

**PRODUTIVIDADE DE HÍBRIDOS DE MILHO,  
DERIVADOS DE POPULAÇÕES S<sub>0</sub>, E  
ASSOCIAÇÃO COM DISTÂNCIA GENÉTICA  
BASEADA EM MICROSSATÉLITES**

**EDSON PERITO AMORIM**

**2005**

**EDSON PERITO AMORIM**

**PRODUTIVIDADE DE HÍBRIDOS DE MILHO, DERIVADOS  
DE POPULAÇÕES S<sub>0</sub>, E ASSOCIAÇÃO COM DISTÂNCIA  
GENÉTICA BASEADA EM MICROSSATÉLITES**

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

Orientador:

Prof. Dr. João Cândido de Souza

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2005

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

Amorim, Edson Perito

Produtividade de híbridos de milho, derivados de populações  $S_0$ , e  
associação com distância genética baseada em microssatélites / Edson  
Perito Amorim.-- Lavras: UFLA, 2005.

97 p. : il.

Orientador: João Cândido de Souza.

Tese (Doutorado) --UFLA.

Bibliografia.

1. Milho. 2. Microssatélites. 3. Diversidade genética. 4. Heterose. 5. *Bootstrap*

I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.1523

**EDSON PERITO AMORIM**

**PRODUTIVIDADE DE HÍBRIDOS DE MILHO, DERIVADOS  
DE POPULAÇÕES S<sub>0</sub>, E ASSOCIAÇÃO COM DISTÂNCIA  
GENÉTICA BASEADA EM MICROSSATÉLITES**

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

APROVADA em 22 de fevereiro de 2005

Dra. Cláudia Teixeira Guimarães

EMBRAPA/CNPMS

Dra. Maria Elisa A. G. Zagatto Paterniani

IAC

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

DBI / UFLA

Prof. Dr. Renzo Garcia Von Pinho

DAG/UFLA

Prof. Dr. João Cândido de Souza

DBI-UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

Aos meus pais, esposa e irmãos,

que sempre me apoiaram e ampararam em todos os momentos.

A todos aqueles que,

direta ou indiretamente, participaram da elaboração deste trabalho.

A Deus,

que esteve presente em todos os momentos

**OFEREÇO**

Por tudo que fizeram por mim e pelos exemplos de amor, educação, honestidade  
e dedicação, a meus pais

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Universidade Federal de Lavras e ao CNPq, pela oportunidade e auxílio concedidos. Agradeço ao professor João Cândido pela orientação. Ao professor João Bosco dos Santos, pela orientação e constante disponibilidade para esclarecer minhas dúvidas. Aos demais professores do curso. À professora Antônia dos Reis Figueira por ter disponibilizado o Laboratório de Virologia Molecular do Departamento de Fitopatologia/UFLA para as análises com SSR. À professora Anete Pereira de Souza do CBMEG/UNICAMP por ter disponibilizado os *primers* de SSR. Aos membros da banca examinadora pelas importantes sugestões. Aos colegas Wilacildo, pela ajuda na parte de campo, e Airton, pelo auxílio nas análises estatísticas. Aos demais colegas de curso, pelos agradáveis momentos. A meus pais, Maria Glória e José Amorim, os grandes responsáveis por mais esta conquista. A meus irmãos, Jefferson, Thiago e Diogo, pela torcida constante. Por fim, agradeço à minha querida esposa, Vanusia, a melhor parte de mim e o que tenho de mais valioso nesta vida.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	4
2.1 Estrutura genética das espécies alógamas .....	4
2.2 Endogamia em milho .....	6
2.3 Heterose em milho .....	9
2.4 Relacionamento entre distância genética e heterose .....	12
2.5 A utilização de híbridos e o progresso genético em milho.....	14
2.6 Tipos de híbridos de milho.....	15
2.7 Seleção de populações para a obtenção de linhagens.....	17
2.8 Predição do desempenho de híbridos de milho por meio de marcadores bioquímicos e moleculares .....	21
2.9 Mapeamento de QTL associados a características agronômicas.....	25
2.10 Seleção assistida por marcadores moleculares.....	28
2.11 Marcadores microssatélites (SSR) .....	30
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	33
3.1 Descrição das populações e dos locais.....	33
3.2 Obtenção dos híbridos a partir de populações $S_0$ .....	33
3.3 Avaliação dos híbridos obtidos a partir de populações $S_0$ .....	34
3.4 Análise dos dados.....	36
3.4.1 Análises de variância individuais .....	36
3.4.2 Análise conjunta.....	36
3.4.3 Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos.....	37
3.4.4 Estimativa da heterose dos híbridos .....	39
3.4.5 Estimativa da depressão por endogamia entre os híbridos comerciais.....	40

