio, da fonte cloreto de potássio. Na segunda adubação, que foi realizada aos 45 dias após a emergência, foram aplicados 60 kg/ha de nitrogênio da fonte sulfato de amônio. Os demais tratos culturais foram os normalmente utilizados na cultura do milho.

Foi avaliada a produção de espigas, a qual corresponde ao peso de espigas corrigido para 13% de umidade, utilizando a seguinte expressão:

$$PE = \frac{PEP_x \frac{(1-UP)}{100}}{0,87}$$

em que:

PE: Peso de espigas corrigido para 13 % de umidade;

PEP: Peso de espigas por parcela;

UP: Umidade dos grãos da parcela.

### 3.2 Análise dos dados

#### 3.2.1 Análise de variância

Antes de se proceder a análise de variância foi verificado a necessidade de se realizar a correção de estande de cada parcela. Para isso foi feita uma análise de variância para esta característica. Após constatado a variação não significativa para o estande entre os tratamentos, foi utilizada a seguinte expressão para a correção do estande:

$$PECE = PECU - (b \times (EO - EI))$$

em que:

**PECE:** Peso de espigas corrigido para o estande;

**PECU:** Peso de espiga corrigido para umidade (13%);

**b:** coeficiente de regressão linear, obtido na análise de covariância entre o peso de espiga (variável dependente) e o estande obtido (variável independente);

**EO:** Estande obtido por parcela;

**EI:** Estande ideal (40 plantas por parcela).

Após a correção de estande para cada parcela, considerando os experimentos para a avaliação dos genitores, foi realizada uma análise de variância individual para cada local, de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = m + c_i + b_j + e_{ij}$$

em que:

**$Y_{ij}$ :** valor observado na unidade experimental referente ao *i*-ésima cultivar do *j*-ésimo bloco;

**$m$ :** é a média geral do experimento;

**$c_i$ :** é o efeito da *i*-ésima cultivar;

**$b_j$ :** é o efeito do *j*-ésimo bloco;

**$e_{ij}$ :** é o erro experimental, referente a *i*-ésima cultivar do *j*-ésimo bloco NID  $(0, \sigma^2)$ , ( $i = 1, 2, \dots, 10$ ;  $e_j = 1, 2, 3$ ).

Para os experimentos conduzidos em látice, também foi realizada uma análise de variância individual para cada local, utilizando o seguinte modelo estatístico:

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

em que:

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

**$m$ :** média geral do experimento;

**$t_i$ :** efeito dos híbridos *i*,  $i = 1, 2, \dots, 45$ ;

$r_j$ : efeito da repetição  $j$ ,  $j = 1, 2, 3$ ;

$b_{k(j)}$ : efeito do bloco  $k$ , dentro da repetição  $j$ ,  $k = 1, 2, \dots, 7$ ;

$e_{ijk}$ : erro experimental da parcela que recebeu o híbrido  $F_1$   $i$ , no bloco  $k$ , na repetição  $j$ , imposto  $NID(0, \sigma^2)$ .

Após estas análises, como pressuposição para a realização da análise conjunta, foi testada a hipótese de homocedasticidade de variância pelo teste de Hartley, que foi empregado considerando separadamente os experimentos de avaliação do dialelo e os experimentos de avaliação dos genitores (Snedecor e Cochran, 1978).

Esse teste é realizado considerando a razão entre a maior e a menor variância e testa as seguintes hipóteses:

$H_0$ : os quadrados médios dos erros são iguais,

$H_1$ : nem todos os quadrados médios dos erros são iguais.

O teste de Hartley ( $H$ ) para testar essa hipótese é fornecido por:

$$H = \frac{QME1}{QME2}$$

em que:

QME1: é o maior quadrado médio do erro obtido entre os experimentos;

QME2: é o menor quadrado médio do erro obtido entre os experimentos.

A distribuição de  $H$  é denominado de  $F$  máximo, o valor obtido é testado pelo  $F$  máximo obtido em tabela. Se o valor de  $H$  for menor que o tabelado, conclui-se que os quadrados médios são homogêneos, podendo-se realizar então a análise conjunta.

Após verificado a possibilidade de se realizar a análise de variância conjunta, esta foi realizada utilizando os dados obtidos em cada local, nos experimentos conduzidos em látice e nos experimentos conduzidos em blocos casualizados. Estes dados foram combinados em um só modelo linear misto, supondo-se que a população de blocos de ambos os experimentos foi a mesma.



Desta forma, foi realizada a análise conjunta dos experimentos em látice e dos experimentos em blocos e também foi realizado o agrupamento dos dois tipos de experimentos, obtendo-se as médias ajustadas dos 45 híbridos  $F_1$ 's e dos 10 genitores, com o auxílio do "proc mixed" do SAS, conforme Littell et al. (1996).

### 3.2.2 Análise dialélica

A partir do ajustamento das médias dos 45 híbridos  $F_1$ 's, foi realizada a análise do dialelo, considerando o método IV proposto por Griffing (1956), que avalia as  $n(n-1)/2$  combinações, correspondentes aos cruzamentos dos "n" genitores e cujo modelo é o seguinte:

$$C_{ij} = m + g_i + g_j + s_{ij} + e_{ij},$$

em que:

m: efeito médio de todos os híbridos  $F_1$ 's;

$g_i$  e  $g_j$ : efeito da capacidade geral de combinação do genitor de ordem i e j respectivamente;

$s_{ij}$ : efeito da capacidade específica de combinação do cruzamento  $C_{ij}$ ;

$e_{ij}$ : erro experimental médio.

### 3.2.3 Estimativa da heterose

A heterose de cada híbrido, para o carácter produção de espigas foi estimada em porcentagem, em relação a média dos genitores, utilizando a seguinte expressão:

$$h_{ij}(\%) = \frac{Y_{ij} - \frac{Y_{ii} + Y_{jj}}{2}}{\frac{Y_{ii} + Y_{jj}}{2}} \times 100$$

em que:

$h_{ij}(\%)$ : heterose;

$Y_{ij}$  : produção média da geração  $F_1$ , do cruzamento do genitor  $i$  com o genitor  $j$ ;

$Y_{ii}$ ,  $Y_{jj}$  : produção média do genitor  $i$  e  $j$ , respectivamente.

A heterose, foi testada utilizando o teste  $t$ . A hipótese testada foi  $H_0 = h_{ij} = 0$ . O erro padrão, associado a heterose foi estimado por:

$$s(h_{ij}) = \sqrt{\frac{3QME}{2rl}}$$

em que:

- $r$  e  $l$  referem-se ao número de repetições e de locais, respectivamente;
- QME é o quadrado médio do resíduo da análise de variância conjunta.

O  $t$  calculado ( $t_c$ ) foi obtido pela expressão:

$$t_c = \frac{Y_{ij} - \frac{Y_{ii} + Y_{jj}}{2}}{s(h_{ij})}$$

Estes valores foram comparados em módulo com o percentil superior de distribuição de  $t$  de Student ( $t_{\alpha/2}$ ), com “ $n$ ” graus de liberdade associado ao resíduo da análise de variância conjunta (Fuzzato, 1999)

### 3.3 Estimativa da divergência genética entre as cultivares genitoras

#### 3.3.1 Estimativa da divergência genética utilizando caracteres morfo-agronômicos

Foram avaliadas vinte e cinco características morfo-agronômicas (Tabela 2), coletadas em cinco plantas competitivas de cada parcela, nos experimentos conduzidos em blocos casualizados para a avaliação das cultivares genitoras (item 3.1, pag 24).

**TABELA 2. Características morfo-agronômicas avaliadas.**

Características	Medida	Descrição
<b>1. Colmo</b>		
Comprimento do internódio	cm	Média do comprimento do internódio abaixo da espiga.
Número de internódios	número	Média do número de internódios do solo até o pendão.
Diâmetro	cm	Média do diâmetro do internódio abaixo da espiga.
<b>2. Características da folha</b>		
Comprimento	cm	Média do comprimento da folha de inserção da espiga, tomado da bainha até a ponta da folha.
Largura	cm	Média da largura da folha de inserção da espiga, tomada no meio da folha.
Número de folhas acima da espiga	número	Média do número de folhas acima da espiga até o pendão.
Número de folhas abaixo da espiga	número	Média do número de folhas abaixo da espiga até o solo.
Ângulo entre a lâmina da folha e o colmo	nota	Média de notas (1 - 20°, 2 - 30°, 3 - 40°, 4 - 50° e 5 - 60°) do ângulo formado entre a lâmina da folha de inserção da espiga e o colmo.
<b>3. Características do pendão</b>		
Comprimento da haste principal	cm	Média do comprimento do pendão, tomado da sua base até a sua extremidade.
Comprimento da haste secundária	cm	Média do comprimento da primeira ramificação lateral.
Ramificações secundárias	número	Média do número de ramificações secundárias.
Ângulo entre a haste secundária e a haste principal	nota	Média de notas (1 - 20°, 2 - 30°, 3 - 40°, 4 - 50° e 5 - 60°) do ângulo formado entre a haste secundária e a principal.

“...continua...”

**“TABELA 2, Cont”.**

<b>4. Características da espiga</b>		
Comprimento da espiga	cm	Média do comprimento da espiga, tomado da sua base até a sua extremidade.
Número de fileiras/espiga	número	Média do número de fileiras das espigas.
Número de grãos/fileira	número	Média do número de grãos/fileira das espigas.
Diâmetro do sabugo	cm	Média do diâmetro do sabugo, medido no meio do sabugo.
Diâmetro da espiga	cm	Média do diâmetro das espigas, medido no meio da espiga.
Cor do sabugo	nota	Média de notas (1-roxo, 2-vermelho escuro, 3-vermelho claro, 4-creme e 5-branco).
Empalhamento	nota	Média de notas (1-ótimo, 2-muito bom, 3-bom, 4-ruim e 5-péssimo).
Posição da espiga	nota	Média de notas (1-rente ao colmo, 2-30° em relação ao colmo, 3-45° em relação ao colmo, 4-60° em relação ao colmo a 5-totalmente decumbente em relação ao colmo) do ângulo formado entre a espiga e o colmo.
<b>5. Características do grão</b>		
Peso hectolítrico	g	Peso médio de 100 litros de grãos.
<b>6. Característica da planta</b>		
Altura da planta	cm	Média da altura das plantas do solo até a folha bandeira
Altura de inserção da espiga	cm	Média da altura das espigas do solo até a inserção da primeira espiga
Produção de espigas despalhadas, da parcela toda	kg/ha	Peso de espigas corrigido para 13% de umidade e para estande.
Prolificidade	%	Relação entre o número de espigas por parcela e o estande final, multiplicado por 100

### 3.3.1.1 Análise de variância

Para a obtenção das estimativas da divergência morfo-agronômica entre os genitores, foi realizada inicialmente, uma análise de variância univariada por local, para cada característica, de acordo com o modelo estatístico, apresentado no item 3.2.1 da página 26:

Posteriormente, foi realizada uma análise univariada conjunta envolvendo os dois locais, utilizando as médias das análises univariadas das 10 cultivares, conforme o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = m + c_i + a_l + b_{k(l)} + (ca)_{il} + e_{ik(l)}$$

em que:

$Y_{ijk}$ : valor observado da cultivar  $i$  no bloco  $k$  dentro do local  $l$ ;

$c_i$ : é o efeito da cultivar  $i$  ( $i = 1,2,3,\dots,10$ );

$a_l$ : é o efeito do local  $l$  ( $l = 1,2$ );

$b_{k(l)}$ : é o efeito do bloco  $k$  dentro do local  $l$  ( $k = 1,2,3$ );

$(ca)_{il}$ : é o efeito da interação cultivares  $i$  x locais  $l$ ;

$e_{ik(l)}$ : é o erro experimental médio.

A partir da análise conjunta utilizando as médias obtidas para cada característica, foi realizada uma análise multivariada (MANAVA), envolvendo todas as 25 características, adotando-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ikr} = m_r + c_{ir} + b_{kr} + e_{ikr}$$

em que:

$Y_{ikr}$ : é o valor observado na unidade experimental referente a  $i$ -ésima cultivar do  $k$ -ésimo bloco para o  $r$ -ésimo caráter;

$m_r$ : é a média geral do experimento para o  $r$ -ésimo caráter;

$c_{ir}$ : é o efeito da  $i$ -ésima cultivar para o  $r$ -ésimo caráter;

$b_{kr}$ : é o efeito do  $k$ -ésimo bloco para o  $r$ -ésimo caráter;

$e_{ikr}$ : é o erro experimental referente a  $i$ -ésima cultivar do  $k$ -ésimo bloco associado ao  $r$ -ésimo caráter; onde os  $e_{ikr}$  são considerados independentes, com distribuição multinormal, com vetor média zero e matriz de covariância  $\Sigma$ , ( $i = 1, 2, \dots, 10$ ;  $k = 1, 2, 3$ ;  $r = 1, 2, \dots, 25$ )

Foi utilizado o programa SAS, módulo GLM, para efetuar a MANOVA, onde foram obtidas as estimativas das matrizes de soma de quadrados e produtos do erro. Para testar a hipótese de igualdade dos efeitos das cultivares foi adotado o critério de Wilks. A significância do teste foi atribuída a existência de divergência entre as cultivares (Cruz, 1990).

### 3.3.1.2 Estimativas das distâncias genéticas

A partir dos resultados da análise multivariada foram estimadas as distâncias de Mahalanobis ( $D^2_{ij}$ ), como uma medida de dissimilaridade entre os genitores  $i$  e  $j$  para todas as 45 combinações, utilizando a seguinte expressão, segundo Rao (1952):

$$D^2_{ij} = (X_i - X_j)' E^{-1} (X_i - X_j)$$

em que:

$X_i$  e  $X_j$ : referem-se aos vetores de médias das cultivares  $i$  e  $j$ , respectivamente e  $E^{-1}$  é a matriz inversa de  $E$ , que é a matriz de soma de quadrados e produtos residual.

Com base nas estimativas de  $D^2_{ij}$  foi realizada a análise de agrupamento adotando-se o método hierárquico do vizinho mais próximo, apresentado por Johnson e Wichern (1988).

Foram estimadas também as variáveis canônicas, que é uma técnica que consiste em reduzir os "p" caracteres morfo-agronômicos a um novo conjunto, que são combinações lineares das variáveis originais, e que não são correlacionadas entre si. As variáveis canônicas são obtidas a partir da matriz de

soma de quadrados e produtos residual E e a matriz de soma de quadrados e produtos T, relativa aos genitores (Ferreira, 1993).

### **3.3.2 Estimativa da divergência genética utilizando marcadores moleculares do tipo RAPD**

#### **3.3.2.1 Extração de DNA**

Para este estudo, também foram utilizadas as mesmas 10 cultivares descritas na tabela 1 (item 3.1, pag 23). As sementes destas cultivares foram semeadas, em 20 de novembro de 1998, em área experimental do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, para a posterior retirada de amostras para a realização das análises moleculares.

As análises foram feitas com extratos foliares de plantas jovens de milho com aproximadamente 10 a 15 cm de altura. A coleta do material foi feita no começo da manhã e, logo após coletadas, as amostras foram etiquetadas e colocadas em nitrogênio líquido para o congelamento rápido, evitando assim, a degradação do material. Após o congelamento o material foi liofilizado para posterior análise molecular no laboratório de genética molecular do Departamento de Biologia/UFLA.

A extração de DNA foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Saghai – Maroof (1984). Foram utilizados 700mg de tecido liofilizado, os quais foram triturados em nitrogênio líquido. O material triturado foi colocado em tubos e centrifugados, juntamente com 10 ml de tampão CTAB e incubados por 90 minutos em banho-maria a 65°C. Esse tampão constituía de 73ml de água, 10ml de tris Hcl 1M pH 7.5, 14ml NaCl 5M, 2ml EDTA 0,5M p.H 8.0, 1g CTAB e 1ml de B-Mercaptoetanol, constituindo um stock de 100ml de tampão. Após o banho-maria, foi realizada a primeira extração dos ácidos

nucléicos com 5ml da mistura clorofórmio: octanol (24:1). No decorrer desta extração, as fases orgânicas e aquosas foram separadas por centrifugação a 3000 rpm/10 minutos e coletado o sobrenadante.

Após esta etapa, os ácidos nucleicos foram precipitados pela adição de 6ml de isopropanol, o precipitado foi removido com anzol de vidro e transferido para 3 ml de TE pH 8,0, que contém 1ml de Triz 1M p.H 8,0, 0,5ml de EDTA 0,2M e 998ml de água pura, totalizando uma solução stock de 1000ml e deixado a temperatura de 4°C por 1 noite. Após este período, o DNA foi precipitado, adicionando 150ul NaCl 5M e 3ml de etanol e logo após, removidos com anzol de vidro e transferidos para outro tubo contendo 2ml de WASH 1, o qual é composto de 76ml de álcool etílico, 8ml de acetato de sódio 2,5M e 16ml de água, deixando por 30 minutos. O WASH 1 serve para fazer uma lavagem no DNA.

Após a primeira lavagem foi realizada uma segunda lavagem com WASH 2 por 10 segundos, que contém 76ml de álcool etílico, 1ml de acetato de amônio e 23ml de água, totalizando 100ml de solução stock. Logo após, o DNA foi dissolvido em 500ul de TE p.H 8,0, sendo deixado novamente a 4°C por 1 noite, realizando-se então a quantificação, por meio do fluorímetro Hoeffer Scientific TKO 100.

### 3.3.2.2 Amplificação do DNA e eletroforese

A reação de RAPD foi preparada em volume de 10µl, de acordo com o procedimento utilizado por Nienhuis et al. (1995), com modificações. Cada mistura de reação continha: 20ng de DNA genómico, 100µM de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,4µM de um oligonucleotídeo iniciador, 0,6 unidades da enzima Taq DNA polimerase e tampão de reação (50mM de tris pH 8,3, 20mM de KCl, 2mM de MgCl<sub>2</sub>,



5µg/µl de BSA, 0,25% de Ficol 400, 10mM de tartrazine) e água pura totalizando 10µl.

Foram utilizados 40 iniciadores decanucleotídeos adquiridos junto à "Operon Technologies" (Califórnia, EUA), pré-selecionados pela resolução das bandas e por apresentarem polimorfismo (Tabela 1A). Bandas polimórficas foram classificadas como intensas, médias ou fracas, baseando-se na resolução e grau de amplificação (avaliação visual), sendo que, somente bandas classificadas como intensas ou médias foram incluídas na análise.

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

Após a amplificação, os produtos da reação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE (0,045 M Tris-Borato e 0,001 M EDTA) a 65 volts por 4 horas, corados com brometo de etídio a uma concentração de 0.5 µg/ml e visualizados em transluminador de luz ultravioleta Fotodyne e fotografados com filme polaróide 667.

Na avaliação dos géis, cada banda foi tratada como um único loco e a sua presença em um indivíduo foi designada por 1 e a ausência em outro indivíduo por 0. De posse destes dados, foi construída uma matriz de zero e um.

A estimativa da similaridade genética ( $sg_{ij}$ ) entre cada par de cultivares "i" e "j" foi efetuada pelo coeficiente de similaridade de Sorensen-Dice,

utilizando a seguinte expressão, conforme Sokal e Sneath (1963) e Gower (1985):

$$sg_{ij} = \frac{2a}{(2a + b + c)}$$

As variáveis da expressão foram obtidas conforme demonstrado na Tabela 3.

**TABELA 3.** Esquema para obtenção das variáveis utilizadas para a estimativa da similaridade genética ( $sg_{ij}$ ), considerando a presença de uma banda como 1 e a ausência como 0.

Cultivar j	Cultivar i	
	1	0
1	a	b
0	c	d

As medidas de similaridades foram transformadas em medidas de distâncias genéticas pela seguinte expressão:

$$dg_{ij} = 1 - sg_{ij}$$

Os erros padrões associados a cada distância foram estimados segundo Skroch, Tivang e Nienhuis (1992) pelas expressões:

$$Erro = \sqrt{\frac{V}{n}}$$

$$V = \frac{nd(1-d)}{n-1}$$

em que:

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

d: distância genética entre cada par de cultivares;

n: número total de bandas (a, b, c) utilizadas na estimativa de cada distância genética, entre cada par de genitores.

A representação simplificada das distâncias foi feita por meio de um dendrograma, obtido pelo método hierárquico aglomerativo da média aritmética entre pares não ponderados (UPGMA), por meio do programa NTSYS-PC (Rohlf, 1992).

### 3.4 Correlações entre as estimativas obtidas

Com a finalidade de verificar a relação existente entre as diversas estimativas, foi obtida a correlação de Pearson (Stell e Torrie, 1980) entre as seguintes estimativas: CEC com produtividade de espigas dos híbridos  $F_1$ 's.

Para verificar se a divergência genética estimada pelas distâncias multivariadas, poderiam ser utilizadas como forma preditiva para identificar as combinações híbridas mais promissoras, ou seja, aquelas que apresentaram maiores estimativas de heterose, CEC e produtividade, foi estimada a correlação de Pearson entre as medidas de divergência genética (distância de Mahalanobis e distância moleculares) com a heterose, com a produtividade de espigas e com a CEC (Stell e Torrie, 1980).

Também foram estimadas as correlações de Pearson, entre as estimativas da divergência genética, obtidas a partir dos marcadores de RAPD com as obtidas a partir dos caracteres morfo-agronômicos (distância de Mahalanobis).