3.5 Avaliação das linhagens $S_1$ em laboratório .....	40
3.5.1 Seleção das linhagens parentais $S_1$ para genotipagem com SSR .....	40
3.5.2 Preparação do material vegetal e extração do DNA.....	41
3.5.3 Amplificações dos fragmentos de microssatélites (SSR).....	42
3.6 Análises estatísticas utilizando os dados obtidos com SSR .....	44
3.6.1 Estimativa das distâncias genéticas entre as linhagens $S_1$ .....	44
3.6.2 Agrupamento das linhagens $S_1$ .....	45
3.6.3 Análise de <i>bootstrap</i> dos marcadores SSR .....	45
3.7 Correlações entre as distâncias genéticas e as médias de heterose e produtividade de grãos dos híbridos $S_0$ .....	46
3.8. Regressão linear simples entre as distâncias genéticas das linhagens $S_1$ genitoras, as médias de heterose e as médias para produtividade de grãos dos híbridos $S_0$ .....	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
4.1 Análises de variância por local.....	48
4.2 Análise conjunta.....	53
4.3 Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos.....	58
4.4 Estimativa da heterose dos híbridos .....	59
4.5 Estimativa da depressão por endogamia entre os híbridos comerciais.....	61
4.6 Estimativas das distâncias genéticas entre as linhagens $S_1$ .....	63
4.7 Agrupamento das linhagens $S_1$ .....	64
4.8 Análise de <i>bootstrap</i> dos marcadores SSR .....	66
4.9 Correlações entre as distâncias genéticas e as médias de heterose e produtividade de grãos dos híbridos $S_0$ .....	67
4.10 Regressão linear simples entre as distâncias genéticas das linhagens $S_1$ genitoras, as médias de heterose e as médias para produtividade de grãos dos híbridos $S_0$ .....	70
5 CONCLUSÕES.....	72

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	73
ANEXOS .....	86

## RESUMO

AMORIM, E. P. **Produtividade de híbridos de milho, derivados de populações S<sub>0</sub>, e associação com distância genética baseada em microssatélites.** 2005. 97 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de se produzir híbridos inter e intrapopulacionais a partir de populações S<sub>0</sub> de híbridos simples comerciais e correlacionar as distâncias genéticas obtidas por meio de microssatélites (SSR) entre os parentais com a produtividade de grãos e heterose dos híbridos. Foram utilizadas três populações S<sub>0</sub> oriundas dos híbridos simples comerciais P30F45, Dow657 e DKB333B obtendo-se 163 híbridos, sendo 110 interpopulacionais e 53 intrapopulacionais. A avaliação dos híbridos foi realizada no ano agrícola 2003/2004, em Lavras e Lambari, MG, em delineamento látice simples 13 x 13, utilizando-se como testemunhas os três híbridos comerciais e suas S<sub>0</sub>. Foram avaliados os caracteres altura de planta, altura de espiga, número de espigas, peso de espigas despalhadas e produtividade de grãos. Os dois híbridos mais e menos produtivos dos cruzamentos inter e intrapopulacionais foram selecionados e seus genitores mantidos a partir da autofecundação da segunda espiga de cada planta S<sub>0</sub>, genotipados com 47 SSR. Com isso, 48 linhagens parentais S<sub>1</sub> foram identificadas e selecionadas para as análises. Foi estimada a distância modificada de Roger (DMR) entre cada par de linhagens S<sub>1</sub>. As correlações entre as distâncias genéticas entre as linhagens parentais e a produtividade de grãos e heterose dos híbridos foram obtidas por meio da correlação de Spearman. Foram identificados híbridos S<sub>0</sub> interpopulacionais superiores às testemunhas, em ambos os locais. Em relação aos híbridos S<sub>0</sub> intrapopulacionais, não se identificou nenhum superior à média dos híbridos comerciais utilizados como testemunhas. Cabe destacar que foram identificados híbridos S<sub>0</sub> intrapopulacionais com produtividade média de grãos superior a 10 t ha<sup>-1</sup>, o que pode ser considerada como uma ótima produtividade. A distância genética média entre todas as linhagens S<sub>1</sub> foi 0,75, variando entre 0,40 e 0,89, indicando a existência de grande variabilidade genética entre as linhagens. A correlação entre DMR e produtividade de grãos foi alta e significativa para os cruzamentos interpopulacionais (r = 0,84, P ≤ 0,01) e baixa e não significativa (r = 0,18, P ≥ 0,05) nos cruzamentos intrapopulacionais.