Com a finalidade de se verificar o grau de coincidência entre as maiores e menores estimativas das diversas estimativas obtidas, foi calculada a porcentagem de participação de cada cultivar nas maiores e nas menores estimativas desses parâmetros ( $D^2$ , distâncias moleculares, CEC, heterose e produtividade de espigas).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise Dialélica

O resumo da análise de variância conjunta envolvendo os três locais, para a produtividade de espigas (kg/ha), está apresentado na Tabela 4. A precisão experimental, avaliada pelo coeficiente de variação (CV = 12,82%), indicou uma precisão média na condução dos experimentos (Scapim, Carvalho e Cruz, 1994). A produtividade média das cultivares foi de 7559 Kg/ha variando de 7179 Kg/ha (P 3069) a 8504 Kg/ha (C 805) (Tabela 5).

TABELA 4 - Resumo da análise de variância conjunta para a produtividade de espigas despalhadas (kg/ha), obtidas na avaliação do cruzamento dialélico entre 10 cultivares de milho, avaliadas em três locais.

F.V.	G.L.	Q.M.
Local (L)	2	4661482,29**
Tratamentos (T)	54	2626083,79**
Cultivares (C)	(9)	1431350,00 n.s.
Híbridos F <sub>1</sub> 's (H)	(44)	2922798,00**
C vs H	(1)	1541205,00 n.s.
CGC	9	6957913,95**
CEC	35	1884439,03**
T x L	108	1127777,97 n.s.
Erro	297	939814,98
C.V. %		12,82

\*\* Significativo a 1% de probabilidade  
n.s não significativo

Embora os três locais de condução dos experimentos fossem próximos, as condições de solo, altitude e precipitação pluviométrica eram diferentes, o

que contribuiu para que se detectasse diferenças significativas ( $p \leq 0,01$ ) entre esse locais. Este fato também foi observado em outras ocasiões, onde foram utilizados ambientes contrastantes, como nos trabalhos de Santos (1994), Ferrão (1994) e o de Fuzzato (1999). Este último realizou sua pesquisa, em duas das três áreas utilizadas neste trabalho.

Foram observadas diferenças significativas ( $p \leq 0,01$ ) para o efeito de tratamentos. Para a interação tratamentos x locais não foram constatadas diferenças significativas, indicando que o comportamento dos materiais foi semelhante nos três locais. No desdobramento da fonte de variação tratamentos, não foram verificadas diferenças significativas entre as cultivares. Por outro lado, foram constatadas diferenças significativas entre os híbridos  $F_1$ 's, evidenciando que o desempenho "per se" desses híbridos não foi coincidente.

O contraste cultivares vs híbridos  $F_1$ 's permite que se faça inferência sobre a heterose média dos cruzamentos do dialelo, sendo que esta foi não significativo. O fato do contraste cultivares vs híbridos  $F_1$ 's não ter sido significativo, indica que em média os híbridos  $F_1$ 's não diferiram das cultivares. A produtividade média das cultivares foi de 7558 kg/ha e a dos híbridos  $F_1$ 's de 7490 Kg/ha, comprovando o que foi comentado anteriormente.

No desdobramento do efeito dos híbridos  $F_1$ 's em capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC), conforme o método IV da análise dialélica de Griffing (1956), foram detectadas diferenças significativas tanto para a CGC ( $p \leq 0,01$ ), quanto para a CEC ( $p \leq 0,01$ ). A significância da CGC, indica que as cultivares diferem entre si na CGC, devido a efeitos aditivos, existindo portanto, materiais com maior possibilidade de formarem híbridos com fenótipos mais desejáveis. A CEC significativa indica, que há híbridos  $F_1$ 's, formados a partir do cruzamento das cultivares, que apresentam melhor performance do que outros, devido aos efeitos não aditivos. Como a CGC e a CEC foram significativas, a seleção de cultivares para a síntese

de novas populações deverá ser baseada tanto nos valores de CGC, quanto nos valores de CEC.

Não foi realizado o desdobramento da fonte de variação tratamentos, para as interações CGC x Local e CEC x Local, devido a não significância da interação tratamentos x locais.

TABELA 5 - Produtividade média de espigas (kg/ha) das cultivares nos três locais de condução dos experimentos e estimativas dos efeitos de capacidade geral de combinação (CGC).

Cultivares	CGC	Kg/ha
Z 8392	495,00**	8171
P 3041	338,50**	8163
Z 8452	296,00**	8006
AG 5011	75,62 n.s.	7539
C 901	7,87 n.s.	7770
C 333	- 33,50n.s	7850
C 805	- 104,12 n.s.	8504
P 3069	- 255,50**	7179
AG 9012	- 368,75**	7421
C 909	- 451,12**	8059
Média		7558

\*\* Significativamente diferente de zero pelo teste de t ao nível de 1% de probabilidade.

Em relação aos efeitos da CGC das 10 cultivares, foram observadas estimativas diferentes de zero para 6 delas, sendo que as cultivares Z 8392, Z 8452 e P 3041, apresentaram os maiores valores positivos de CGC e as cultivares C 909, AG 9012 e C 805, apresentaram os maiores valores negativos de CGC (Tabela 5). As cultivares que apresentaram a maior CGC positiva não diferiram quanto a produtividade.

Os híbridos  $F_1$ 's foram classificados em 3 grupos, conforme Scott e Knott (1974), sendo que, entre os 21 híbridos  $F_1$ 's pertencentes ao 1º grupo (letra a), 15 deles (71,4%) tem como genitor, pelo menos um material de maior CGC, o que ressalta a importância de se ter genitores com elevados valores de CGC, para a obtenção de bons híbridos  $F_1$ 's (Tabela 6). Da mesma forma, a maioria dos híbridos (66,6%) que possuíam como um dos genitores, materiais com CGC alta e negativa, foram classificados no 3º grupo, ou seja, no grupo de menor produtividade. Fuzzato (1999), também observou que híbridos  $F_1$ 's resultantes do cruzamento de genitores que obtiveram CGC negativa, apresentaram um desempenho inferior quando comparado com híbridos  $F_1$ 's descendentes de genitores com CGC positiva.

Foram constatadas diferenças significativas para os efeitos da CEC, mas apenas 27% das estimativas da CEC diferiram significativamente de zero (Tabela 6). Este resultado é semelhante aos obtidos por Fuzzato (1999), que obtiveram apenas 8% das estimativas de CEC significativas. Desta forma, pode-se inferir que não houve muita variação entre os híbridos para os efeitos da CEC. Os cruzamentos que apresentaram estimativas de CEC significativas e positivas foram: AG 9012 x C 909, C 901 x C 333, Z 8392 x AG 5011, C 805 x AG 5011 e AG 9012 x C 901. Por outro lado, os que obtiveram CEC significativas, porém negativas foram: C 805 x C 901, C 805 x C 909, C 805 x Z 8452, C 901 x C 909, AG 9012 x P 3041 e C 901 x AG 5011. Observa-se que em todos os cruzamentos que obtiveram CEC negativa e significativa, estiveram presentes as cultivares que tiveram os efeitos da CGC negativa e significativa, com exceção do cruzamento C 901 x AG 5011.

O cruzamento AG 9012 x C 901, destacou-se por apresentar a maior estimativa da CEC (785,33), sendo também classificado como de alta produtividade (7987 Kg/ha). Também destacaram os cruzamentos AG 9012 x C 909, C 901 x C 333, Z 8392 x AG 5011, C 805 x AG 5011, os quais, como já

comentado, apresentaram estimativas de CEC positivas e significativas, e foram também classificados como pertencentes ao grupo de maior produtividade (Tabela 6). Os piores cruzamentos foram obtidos entre a maioria das cultivares que obtiveram estimativas de CEC negativas, ou seja: C 805 x C 901, C 805 x C 909, C 805 x Z 8452, C 805 x Z 8392, C 901 x C 909, C 901 x AG 5011, AG 9012 x P 3069 e P 3069 x AG 5011, com exceção do cruzamento entre as cultivares AG 9012 x P 3041, que embora tenha obtido estimativa de CEC negativa, não foi classificado no grupo de menor produtividade.

TABELA 6 - Produtividade média de espigas (kg/ha) (acima da diagonal), na média dos três locais e efeitos da capacidade específica de combinação (CEC) (abaixo da diagonal) dos 45 híbridos F<sub>1</sub>'s resultantes do cruzamento dialélico entre as 10 cultivares de milho.

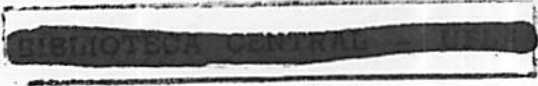
	C 805	AG 9012	P 3069	P 3041	C 901	C 909	C 333	Z 8392	Z 8452	AG 5011
C 805		7295 b <sup>1</sup>	7135 b	7916 a	6185 c	6422 c	7493 b	6743 c	6840 c	7773 a
AG9012	288,9		6644 c	7316 b	7987 a	7912 a	7737 a	7226 b	7937 a	7092 b
P 3069	464,2*	-444,4		7453 b	7143 b	7387 b	7251 b	7285 b	7289 b	6875 c
P3041	382,5	-635,2*	-162,9		7761 a	8429 a	8346 a	7802 a	8377 a	7971 a
C 901	-598*	785,3*	277,6	30,8		6428 c	8221 a	7345 b	7687 a	6608 c
C 909	-512,4*	559,9*	370,2	548,5	-702*		7444 b	7260 b	8199 a	7096 b
C333	115,9	-58,7	-209,4	22,8ns	648,3*	-281		7829 a	7662 a	8138 a
Z8392	-304,4	-239	155,2	-191,5	103ns	-134,4	-8		7655 <sup>†</sup>	8331a
Z8452	-494,5*	183,8	-127,9	95,3	156,8	516,5	-463,2	-138,5		8133a
AG5011	657,8*	-440,8	-322,5	-90,3	-701,8*	-365,2	233,2	757,8*	271,7	

\* Significativamente diferente de zero a 5% de probabilidade, pelo teste t.

<sup>1</sup> Letras iguais acima da diagonal não diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott (1974).

Entre as cultivares avaliadas, destaca-se a P 3041 que obteve alta CGC positiva e em 78% dos híbridos F<sub>1</sub>'s do dialelo, em que participou como um dos genitores, foram classificados no grupo de maior produtividade. Fato semelhante





foi obtido por Fuzzato (1999), em que as cultivares C 125 e AG 1051, que obtiveram altos valores de CGC, resultaram em altas porcentagens de híbridos  $F_1$ 's classificados como os mais produtivos. Esses resultados indicam que no processo de seleção, o melhorista deve selecionar materiais não só pela sua performance "per se" como também, pelos valores de sua CGC.

Realizando o mesmo tipo de análise para os três híbridos triplos estudados (AG 5011, P 3041 e C 805), verificou-se que a cultivar AG 5011 participou como genitor de 9 híbridos  $F_1$ 's, sendo que 55,6% deles, foram considerados de maiores produtividades, já as cultivares P 3041 e C 805, resultaram em 77,8% e 22,8% respectivamente, dos híbridos  $F_1$ 's de maior produtividade. Dentre estas cultivares, destaca-se a P 3041, pois a maioria dos seus híbridos  $F_1$ 's, estiveram entre os mais produtivos, embora ela "per se", apresentasse uma produtividade semelhante as demais.

Dentre os híbridos simples estudados, a cultivar AG 9012 estava presente em 44,4% dos híbridos  $F_1$ 's que foram classificados no grupo de maior produtividade. A C 901 e a Z 8452 estavam em 77,8%, a C 909 estava em 33,3%, C 333 em 66,7%, Z 8392 em 44,4%. Já a P 3069 não participou como genitor em nenhum dos híbridos  $F_1$ 's, que foram classificados como os de maior produtividade. Fuzzato (1999), trabalhando com essa cultivar, constatou que somente em 26,4% dos híbridos  $F_1$ 's, em que este material foi um dos genitores, estavam entre os de maior produtividade.

Na Tabela 7 estão apresentados as estimativas da heterose (h), expressa em porcentagem. Nenhuma heterose positiva e significativa foi detectada entre os cruzamentos envolvendo os híbridos simples. Foram detectadas 38% das estimativas de heterose significativas, existindo portanto, variabilidade entre os cruzamentos para esta estimativa. Resultado contrário a este, foi obtido por Fuzzato (1999), que de 264 cruzamentos avaliados, apenas dois resultaram em estimativas de heterose significativas.

A maior heterose significativa e negativa (-18,78) foi obtida entre o cruzamento das cultivares C 901 e C 909 e a menor foi obtida nos cruzamentos das cultivares C 909 x AG 5011 e entre C 805 x P 3069.

TABELA 7. Heterose em porcentagem para os 45 híbridos provenientes do cruzamento dialélico envolvendo as 10 cultivares de milho.

	C 805	AG 9012	P 3069	P 3041	C 901	C 909	C 333	Z 8392	Z 8452
AG9012	-0,07								
P3069	-9,01*	-16,56**							
P3041	3,19	-6,11	-10,57*						
C901	-17,15**	5,15	-12,22**	-2,58					
C909	-15,71**	2,22	-10,80**	3,92	-18,78**				
C303	-0,29	1,32	-11,32*	4,24	5,26	-6,42			
Z8392	-12,14**	-7,31	-12,62**	-4,47	-7,85	-10,54*	-2,27		
Z8452	-9,91*	2,90	-11,70**	3,62	-2,55	2,07	-3,35	-5,36	
AG5011	5,63	-5,19	-14,29**	1,53	-13,67**	-9,01*	5,76	6,06	4,64

\* \*e \* significativamente diferente de zero pelo teste t ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente.

#### 4.2 Estimativa da divergência genética utilizando caracteres morfo-agronômicos

Na tabela 8 está apresentado o resumo dos resultados obtidos na análise univariada conjunta dos dois locais, para cada uma das 25 características avaliadas. Diferenças significativas foram verificadas entre as cultivares para todas as características morfo-agronômicas avaliadas, exceto para a produtividade de espigas, diâmetro do colmo e prolificidade. Resultados semelhantes foram obtidos por Ferreira (1993), que constatou haver divergência entre os materiais, para as mesmas características avaliadas.

**TABELA 8 - Resumo das análises de variância conjunta envolvendo os dois locais, para as 25 características avaliadas em 10 cultivares de milho.**

Características	Local (L)	Quadrados Médios		Erro	Média	C. V. %
		Cultivares (C)	L x C			
Altura de plantas	1,44**	0,09**	0,02n.s.	0,01	2,19	5,09
Altura de espigas	0,83**	0,04**	0,02**	0,01	1,13	7,05
Prolificidade	0,04**	0,01 n.s.	0,01 n.s.	0,01	1,01	7,24
Nº de folhas abaixo da espiga	4,48**	0,57**	0,08 n.s.	0,08	6,46	4,27
Nº de folhas acima da espiga	16,85**	2,13**	0,14 n.s.	0,19	8,02	5,38
Ângulo entre a lâmina da folha e o colmo	0,08 n.s.	0,53**	0,16 n.s.	0,14	2,18	16,93
Comprimento da folha	1109,83**	210,77**	57,63*	28,21	92,63	5,73
Largura da folha	6,73**	1,99**	0,72 n.s.	0,62	11,09	7,08
Cor do sabugo	0,13 n.s.	1,16**	0,27 n.s.	0,27	2,07	25,02
Comprimento do internódio	143,22**	8,14**	0,97 n.s.	1,21	16,57	6,63
Número de internódios	70,42**	0,99**	0,32 n.s.	0,18	13,40	3,20
Diâmetro do colmo	35,42**	0,27 n.s.	0,25 n.s.	0,15	7,09	5,54
Comprimento da haste principal	6,6 n.s.	69,12**	4,04 n.s.	4,48	47,96	4,41
Comprimento da haste secundária	20,3 n.s.	22,91**	4,65 n.s.	4,32	25,52	8,14
Ângulo entre a haste secundária e a principal	1,60**	1,34**	0,15 n.s.	0,13	2,98	11,90
Número de ramificações secundárias	131,13**	37,63**	3,07 n.s.	2,31	13,97	10,88
Empalhamento	0,01 n.s.	1,15**	0,16 n.s.	0,23	1,77	27,42
Posição da espiga	43,69**	2,12**	0,77 n.s.	0,54	2,92	25,10
Comprimento da espiga	3,22 n.s.	16,53**	2,23 n.s.	1,63	18,66	6,83
Número de fileiras de grãos/espiga	4,11**	2,61**	0,39 n.s.	0,48	14,65	4,73
Número de grãos/fileira	140,76**	49,21**	6,09 n.s.	8,05	37,32	7,60
Diâmetro do sabugo	0 n.s.	1,189**	0,09 n.s.	0,11	10,06	3,28
Diâmetro da espiga	3,13*	2,29**	0,10 n.s.	0,51	15,82	4,51
Peso hectolétrico	417,82**	51,96**	7,64 n.s.	7,41	82,14	3,31
Produção de espigas despalhadas	61781900,69	3400670,4ns	2594347,4ns	3462580,9	1123373,9	16,56

\* \* e \*, significativo à 1% e 5% de probabilidade

De acordo com Cruz (1990) e Ferreira (1993), a significância para o efeito de cultivares, quando se considera diversos caracteres morfo-agronômicos, indica, que existe divergência genética entre eles. Assim, pode-se inferir que pelo menos uma cultivar, das 10 utilizadas nesse trabalho, apresenta divergência em relação as demais.

Para o efeito de locais também foram observadas diferenças significativas para a maioria das características. Por outro lado, para a interação cultivares x locais, para quase todas as características, com exceção da altura de espigas e comprimento da folha, esta foi não significativa, indicando que o desempenho das cultivares foram semelhantes nos dois locais.

Deste modo, devido a não significância desta interação para a maioria das características, a obtenção das estimativas da divergência morfo-agronômica, por meio da utilização de técnicas multivariadas, foram feitas considerando as médias das características de cada material, obtidas na média dos dois locais.

Na tabela 9, está apresentado o resumo dos resultados da análise de variância multivariada envolvendo os dois locais. Foi utilizado o critério de Wilks para testar a hipótese de igualdade dos efeitos das cultivares, de locais e da interação cultivares x locais utilizando-se das 25 características morfo-agronômicas avaliadas. Por meio da aproximação do critério de Wilks pelo teste F, verificou-se que as cultivares diferiram significativamente ( $P \leq 0,01$ ) e que os efeitos de locais e da interação também foram significativos ( $P \leq 0,01$ ), embora tenha sido obtidas diferenças significativas para a interação, só em algumas características (Tabela 8).

**TABELA 9 - Análise multivariada, segundo critério de Wilks para os 25 caracteres morfo-agronômicos das 10 cultivares.**

FV	GL		F
	Numerador	denominador	
Cultivares (C)	225	122	8,0807 **
Local (L)	25	12	133,0194 **
C x L	225	122	1,4712 **

\*\* Significância ao nível de 1% de probabilidade.

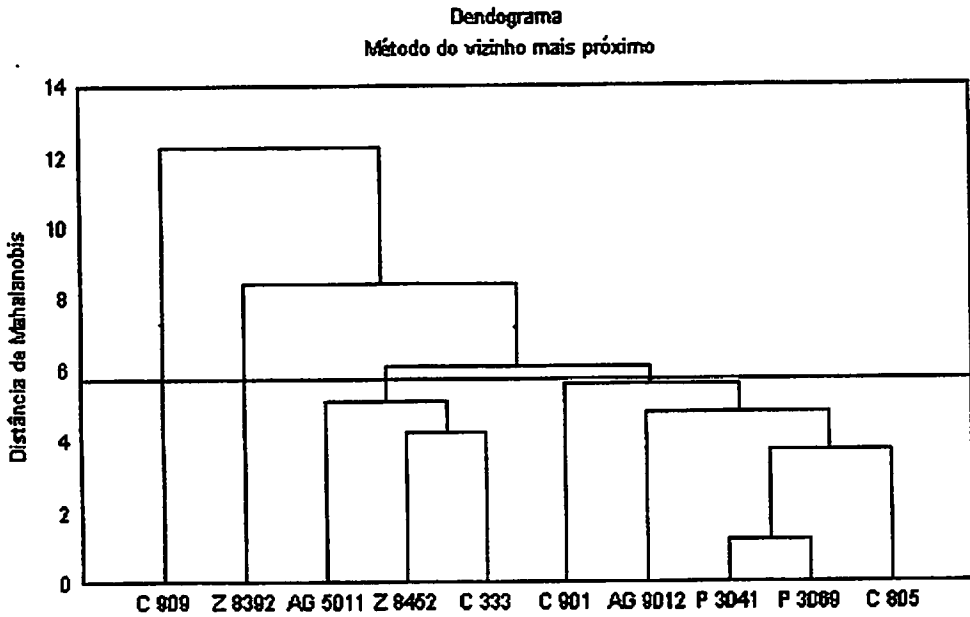
Foram obtidas as estimativas das distâncias de Mahalanobis ( $D^2$ ) entre as 10 cultivares (Tabela 10). Foi observado que 84% dessas estimativas, foram superiores a 5,7, que foi o nível de corte adotado no dendograma. A menor distância ( $D^2 = 1,19$ ) foi encontrada entre o par de cultivares P 3069 e P 3041. Este resultado provavelmente se deve ao fato dessas duas cultivares pertencerem a mesma empresa, devendo portanto, possuírem linhagens comuns na sua constituição. A maior estimativa da distância de Mahalanobis ( $D^2 = 66,03$ ), foi obtida entre as cultivares C 909 e Z 8392.

TABELA 10 – Estimativas das distância de Mahalanobis obtida entre os 45 híbridos  $F_1$ 's resultantes do cruzamento dialélico entre as 10 cultivares de milho.