---

<sup>1</sup> Orientador: Dr. João Cândido de Souza – Universidade Federal de Lavras.

## ABSTRACT

AMORIM, E. P. **Grain yield of single cross maize hybrids, derived from S<sub>0</sub> populations, and relationship with genetic distance based on microsatellite markers.** 2005. 97 p. Thesis (Doctorate in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras – Lavras, MG.<sup>2</sup>

This work was carried out with the objective of evaluate the viability of producing inter and intrapopulation hybrids of maize from S<sub>0</sub> populations of single cross hybrid, and to correlate the genetic distances obtained from microsatellites markers among the parents and the grain yield and heterosis of the hybrids. Three S<sub>0</sub> populations from the single cross hybrids (P30F45, Dow657 and DKB333B) were used. One hundred and sixty three hybrids, being 110 inter and 53 intrapopulation crosses were obtained. All 163 inter and intrapopulation hybrids, were evaluated using commercial hybrids and their S<sub>0</sub> as checks in Lavras and Lambari with a single 13 x 13 lattice design. Plant and ear height, number of ears, unhusked ears yield and grain yield were measured. The two best and the two poorest hybrids from the inter and intrapopulation crosses were selected. Their parents were maintained by selfing of the second ear of each S<sub>0</sub> plant, and were genotyped with 47 microsatellite markers (SSR). Then, 48 S<sub>1</sub> inbred lines were identified and selected for the analysis. Genetic distances were calculated from SSR data for all possible pair of S<sub>1</sub> inbred lines using modified Rogers' distance (MRD). Spearman rank correlation coefficients were estimated between the genetic distance with grain yield and heterosis for all hybrids. Interpopulation hybrids more productive than the commercial hybrid and their S<sub>0</sub> checks were identified in both places. There were not identified intrapopulation hybrids more productive than the checks due probably to the few number of hybrids, only 53 against 110 interpopulation hybrids. Intrapopulation hybrids with average grain yield of 10 t ha<sup>-1</sup> were identified, and could be considered of high productivity. The average genetic distance among all S<sub>1</sub> inbred lines was 0.75, varying between 0.40 and 0.89, indicating the existence of great genetic variability among the inbred lines. The correlation between MRD and grain yield were high and significant for the interpopulation crosses ( $r = 0,84$   $P \leq 0,01$ ) and low and not significant ( $r = 0,18$ ,  $P \geq 0,05$ ) in the intrapopulation crosses.

---

<sup>2</sup> Major Professor: Ph.D. João Cândido de Souza – Federal University of Lavras.