	AG 9012	P 3069	P 3041	C 901	C 909	C 333	Z 8392	Z 8452	AG5011
C 805	8,12	3,74	3,85	5,55	15,44	9,54	21,01	9,34	11,40
AG9012		6,94	4,75	10,74	31,46	17,79	17,85	13,28	8,18
P3069			1,19	9,29	15,15	6,10	21,47	6,48	9,04
P3041				7,32	15,96	10,22	23,55	8,26	9,68
C901					12,28	23,70	39,63	22,28	21,32
C909						27,94	66,03	34,26	43,10
C303							14,80	4,21	8,90
Z8392								10,95	8,41
Z8452									5,09

A partir das estimativas da distância de Mahalanobis foi realizada a análise de agrupamento pelo método do vizinho mais próximo, o qual divide os materiais em grupos, conforme a divergência existente entre eles. Este método tem sido utilizado com sucesso, em vários trabalhos e com várias culturas, como milho (Ferreira, 1993), feijão (Abreu, 1997) e soja (Miranda, 1998). O método adota para a separação dos materiais em grupos, um ponto de corte, o qual separa os materiais conforme a divergência existente entre eles, sendo este,

escolhido arbitrariamente. Foi adotado o ponto de corte igual a 5,7 de acordo com a distância de Mahalanobis. O dendograma obtido a partir da utilização desse método está apresentado na Figura 1.



**FIGURA 1** - Dendograma de ligação simples feito a partir da análise de agrupamento das 10 cultivares de milho, utilizando o método do vizinho mais próximo, baseado na distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ), obtida a partir da avaliação de 25 caracteres morfo-agronômicos.

Foram obtidos 4 grupos, que foram especificados em função da magnitude da divergência morfo-agronômica dos mesmos em relação aos demais, ou seja, grupo um, formado pela cultivar C 909; grupo dois, formado pela cultivar Z 8392, grupo três, formado pelas cultivares (AG 5011, Z 8452 e C 333) e o grupo quatro, formado pelas demais cultivares, cuja divergência interna

foi inferior ao nível de corte considerado. Apesar da obtenção de quatro grupos, a cultivar C 909 seguido da Z 8392 apresentaram divergência maior em relação aos demais grupos. Quando se comparam os resultados da divergência morfo-agronômica das cultivares C 909 e Z 8392, que foram as mais divergentes em relação às demais, com os híbridos  $F_1$ 's que obtiveram as maiores estimativas da CEC, nota-se que em 33% destes, estão presentes essas cultivares como um dos genitores. Este fato também foi observado por Fuzzato (1999) que em 23,8% dos híbridos  $F_1$ 's avaliados, que obtiveram CEC significativa, um dos pais era o material mais divergente.

Deve ser salientado que as cultivares AG 9012 e C 901 embora, quando cruzadas apresentassem o maior efeito positivo para a CEC, foram considerados pertencentes ao mesmo grupo quanto a divergência morfo-agronômica avaliada pela distância de Mahalanobis. Isto pode ser explicado, pela baixa correlação de Pearson obtida entre a distância de Mahalanobis e os efeitos da CEC (Tabela 12). Estes resultados corroboram com os obtidos por Moll et al. (1965) e Cress (1966), que relatam que o fato de alguns materiais não serem divergentes, não garantem que no cruzamento entre eles, não se possam expressar uma alta heterose ou altos valores de CEC.

Fato interessante foi observado com as cultivares AG 5011, Z 8452 e C 333, pertencentes ao grupo três, que apresentaram estimativas de CEC não significativas. Quando se analisa as cultivares do grupo quatro, observa-se que nem todas, quando cruzadas entre si, resultaram em CEC não significativa. Isso também pode ser explicado pela baixa correlação entre a CEC e a distância de Mahalanobis.

Pela Figura 2, observa-se a dispersão gráfica dos escores da variável canônica de maior importância. Essa explicou 65,90% da variação total e das produtividades médias das 10 cultivares. Constatou-se que as cultivares não diferiram muito por esta técnica, visto que esta variável explicou apenas 65,90%

da variação total. Assim, do mesmo modo que observado, no dendograma da Figura 1, obtido a partir das distâncias de Mahalanobis, as cultivares C 909 e Z 8392, foram consideradas divergentes entre si e em relação às demais (escala horizontal), porém com produtividades semelhantes (escala vertical).

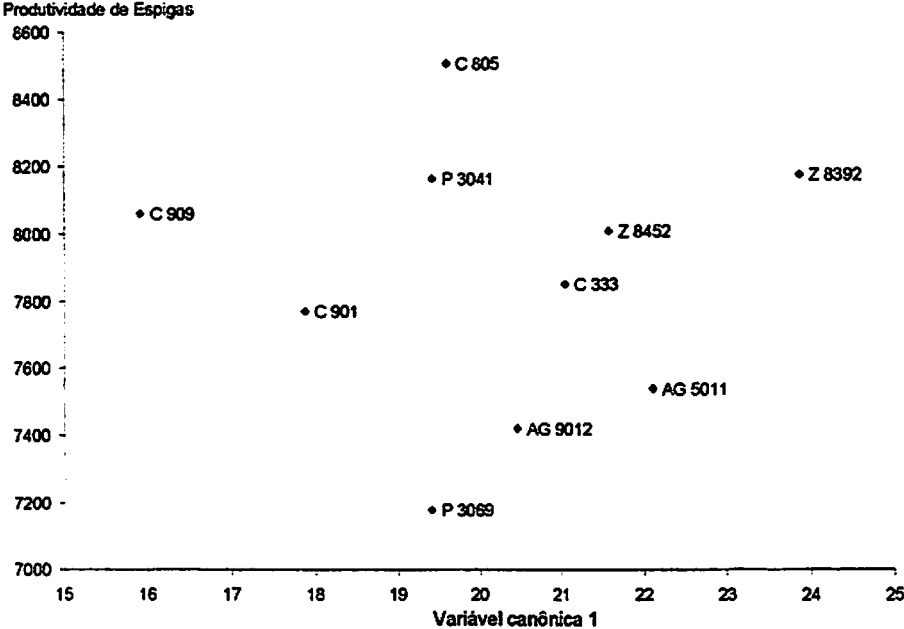


FIGURA 2 - Dispersão gráfica das 10 cultivares de milho em relação às médias de produção de espigas e em relação às variáveis canônicas.

Chama a atenção a cultivar C 805, com maior produtividade e com divergência genética intermediária, quando comparada à Z 8392 e a C 909. As demais cultivares também apresentaram divergências intermediárias, em relação às duas cultivares, porém com produtividades diferentes entre si.



### **4.3 Estimativa da divergência genética utilizando marcadores moleculares do tipo RAPD**

Neste estudo, foram utilizados 40 iniciadores, os quais geraram pelo menos, uma banda polimórfica entre as cultivares analisadas (Tabela 1A). Estes 40 iniciadores geraram 205 produtos de amplificação (bandas), com uma média de 5,125 bandas por iniciador. Destas, 126 foram polimórficas (3,15 bandas por iniciador) e 79 foram monomórficas (1,975 bandas por iniciador). O número de bandas polimórficas variou de um, para os iniciadores OPA 4, 5, 6, OPB 11, 12, 13, 14, OPC 7 e OPC 11 até sete, para o iniciador OPA 19. Uma demonstração do padrão de bandas obtidos está apresentado na Figura 3.

O nível de polimorfismo obtido foi inferior a alguns resultados encontrados na literatura (Duarte, 1998; Johns et al., 1997), mas semelhante aos obtidos por Skroch, Tivang e Nienhuis (1992) e Vasconcelos et al. (1996). Vale ressaltar que o nível de polimorfismo a ser obtido dentro de uma espécie depende do grau de divergência dos genótipos estudados. Um outro aspecto a considerar é que, neste trabalho, os iniciadores utilizados foram rigorosamente pré-selecionados, tendo em vista o número e a qualidade dos produtos de amplificação, e isto pode ter contribuído para a elevação do polimorfismo.

As 126 bandas polimórficas utilizadas foram consideradas suficientes para uma adequada avaliação da divergência genética, haja visto que Johns et al (1997), por reamostragem ('bootstrapping'), verificaram que 50 bandas amostradas ao acaso produziram o mesmo agrupamento obtido com 106 bandas. Além do mais, outros trabalhos de reamostragem têm verificado que, com marcadores do tipo RAPD, a partir de 100 bandas, praticamente ocorre uma estabilização do coeficiente de variação das distâncias genéticas entre os genótipos (Nienhuis et al, 1995).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

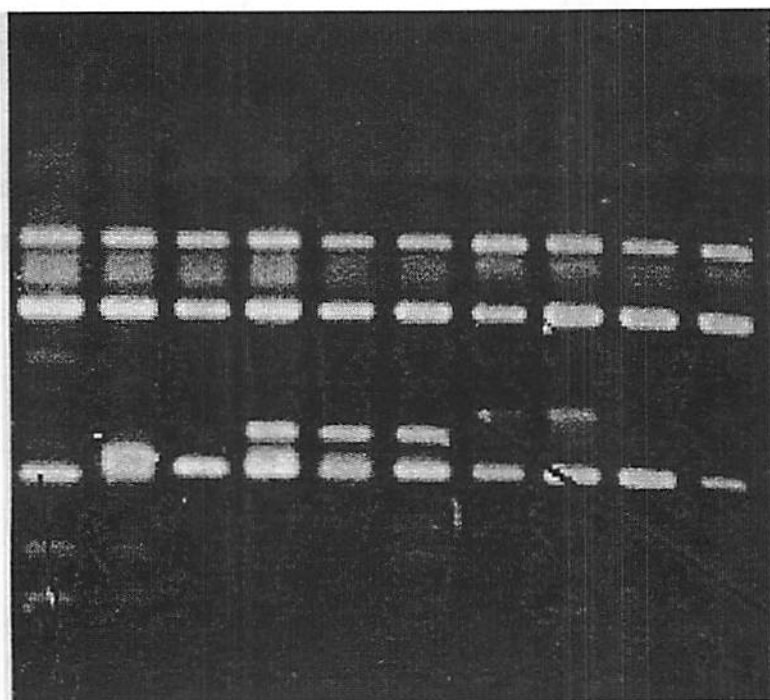


FIGURA 3. Produtos de amplificação do DNA obtidos com o iniciador OPA-02.

As colunas de 1 a 10 correspondem aos produtos de amplificação das cultivares (1-Z 8392, 2-Z 8452, 3-C 901, 4-C 909, 5-C 805, 6-C 333, 7-P 3041, 8-P 3069, 9-AG 5011, 10-AG 9012).

Com base nas 126 bandas de RAPD obtidas, foi construída uma matriz de distâncias genéticas, a partir do complemento do coeficiente de similaridade de Sorensen-Dice, relacionando todos os pares de cultivares (Tabela 11).