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados do mundo e, no Brasil, mais de 3,6 milhões de propriedades realizam seu cultivo. No entanto, a produtividade em nosso país está em torno de 3,7 t ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2004), enquanto que em países desenvolvidos alcança 8,0 t ha<sup>-1</sup>. Esta variação é atribuída às condições climáticas e às tecnologias empregadas em ambos os grupos de países (Pingali e Pandey, 2001).

Nos países em desenvolvimento, a taxa de aquisição de sementes é baixa, sendo grande parte das áreas cultivadas com milho semeadas com variedade de polinização livre e ou gerações F<sub>2</sub> de híbridos comerciais, denominadas de sementes de paiol. No Brasil, estima-se que, em média, 30% da área cultivada com milho sejam oriundas destes tipos de sementes (ABRASEM, 2005).

Para Rosinha (2000), a maioria das empresas produtoras de sementes de milho tem dado ênfase à comercialização de híbridos simples. Uma das alternativas para modificar este panorama seria o emprego de híbridos de linhagens com endogamia intermediária, como, por exemplo, linhagens S<sub>0</sub> até S<sub>3</sub>.

Para Souza Jr. (1992), pode-se selecionar híbridos simples a partir de linhagens S<sub>3</sub> superiores aos híbridos duplos e triplos de linhagens homozigóticas, devido ao fato de os híbridos simples de linhagens S<sub>3</sub> explorarem maiores quantidades de variância genética que os triplos e duplos. Alguns trabalhos têm identificado híbridos obtidos a partir de linhagens parcialmente endogâmicas com produtividade de grãos superior ao dos híbridos de linhagens endogâmicas (Souza Jr., 1995; Carvalho et al., 2003; Carvalho, 2004; Salin-Neto et al., 2004).

Várias são as opções de populações que podem ser utilizadas para a extração de linhagens para a produção de híbridos. A mais viável, no entanto, parece ser a utilização de híbridos simples comerciais, já que apresentam a vantagem de já terem sido testados em vários ambientes, associando, dessa forma, alta produtividade com grande proporção de locos favoráveis já fixados. O potencial de híbridos simples para a extração de linhagens tem sido recentemente avaliado no Brasil (Lima et al., 2000; Souza Sobrinho, 2001; Bison et al., 2003; Carvalho, 2004).

Dentro desse contexto, o conhecimento da distância genética entre genótipos é muito útil porque permite uma melhora na eficiência da amostragem e utilização do germoplasma. Os melhoristas podem fazer uso dessa informação no momento de tomar decisões, como a escolha de genitores para a obtenção de combinações híbridas, com o objetivo de maximizar a expressão da heterose (Cheres et al., 2000). A distância genética entre linhagens, obtida com marcadores moleculares, tem sido considerada uma alternativa viável para predições do desempenho de híbridos e das heteroses dos cruzamentos (Melchinger, 1999).

Baseados na hipótese de associação entre heterose e a frequência de locos heterozigóticos afetando a característica, Hallauer et al. (1988) sugeriram a predição da heterose com base em marcadores moleculares. Da mesma forma, Árcade et al. (1996), considerando a participação da heterozigosidade no fenômeno da heterose, sugerem um potencial preditivo da heterose baseado na quantificação da distância genética entre os genitores.

Com os marcadores de DNA, vários trabalhos têm sido feitos com o objetivo de prever o desempenho de híbridos por meio da genotipagem dos seus parentais (Ajmone-Marsan et al., 1998; Drinic et al., 2002; Barbosa et al., 2003; Reif et al., 2003a). De maneira geral, os resultados encontrados na

literatura são bastante inconsistentes quanto à eficiência da predição do desempenho dos híbridos por meio de marcadores moleculares.