A distância genética média para as 45 distâncias obtidas foi de 0,38 com uma amplitude de 0,18 entre as cultivares P 3069 e AG 5011 a 0,58 entre as cultivares Z 8452 e P 3041. Para esses mesmos pares de cultivares, como pode ser observado na Tabela 5, o par que apresentou a menor distância genética foi

classificado como pertencente ao grupo de menor produtividade (grupo c) pelo teste de Skott Knott (1974). Já o par de cultivares que obteve a maior distância genética foi classificado no grupo de maior produtividade (grupo a).

**TABELA 11. Matriz de distâncias genéticas (acima da diagonal) e erro padrão estimado (abaixo da diagonal) entre as 10 cultivares de milho analisadas duas a duas.**

	Z 8392	Z 8452	C 901	C 909	C 805	C 333	P 3041	P 3069	AG 5011	AG 9012
Z 8392		0,30	0,38	0,39	0,35	0,47	0,47	0,44	0,46	0,52
Z 8452	0.051		0,35	0,34	0,41	0,44	0,58	0,42	0,38	0,44
C 901	0.053	0.052		0,25	0,25	0,37	0,43	0,30	0,31	0,38
C 909	0.053	0.051	0.047		0,26	0,32	0,50	0,40	0,36	0,46
C 805	0.052	0.052	0.047	0.047		0,32	0,41	0,37	0,35	0,44
C 333	0.056	0.055	0.055	0.053	0.053		0,47	0,41	0,39	0,44
P 3041	0.055	0.052	0.053	0.053	0.054	0.057		0,32	0,35	0,40
P 3069	0.052	0.051	0.048	0.050	0.049	0.052	0.051		0,18	0,27
AG 5011	0.051	0.050	0.048	0.049	0.049	0.052	0.051	0.041		0,26
AG 9012	0.053	0.053	0.051	0.052	0.052	0.055	0.055	0.048	0.048	

Na figura 4, está apresentado o agrupamento das cultivares, conforme o método de agrupamento UPGMA, o qual agrupa as cultivares por meio de um dendograma. Foi observado que as cultivares C 909 e Z 8392, foram consideradas divergentes entre si e também em relação as demais, comprovando os resultados obtidos pelo dendograma apresentado na Figura 1.

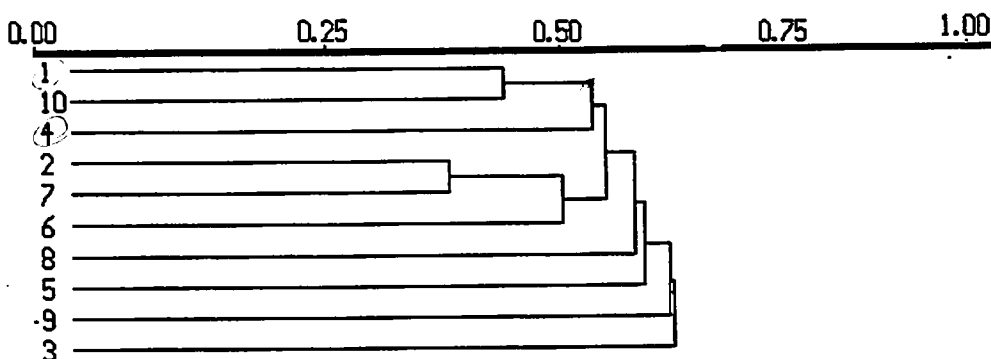


FIGURA 4. Dendrograma das distâncias genéticas entre as cultivares de milho obtido pelo método UPGMA (1-Z 8392, 2-Z 8452, 3-C 901, 4-C 909, 5-C 805, 6-C 333, 7-P 3041, 8-P 3069, 9-AG 5011, 10-AG 9012).

#### 4.4. Correlação entre as estimativas

Ferreira (1993), afirma que a heterose e a capacidade de combinação dos genitores dependem diretamente da divergência genética existente entre eles, sendo que, maiores são as chances de se encontrar combinações promissoras, quando se utiliza materiais mais divergentes.

Entretanto, nesse trabalho a correlação entre a divergência genética  $D^2$  e a heterose (h) foi nula (Tabela 12). Foi observado também, que a correlação entre a CEC e  $D^2$  também foi nula, o que contraria a idéia de que para que haja uma alta heterose é necessário que os materiais envolvidos no cruzamento sejam muito divergentes.

Moll et al (1965), afirmam que existe um grau ótimo de divergência para a máxima expressão da heterose em milho e este grau ocorre dentro de uma amplitude. Outro fato importante é que a divergência genética é uma condição necessária para que haja heterose, mas não é uma condição suficiente para garantir a sua ocorrência, pois a heterose depende, não só das diferenças das

freqüências alélicas, como também da dominância (Cress, 1966). Deve ser considerado também, as interações epistáticas que neste trabalho, foram desprezadas. Este fato é verdadeiro para o cruzamento entre populações adaptadas, mas não o é, para os cruzamentos entre populações não adaptadas, (Falconer, 1981). Portanto a adaptabilidade dos genitores é um fator que deve ser considerado.

As técnicas de avaliação da divergência genética, quando comparadas ao resultado dos cruzamentos dialélicos, demonstram que a maioria dos cruzamentos entre as cultivares a serem utilizadas como genitores podem ser desnecessários, devido a baixa divergência existente entre alguns desses cruzamentos, resultando em híbridos pouco produtivos (Ferreira, 1993). Desta forma, o autor afirma que um ensaio preliminar, envolvendo somente as cultivares a serem utilizadas como genitoras, seria útil na determinação daquelas que teriam boa capacidade de combinação, baseando-se assim, nos resultados da divergência genética entre elas. Associado a esse fato, existe uma vantagem adicional de possibilitar a avaliação de um maior número de pais, selecionando os mais divergentes e realizando um menor número de cruzamentos, com maiores chances de se obter sucesso (Hallauer e Miranda Filho, 1981).

No presente trabalho, a relação entre a divergência genética avaliada por caracteres morfo-agronômicos ( $D^2$ ) e a avaliada por marcadores moleculares, do tipo RAPD, com a capacidade específica de combinação (CEC), foram nulas (Tabela 12). Estes resultados indicam, que a avaliação apenas da divergência genética entre as cultivares não é uma pressuposição para a escolha das melhores combinações, o que contraria as afirmações de Ferreira (1993).

TABELA 12 – Correlação de Pearson obtida entre as estimativas dos cinco parâmetros estudados.

	Prod de espigas dos híbridos F <sub>1</sub> 's	D <sup>2</sup>	RAPD
CEC	0,722 **	0,032 n.s	-0,090 n.s
Heterose	0,915 **	-0,071 n.s	0,130 n.s
Prod de espigas híbridos F <sub>1</sub> 's		-0,054 n.s	-0,040 n.s
D <sup>2</sup>			0,264 *

\*\* e \* Significância ao nível de 1% e 5% de probabilidade respectivamente.

Como já comentado, foi constatado que as cultivares mais produtivas obtiveram maiores valores de distâncias genéticas. Entretanto, apesar destes resultados, não se pode generalizar que as cultivares com maiores distância genéticas resultem em híbridos mais produtivos, visto que, não foi detectado correlação significativa entre a distância genética obtida por meio dos marcadores moleculares com a produtividade de espigas (Tabela 12).

Nas tabelas 13 e 14, estão apresentados as porcentagens de participação de cada cultivar nas dez melhores e nas dez piores combinações híbridas, com relação as cinco estimativas obtidas (CEC, produtividade de espigas, D<sup>2</sup>, distância molecular e heterose).

De modo geral, dentre as cultivares avaliadas, destaca-se a P 3041, que teve uma participação expressiva em quase todas as estimativas, nas dez melhores combinações híbridas, com exceção da estimativa D<sup>2</sup> (Tabela 13). Esse mesmo genitor teve também, pouca participação nas dez piores combinações híbridas em relação à essas estimativas (Tabela 14). A cultivar mais divergente C 909 (Figura 1), como era de se esperar, participou de 50% das dez melhores combinações híbridas em relação a estimativa D<sup>2</sup> e não participou em nenhuma das dez piores combinações híbridas em relação a esta estimativa. Fuzzato (1999), obteve resultado semelhante com a variedade Cristal, que foi a

mais divergente, não tendo participação alguma nas piores combinações e participando de 66,7% nas melhores combinações para a estimativa de  $D^2$ .

**TABELA 13 - Porcentagem de participação de cada cultivar nas dez melhores combinações híbridas com relação as seguintes estimativas obtidas: capacidade específica de combinação (CEC), produtividade de espigas, distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ), distância molecular e heterose (h).**

Cultivar	CEC	Produtividade de espigas	$D^2$	Distância molecular	h
C 805	30	10	0	0	20
AG 9012	20	10	10	30	10
P 3069	20	0	10	0	0
P 3041	20	40	10	50	40
C 901	20	10	30	0	20
C 909	40	20	50	30	10
C 333	10	30	20	30	30
Z 8392	10	10	40	50	10
Z 8452	10	40	20	20	20
AG 5011	20	40	10	10	40

Apesar da cultivar C 909 ter tido uma grande participação nas melhores combinações em relação à estimativa de  $D^2$  e também em relação à distância genética obtida pelo marcador molecular RAPD, ela não teve uma participação expressiva nas melhores combinações em relação às outras estimativas. Isso se deve ao fato de que apesar deste material apresentar divergência genética, essa, por sua vez, não foi suficiente para garantir a heterose, pois a divergência depende não só das diferenças alélicas, como também da dominância que, nesse caso, atua provavelmente no sentido de reduzir a expressão da característica,

assim como a divergência genética não implica em híbridos com maiores produtividades (Falconer, 1981).

**TABELA 14 - Porcentagem de participação de cada cultivar nas dez piores combinações híbridas com relação as seguintes estimativas obtidas: capacidade específica de combinação (CEC), produtividade de espigas, distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ), distância molecular e heterose (h).**

Cultivar	CEC	Produtividade de espigas	$D^2$	Distância molecular	h
C 805	40	40	30	30	30
AG 9012	30	20	20	30	10
P 3069	10	20	50	40	50
P 3041	10	0	30	0	0
C 901	30	30	10	50	40
C 909	20	30	0	20	20
C 333	10	0	20	0	0
Z 8392	10	0	0	10	20
Z 8452	20	10	20	10	10
AG 5011	20	40	10	40	20

A segunda cultivar mais divergente Z 8392, apresentou resultados semelhantes a C 909, embora tenha tido uma participação maior (50%) nas melhores combinações híbridas em relação à estimativa da distância molecular. Já a cultivar P 3069, foi a que teve a maior participação nas dez piores combinações híbridas para a estimativa  $D^2$  e heterose e a cultivar C 901, foi a que teve a maior participação nas piores combinações híbridas com relação à estimativa da distância molecular. As cultivares AG 9012 e C 333 tiveram as menores participações, tanto entre as melhores, quanto nas piores estimativas em



relação a todos as estimativas avaliadas, não diferindo quanto a produção. Uma hipótese possível para este fato, é que essas cultivares podem ter um elevado grau de parentesco com as demais.

Quando se considera o par de cultivares Z 8452 e P 3041 verifica-se que estas foram consideradas divergentes, independentemente se a avaliação da divergência foi realizada utilizando os caracteres morfo-agronômicos ou por meio do marcador molecular do tipo RAPD (Figuras 1 e 4). Deste modo, para essas cultivares houve uma concordância, entre os resultados da divergência genética avaliada por meio de caracteres morfo-agronômicos e por marcadores moleculares do tipo RAPD.

Por outro lado, quando se considera a correlação entre a estimativa da divergência genética avaliada por meio de caracteres morfo-agronômicos e a estimada por meio de marcadores moleculares, foi verificado, que embora esta tenha sido significativa essa foi de pequena magnitude, indicando que essas estimativas são medidas distintas e complementares (Tabela 12). Dessa forma, a utilização de uma estimativa não substitui a necessidade de se avaliar a outra. Resultado contrário foi obtido por Machado (1999), que obteve uma alta correlação entre estas duas estimativas, sugerindo que os marcadores são úteis para prever as populações mais segregantes quando o interesse é por vários caracteres agronômicos.

## 5 CONCLUSÕES

- 1- As cultivares pertencentes a grupos diferentes, quanto a divergência genética avaliada por meio dos caracteres morfo-agronômicos, não resultam em híbridos  $F_1$ 's com maior CEC;
- 2- A distância de Mahalanobis ( $D^2$ ) não é útil para a seleção de genitores com maior probabilidade de formar bons híbridos  $F_1$ 's. Assim, uma maior divergência genética entre os materiais não implica, necessariamente, em altas estimativas para a capacidade de combinação;
- 3- A correlação entre a estimativa da divergência genética avaliada por meio de caracteres morfo-agronômicos e a estimada por meio de marcadores moleculares, embora tenha sido significativa, é de pequena magnitude, indicando que são medidas distintas e complementares. Desta forma, a utilização de uma estimativa não substitui a necessidade de se avaliar a outra.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A. F. B. **Predição do potencial genético de populações segregantes do feijoeiro utilizando genitores inter-raciais.** Lavras: UFLA, 1997. 79p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- AHMAD, Z.; KATTIYAR, R.P.; SHYAM, R. **Genetic divergence in triticales.** *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding*, New Delhi, v. 40, n.1, p. 35-38, Mar. 1980.
- AJMONE MARSAN, P.; CASTIGLIONI, P.; FUSARI, F. et al. **Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers.** *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.96, n.2, p.219-227, Fev. 1997.
- AMALRAJ, S.F.A. **Genetic divergence in *Gossypium barbadense* L.** *Genética Agrária*, Rome, v. 36, n. ½ p. 23-30, 1982.
- ARUNACHALAM, V. **Genetic distance in plant breeding.** *Indian Journal Genetic and Plant Breeding*. New Delhi, v. 41, n. 2, p. 226-36, 1981.
- ASTHANA, A.N.; PANDEY, V.K. **Genetic divergence in linseed.** *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding*, New Delhi, v. 40, n. 1, p. 247-50, Mar. 1980.
- BEHL, R.K.; SINGH, V.P.; PARODA, R.S. **Genetic divergence in relation to heterosis and specific combining in triticales.** *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, New Delhi, v. 45, p. 368-75, 1985.
- BOCK, R.D. **Multivariate statistical methods in behavioral research.** USA, McGraw-Hill, 1975. 623p.
- BRYANT, E.H.; MEFFERT, L.M. **Multivariate phenotypic differentiation among bottleneck lines of the housefly.** *Evolution*, Lawrence, v. 44, n. 33, p. 660-8, 1990.

- CHOWDARI, K.V.; VENKATACHALAM, S.R.; DAVIERWALA, A.P. et al., Hybrid performance and genetic distance as revealed by the (GATA)<sub>4</sub> microsatellite and RAPD markers in pearl millet. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.97, n.1, p. 163-169, July 1998.
- COIMBRA, R. de O. Melhoramento do milho no Instituto Agrônômico do Oeste, MG. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MILHO, 5., 1962, Anais da V Reunião Brasileira de Milho, 1962.
- CRESS, C. E. Heterosis of hibrid related to gene frequence differences between two populations. **Genetics**, Austin, v. 53, n. 2, p. 269-74, Feb. 1966.
- CRUZ, C.D. **Aplicações de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. Piracicaba, ESALQ/USP, 1990. 188p. (Tese Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados a genética quantitativa**. 2ª ed. Viçosa: UFV, 1997. 287p.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV. Empresa. Universitária, 1994.
- DELBONI, J.S. **Análise de cruzamentos dialélicos entre variedades de milho braquitivo-2**. Viçosa, MG: UFV. Empresa. Universitária, 1987. 99p.
- DRUMOND, G.A. Melhoramento do milho na Agroceres. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MILHO, 6., 1965, Piracicaba. Anais da VI Reunião Brasileira de Milho. Piracicaba, 1965. p.12-13.
- DUARTE, J.M. **Estudo da divergência genética em raças de feijão por meio de marcadores RAPD**. Lavras: UFLA, 1998. 78p. (Dissertação - Mestrado Genética e Melhoramento de Plantas).
- EDWARDS, A.W.F. & CAVALLI-SFORZA, L.L.A. Method for cluster analysis. **Biometrics**, Raligh, v.21, n. 2, p. 362-375, june, 1965.
- FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitava**. Viçosa, MG: UFV. Empresa Universitária, 1981. 279p.

- FERRÃO, R. G. Cruzamentos dialélicos incompletos entre oito linhagens de milho (*Zea mays* L.) com diferentes ângulos de inserção da folha no colmo. Viçosa: UFV, 1994. 92p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento)
- FERREIRA, D. F. Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos. Lavras: ESAL, 1993. 72 p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1995. 220p.
- FUZATTO, S. R. Divergência Genética e sua relação com os cruzamentos dialélicos na cultura do milho. Lavras: UFLA, 1999. 62p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- GOODMAN, The races of maize: II. Use of multivariate analysis of variance to measure morphological similarity. *Crop Science*, Madison, v. 8, n. 6, p. 693-698, Nov./Dec. 1968.
- GODOI, C.R. de M. Análise estatística multidimensional. Piracicba, ESALQ/USP, 1985. 187p.
- GOWER, J.C. Measures of similarity, dissimilarity, and distance. In: KOTZ, S.; JOHNSON, N.L. *Encyclopedia of statistical science*. Nova York: J. Wiley, 1985. V.5, p.397-405.
- GRATTAPAGLIA, D.; CHAPARRO, J.; WILCOX, P.; McCORD, S.; WERNER, D.; AMERSON, H.; McKEAND, S.; BRIDGWATER, F.; WHETTEN, R.; O MALLEY D; SEDEROFF, R. Mapping in woody plants with RAPD markers: application in forestry and horticulture. In: SYMPOSIUM ON APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING, 1992, Minneapolis. Proceeding of the symposium on applications of rapd technology to plant breeding, 1992, Minnenopolis: CSSA/ASHS/AGA. 1992. p.37-40.

- GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in reaction to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences*, Melbourne, v.9, p.463-493, 1956.
- GROSZMANN, A. Dez anos de experimentação com milho híbrido no Estado de Minas Gerais. Rio de Janeiro: ESALQ, 1957. 47p.
- HALLAUER, A. R. Methods used in developing maize inbreds. *Maydica*, Bergamo, v. 35, p. 1-16, 1990.
- HALLAUER, A.R., MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize**. Ames: Iowa State University. Press, 1981. 468p.
- HALLAUER, A.R.; RUSSEL, W.A.; LAMKEY, K.R. Corn breeding. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. (ed.). **Corn and corn improvement**. 3. ed. Wisconsin: American Society of Agronomy, 1988. p.463-564.
- HUSSAINI, S.H.; GOODMAN, M.M.; TIMOTHY, D.H. Multivariate analysis and the geographical distribution of the world collection of finger millet. *Crop Science*, Madison, v. 17, n.2, p. 257-63, Mar./Apr. 1977.
- JAIN, K.C. ; PANDYA, B.P.; PANDE, K. Genetic divergence in chickpea. *Indian Journal of genetics & Plant breeding*, New Delhi, v.41,n. 2, p. 220-225, 1981.
- JAMES. F.C.; MCCULLOCH, C.E. Multivariate analysis in ecology and systematics: panacea or pandora's box ? *Annual Review of Ecology in systematics*, Palo Alto, v.21, p.129-166, 1990.
- JESWANI, L.M.; MURTY, B.R.; MEHRA, R.R. Divergence in relation to geographical origin in a world collection of linseed. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. New Delhi, v.30, p.11-24, 1970.
- JOHNS, M. A.; SKROCH, P. W.; NIENHUIS, J.; KINRICHSEN, P.; BASCUR, G.; MUÑOZ-SCHICK, C. Gene pool classification os common bean landraces from Chile based on RAPD and morphological data. *Crop Science*, Madison, v. 37, n. 2, p. 605-613, Mar./Apr. 1997.

JOHNSON e WICHERN, D.W. **Applied multivariate statistical analysis.** 2 ed. Ed. International edition, Prentice-hall, 1988. 607p.

JONES, D.F., 1918. The effect of inbreeding and crossbreeding upon development. *Conn. Agr. Exp. Sta. Bul.*, 207 p. 5-100.

KALLOO, J.D.; SIDHU, A.S. Genetic divergence in musk-melon (*Cucumis melo* L.) *Genética Agrária*, Rome, v. 36, n. ½, p.1-8, 1982.

KRUP, C.A.; VIÉGAS, G. P. e PAOLIERI, L. 1943. Híbridos comerciais de milho. *Bragantia*, Campinas, v.3, n.11, p.367-552, nov. 1943.

LEE, M.; GODSHALK, E.B.; LAMKEY, K.R. et al. Association of restriction fragment length polymorphisms among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. *Crop Science*, Madison, v.29, n.4, p.1067-1071, July/Aug. 1989.

LITTELL, R.C.; MILLIKEN, G.A.; STROUP, W.W.; WOLFINGER, R.D. SAS. System for Mixed Models; Cary, NC, SAS. Institute, Inc. 1996. 633p.

MACHADO, A.T. Avaliação de cruzamentos intervarietais de milho (*Zea mays* L.) utilizando o esquema dialélico parcial incompleto. Piracicaba: ESALQ/USP, 1986. 121p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)

MACHADO, C. F. Procedimentos para a escolha de genitores de feijão. Lavras: UFLA, 1999. 118 p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

MALUF, W.R.; FERREIRA, P.E. Análises multivariada da divergência genética em feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.1, n.2, p.31-34, nov. 1983.

MALUF, W.R.; FERREIRA, P.E.; MIRANDA, J.E.C. Genetic divergence in tomatoes and its relationship with heterosis in hybrids. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.6, n.3, p.453-60, set. 1983.