Os marcadores moleculares microssatélites ou SSR são indicados como os mais promissores para o estudo de diversidade genética e predição de híbridos, uma vez que apresentam herança Mendeliana e comportamento codominante, ou seja, permitem a identificação de genótipos homozigóticos e heterozigóticos na população. Além disso, já existe um grande conjunto de microssatélites disponíveis para a utilização em milho, muitos deles identificados como sendo associados a QTL para produtividade de grãos (Sibov et al., 2003).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de se produzir híbridos inter e intrapopulacionais a partir de populações  $S_0$  de híbridos simples comerciais e correlacionar as distâncias genéticas obtidas por meio de marcadores microssatélites entre as linhagens  $S_1$  parentais com a produtividade de grãos e heterose dos híbridos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Estrutura genética das espécies alógamas

Uma espécie é classificada como alógama quando apresenta cerca de 5% de autofecundação, ou seja, 95% de cruzamentos naturais. Estas espécies apresentam mecanismos para o favorecimento da alogamia que, no caso do milho, são a monoecia, em que as plantas apresentam sexos separados (pendão e espiga) e a protandria, na qual ocorre a liberação do pólen sem que o estigma esteja receptivo.

A estrutura genética destas espécies está em função do sistema de acasalamento, que se processa de maneira aleatória. Para um melhor entendimento dessa estrutura, será considerado um caráter controlado por apenas um loco com dois alelos  $B$  e  $b$ , cujas frequências em uma população são:  $f(B) = p$  e  $f(b) = q$ ; conseqüentemente, a soma destas frequências é 1. Com isso, têm-se gametas femininos com os alelos  $B$  e  $b$  e também gametas masculinos com os mesmos alelos. Como para esta espécie aceita-se que possa ocorrer até 5% de autofecundação, é necessário considerar o coeficiente de endogamia ( $F$ ), que mensura a quantidade de locos em homozigose nas populações.

Na ausência de endogamia ( $F = 0$ ), as frequências genotípicas são funções apenas das frequências alélicas e, nesse caso, a frequência do loco em heterozigose é máxima para  $p = q = 0,5$  (Tabela 1). Ao se considerar um nível qualquer de endogamia ( $F \neq 0$ ), ocorre uma redução na quantidade de locos em heterozigose e conseqüente aumento nos locos em homozigose.

TABELA 1. Genótipos e frequências genotípicas de uma população alógama.

Genótipos	Frequências genotípicas (F≠0)	Frequências genotípicas (F=0)
<i>BB</i>	$p^2 + Fpq$	$p^2$
<i>Bb</i>	$2pq - 2Fpq$	$2pq$
<i>bb</i>	$q^2 + Fpq$	$q^2$

Ao se estender a Tabela 1 para um maior número de locos e alelos, pode-se verificar que as populações alógamas apresentam parte dos locos em homozigose e parte dos locos em heterozigose, e suas proporções estão em função das frequências alélicas e da presença ou não de endogamia.

Para Falconer e Mackay (1996) considerando apenas um loco e na ausência de endogamia, seleção, mutação, deriva genética e migração, as frequências alélicas e genotípicas não se alteram no decorrer das gerações, fenômeno conhecido como Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Ocorrendo endogamia, e se este coeficiente não se alterar ao longo das gerações, as frequências alélicas e genotípicas também se mantêm constantes, ou seja, encontram-se em Equilíbrio de Wright. Para estas populações, ocorrendo endogamia, seleção, mutação, deriva genética e ou migração as frequências alélicas e genotípicas alteram-se ao longo das gerações, ou seja, as populações deixam o equilíbrio (Falconer e Mackay, 1996). No entanto, basta uma geração de intercruzamento, ao acaso, para que as populações voltem ao estado de equilíbrio.

Para Souza Jr. (2001), a alogamia tem uma série de conseqüências para o melhoramento genético, das quais podem-se citar:

- parte dos locos está em heterozigose, permitindo, dessa forma, que alelos recessivos deletérios ou letais estejam presentes (carga genética);

- as plantas não transferem seu genótipo para a descendência; ele é formado aleatoriamente em cada geração;
- a endogamia, usualmente praticada por meio da autofecundação, é utilizada normalmente e é onde a depressão por endogamia adquire maior importância;
- a variabilidade genética das populações está associada às diferenças entre plantas, envolvendo tanto os locos em homozigose quanto os em heterozigose;
- o melhoramento destas espécies é feito aumentando-se as frequências dos alelos favoráveis dos caracteres de importância econômica e ou agrônômica que serão submetidos à seleção.

O melhoramento de milho, visando a produção de híbridos, está baseado na identificação das melhores linhagens endogâmicas e posteriores cruzamentos entre estas para a obtenção de híbridos superiores. Estas linhagens apresentam redução no vigor e produtividade quando submetidas a sucessivos ciclos de autofecundação, devido à maior carga genética e à menor quantidade de locos em heterozigose.

## **2.2 Endogamia em milho**

Endogamia pode ser definida como sendo o excesso de homozigotos em relação à população em equilíbrio, em consequência de cruzamentos entre indivíduos aparentados. Este efeito já era conhecido pelas antigas civilizações e é devido a alelos recessivos deletérios em homozigose. Em milho, o fenômeno da endogamia leva a uma redução no vigor, produtividade e retardamento no florescimento. De acordo com Hallauer (1990), em média, a altura de plantas é reduzida em 25%, o número de dias para o florescimento

aumenta em 6,8% e a produtividade de grãos pode ser reduzida em até 68%, quando comparam-se linhagens endogâmicas com não endogâmicas.

Por meio da genética quantitativa, a depressão por endogamia pode ser quantificada pela redução na média, que ocorre devido a efeitos genéticos não aditivos. O incremento dos homozigotos ou o decréscimo na frequência dos genótipos heterozigóticos leva à endogamia, alcançando seu máximo com a autofecundação (Miranda Filho, 1999).

Uma maneira prática para a estimativa da depressão por endogamia pode ser visualizada por meio da seguinte expressão:

$$D = \frac{(\bar{F}_1 - \bar{S}_0)}{\bar{F}_1} * 100$$

em que:

$D$  : depressão por endogamia;

$\bar{F}_1$  : média do híbrido comercial;

$\bar{S}_0$  : média da população  $S_0$  do híbrido comercial.

Existem vários trabalhos que citam as estimativas de depressão por endogamia para várias características agronômicas, empregando diferentes populações em milho.

Hallauer e Sears (1973) avaliaram as modificações ocorridas em características agronômicas associadas à endogamia durante sete gerações de autofecundação da população *Iowa Stiff Stalk Syntetic* (BSSS). A produtividade de grãos foi reduzida em torno de 4.490 kg ha<sup>-1</sup> entre as gerações  $S_0$  e  $S_7$ , tendo a produtividade das linhagens  $S_3$  sido, em média, superior às linhagens  $S_6$  em 20%.

Good e Hallauer (1977) observaram taxas similares de depressão por endogamia em linhagens selecionadas da população BSSS, a partir de três sistemas de acasalamento: autofecundação, progênies de irmãos completos e a combinação de ambos. A redução na produtividade de grãos ficou em torno de 4.600 kg ha<sup>-1</sup> e detectou-se também um incremento de 5,2 dias para o caráter florescimento entre as gerações S<sub>0</sub> e S<sub>7</sub>.

Araújo e Gerage (2002) utilizaram nove híbridos comerciais de milho e quatro populações para estimar a depressão por endogamia. Estes genótipos foram semeados em esquema que possibilitasse obter os 78 híbridos para posterior avaliação em dialelo. Além disso, os treze genótipos foram autofecundados, obtendo-se a geração S<sub>1</sub>, que também foi avaliada. Observaram-se valores de depressão por endogamia de 20% a 66% entre os híbridos e de 42% a 62% entre as populações. De maneira geral, as populações apresentaram tendência de valores relativamente altos de endogamia devido, em parte, à pouca seleção realizada nestes genótipos.

Recentemente, Simon et al. (2004) utilizaram oito populações S<sub>0</sub> de milho-pipoca com o objetivo de obter estimativas de depressão por endogamia. Estas populações foram autofecundadas, obtendo-se as gerações S<sub>1</sub> que, juntamente com as populações S<sub>0</sub>, foram avaliadas em dois anos. As estimativas de depressão por endogamia variaram de 5,38% a 58,80%. Estas estimativas estão de acordo com as obtidas por Hallauer e Miranda Filho (1988) com milho comum.