- MELCHINGER, A.E. ; LEE, M.; LAMKEY, K.R. et al. Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms and heterosis for two diallel sets of maize inbreds. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.80, n.1, p.48-49, Sept, 1990.
- MIRANDA, G.V. **Diversidade genética e desempenho de cultivares elites de soja como progenitores.** Viçosa: UFV, 1998. 117p (Tese - Doutorado em genética e melhoramento).
- MIRANDA, J.E.C.; CRUZ, C.D.; COSTA, C.P. Predição do comportamento de híbridos de pimentão (*Capsicum annuum* L.) pela divergência genética dos progenitores. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.11, n.4, p.929-937, dez, 1988.
- MOLL, R. H.; LONNQUIST, J. H.; VELEZ FORTUNO, J.; JOHSON, E. C. The relationship of heterose and genetic divergence in maize. *Genetics*, Austin, v.52, n., p. 139-44, july 1965.
- MOLL, R.H.; SALHUANA, W.S. ; ROBINSON, H.F. Heterosis and genetic diversity in variety crosses of maize. *Crop Science*, Madison, v.2, n.1, p.197-198, 1962.
- MORAIS, O.P. **Avaliação do potencial, para fins de melhoramento genético, de uma população de arroz oriunda do inter cruzamento de dez variedades, usando macho-esterilidade.** Viçosa, MG, UFV, 1992. 255p. (Tese – Doutorado em Genética e melhoramento de Plantas).
- MORRISON, D.F. **Multivariate statistical methods.** New York, McGraw-Hill Book Company, 1967. 415p.
- NEGRILLO, B.C.; PERRE, M.A. **Métodos multivariados e aplicações.** Londrina, UEL, 1987.
- NIENHUIS, J.; SINGH, S. P. Genetic of seed yield and its components in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) of Middle-American origins, L. General combining ability. *Plant Breeding*, Cambridge, v. 101, p. 143-154, 1995.



- OLIVEIRA, E.J. **Análise multivariada no estudo da divergência genética entre cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).** Viçosa, MG, UFV, 1989. 91p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- PATERNIANI, E.; MIRANDA FILHO, J.B. **Melhoramento de populações.** In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. **Melhoramento e produção do milho.** Campinas, v.1. 1987. P.217-76.
- RAM, J.; PANWAR, D.V.S. **Interspecific divergence in rice.** *Indian Journal of Genetics*, New Delhi, v.30, p.1-10, Sept. 1970.
- RAMALHO, M.A.; SANTOS, J.B.; ZIMMERMANN, M.J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro.** Goiânia: UFG, 1993. 271p.
- RAO, C.P.; RAHMAN, M.A.; RAO, P.N.; REDDY, J.R. **Genetic divergence analysis in sugarcane.** *Genética Agrária*, Rome, v.39, n.3, p.237-247, 1985.
- RAO, C.R. **Advanced statistical methods in biometrica research.** New York, John wiley &sons, 1952. 390p.
- RAO, V.R.; RAMACHANDRAM, M.; SHARMA, J.R. **Multivariate analysis of genetic divergence in safflower.** *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding*, New Delhi, v.40, n.1, p.73-85, Mar. 1980.
- RYAN, B.; GROSS, N. 1950. **Acceptance and diffusion of hybrid seed two Iowa communities.** *Iowa State Col. Res. Bul.* 372.
- SANTOS, J.B. dos; NIENHUIS, J.; SKROCK, P.; TIVANG, J.; SLOCUM, M. K. **Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes.** *Theoretical and Applied Genetics*, Berlim, v.87, n.8, p.909-915, 1994.
- SCAPIM, C. A.; CARVALHO, C. G. P.; CRUZ, C. D. **Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.30, n.5, p.638-689, maio 1994.

- SCOTT, A.J.; KNOTT, M.A. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v.30, n.2, p.507-512, Mar. 1974.
- SHAMSUDDIN, A.K.M. Genetic diversity in relation to heterosis and combining and combining ability in spring wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlim, v.70, p.306-308, 1985.
- SHULL, G.H. A pure line method of corn breeding. **American Breedings Association Report**, Washington, v.4, p.296-301, 1909.
- SHULL, G.H. What is "heterosis". **Genetics**, Austin, v.33, n.5, p.439-66, 1948.
- SILVA, L.C. Estimativa de parâmetros genéticos, com especial ênfase à epistasia, em cruzamentos intervarietais de milho. "Viçosa, MG: UFV. Imprensa. Universitária. 1969. 61p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia).
- SILVA, R.M. da. Estudo do sistema reprodutivo e divergência genética em capuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (willd ex Spreng) Shum.). Piracicaba: ESALQ/USP, 1996. 151p. (Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting divergence. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**. New Delhi, v.41, p.237-245, 1981.
- SINGH, Y.P. ; KUMAR, A. & CHAUHAN, B.P.S. Genetic divergence in pearl millet . **Indian Journal of Genetics & Plant Breeding**. New Delhii, 41(2):186-90, July, 1981.
- SKROCH, P. W.; TIVANG, J.; NIENHUIS, J. Analysis of genetic relationship using RAPD marker data. In: **Applications of RAPD Tecnology to Plant Breediing**, Minneapolis 1992. Proceedings... Minneapolis: Crop Science Society os America, 1992. P.26-30.
- SMITH, O.E.; SMITH, J.S.C. Mesurament of genetic diversity among maize hybrids; A comparason of isozymic, RFLP, pedigree, and heterosis data. **Maydica**, Bergamo, v.37, p.53-60, 1991.

- SMITH, O.S. ; SMITH, J.S.C.; BOWEN, S.L.; TENBORG, R.A. and WALL, S.J. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree. F<sub>1</sub> grain yield, grain yield heterosis and RFLPs. *Theoretical and Applied Genetics*. Berlim, v.80, p.833-840, 1990.
- SOKAL, R.R.; SNEATH, P.H.A. *Principles of numeric taxonomy*. San Francisco: W.H. Freeman, 1963. 359p.
- SOUZA, M.A. Adaptabilidade estabilidade, correlações e coeficientes do trilha em genótipos de trigo (*Triticum sativum* L.), em doze ambientes de Minas Gerais. Viçosa, MG, UFV, 1985. 118p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- SPRAGUE, G.F.; TATUM, L.A. General vs specific combining ability in single crosses of com. *Journal of the American Society of Agronomy*, Washington, v.34, n.10, p. 923-932, 1942.
- STELL, R.G.; TORRIE, J.H. *Principles and procedures of statistic. A biometrical approach*. New York. McGraw-Hill Book Company, 1980. 633p.
- SURESH, K.S.; KHANNA, R. Physiological biochemical and genetics basis of heterosis. *Advance in Agronomy*, New York, v.27, p.123-174, 1975.
- TINGEY, S.V.; RAFALSKI, J.A.; WILLIAMS, J.G.K. Genetic analysis with RAPD markers. In: *APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING*, INNEAPOLIS, 1992. *Proceedings...* Minneapolis: Crop Science Society of America, 1992. p.3-8.
- TROYER, A.F. Breeding early com. In: HALLAUER, A.R. Speciality coms. Ames, 1994. p. 342-96.
- VASCONCELOS, M. J. V.; BARROS, E. G. de; MOREIRA, M. A.; VIEIRA, C. Genetocs diversity of the common bean *Phaseolus vulgaris* L. determined by DNA-based molecular marked. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v. 19, n. 3, p. 447-451, set. 1996.

- VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E. (ed.). **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Piracicaba, Fundação Cargill ESAQL/USP, 1987. p.135-214.
- VIANA, J.M.S. ; CARDOSO, A.A.; CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; GIUDICE, R.M. del. Genetic divergence in sugar cane (*Saccharum* spp. ) **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.14, n.3, p.753-763, Sept. 1991.
- VIEGAS, G.P.; MIRANDA FILHO, J.B. Milho híbrido. In: PATERNIANI, E. (ed.). **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Piracicaba, Fundação Cargill, ESALQ/ USP, 1987. P.277-340.
- WARD, J.H. Hierarchical grouping to optimize na objective function. **Journal of the American Statistical Association**. Boston, v.58. p.236-244, 1963.
- WELSH, J.; MCCLELLAND,M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.18, n.24, p.7213-7218, 1990.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K.L.; RFALSKI, J.A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

## ANEXOS

### ANEXO A

Página

TABELA 1A	Iniciadores utilizados e respectiva seqüência de bases, número de bandas polimórficas e monomórficas para as 10 cultivares analisadas.....	73
-----------	--	----

**TABELA 1A. Iniciadores utilizados e respectiva seqüência de bases, número de bandas polimórficas e monomórficas para as 10 cultivares analisadas.**

Iniciador	Seqüência	Nº Bandas Polimórficas	Nº Bandas Monomórficas
OPA - 01	CAGGCCCTTC	4	2
OPA - 02	TGCCGAGCTG	4	3
OPA - 03	AGTCAGCCAC	2	3
OPA - 04	AATCGGGCTG	1	2
OPA - 05	AGGGGTCTTG	1	1
OPA - 06	GGTCCCTGAC	1	2
OPA - 07	GAAACGGGTG	5	1
OPA - 09	GGGTAACGCC	3	2
OPA - 10	GTGATCGCAG	3	1
OPA - 11	CAATCGCCGT	2	2
OPA - 12	TCGGCGATAG	3	1
OPA - 13	CAGCACCCAC	2	3
OPA - 14	TCTGTGCTGG	5	1
OPA - 17	GACCGCTTGT	5	1
OPA - 19	CAAACGTCGG	7	3
OPA - 20	GTTGCGATCC	5	1
OPB - 1	GTTTCGCTCC	4	2
OPB - 5	TGCGCCCTTC	2	0
OPB - 7	GGTGACGCAG	6	2
OPB - 10	CTGCTGGGAC	5	2
OPB - 11	GTAGACCCGT	1	3
OPB - 12	CCTTGACGCA	1	3
OPB - 13	TTCCCCGCT	1	3
OPB - 14	TCCGCTCTGC	1	2
OPB - 15	GGAGGGTGTT	3	2
OPB - 17	AGGGAACGAG	6	0
OPB - 18	CCACAGCAGT	5	2
OPC - 5	GATGACCGCC	2	1
OPC - 6	GAACGGACTC	3	1
OPC - 7	GTCCCGACGA	1	4
OPC - 8	TGGACCGGTG	3	2
OPC - 9	CTCACCGTCC	4	2
OPC - 11	AAAGCTGCGC	1	1
OPC - 13	AAGCCTCGTC	3	2
OPC - 16	CACACTCCAG	3	2
OPD - 13	GGGGTGACGA	4	2
OPD - 15	CATCCGTGCT	2	2
OPD - 18	GAGAGCCAAC	4	5
OPD - 20	ACCCGGTCAC	5	4
OPE - 6	AAGACCCCTC	3	1
		126	79