De maneira geral, observa-se uma grande variação entre as estimativas de depressão por endogamia em diferentes populações de milho. Esta variação está associada, em parte, ao grau de parentesco entre os genótipos sendo que, quanto maior o relacionamento genético, mais expressivo é o valor da depressão por endogamia (Miranda Filho, 1999).

A exploração da heterose dentro de um programa de melhoramento de milho é fator crucial para o sucesso na obtenção de híbridos com desempenho

produtivo superior. A endogamia associada às linhagens e a heterose explorada nos cruzamentos têm sido à base do sucesso do milho híbrido.

### 2.3 Heterose em milho

A definição de heterose está associada ao vigor observado em cruzamentos entre indivíduos geneticamente divergentes, resultando no aumento, em valor, dos caracteres quantitativos observados nos híbridos em relação aos pais (Suresh e Khasma, 1975).

Do ponto de vista prático, a heterose é obtida em relação à média dos genitores ou ao genitor superior (heterobeltiose) ou ainda sobre as melhores testemunhas como, por exemplo, híbridos comerciais ou suas gerações avançadas (Suresh e Khasma, 1975).

O termo heterose ( $h$ ) ou vigor híbrido foi proposto por Shull (1948) e representa a superioridade da geração  $F_1$  em relação à média dos genitores, ou seja:

$$h = \overline{F_1} - \frac{(\overline{P_1} + \overline{P_2})}{2}$$

em que:

$h$  : heterose;

$\overline{F_1}$  : média do híbrido;

$\overline{P_1}$  : média do genitor 1;

$\overline{P_2}$  : média do genitor 2.

Existem várias hipóteses para explicar a heterose, algumas baseadas na dominância, ou seja, existe superioridade do heterozigoto como resultado do alelo deletério recessivo, encoberto pelo alelo dominante. Por outro lado, a

hipótese de sobredominância pressupõe que o heterozigoto é superior a ambos os homozigotos. Evidências atuais permitem afirmar que não ocorre a sobredominância (Crow, 2000). Além das interações alélicas de dominância, também as interações epistáticas são utilizadas para explicar a heterose (Goodnight, 1998).

De acordo com Falconer (1981), a heterose está em função do quadrado da diferença entre as frequências alélicas dos genitores, ou seja, da divergência genética e também dos efeitos de dominância dos alelos que controlam o caráter em questão.

Recentes estudos com marcadores moleculares associados a locos que controlam características quantitativas (QTL) têm indicado que, quando duas linhagens possuem diferentes conteúdos de DNA, isto é, divergência genética para locos de importância agrônômica, a heterose ocorre de maneira expressiva (Fu e Dooner, 2002).

Para o melhoramento do milho, o fenômeno da heterose é de grande importância para o desenvolvimento de híbridos cada vez mais produtivos e adaptados às mais diversas condições edafoclimáticas.

Para maximizar a heterose, as populações são alocadas em grupos heteróticos distintos e esses grupos heteróticos são formados incluindo-se populações, linhagens ou sintéticos, em grupos, de tal forma que, dentro de grupos, os cruzamentos não manifestem heterose ou esta heterose é muito baixa, enquanto que entre grupos os níveis de heterose são elevados.

Como a heterose só se manifesta quando as populações são divergentes geneticamente e quando o caráter tiver alto nível de dominância direcional (Falconer e Mackay, 1996), pode-se direcionar os cruzamentos para capitalizar a heterose nos híbridos e, conseqüentemente, os híbridos formados por cruzamentos de linhagens oriundas de diferentes grupos heteróticos apresentarão

desempenhos superiores daqueles híbridos formados por cruzamentos de linhagens oriundas do mesmo grupo heterótico (Hallauer et al., 1988).

Os grupos heteróticos são obtidos utilizando-se um delineamento genético apropriado, denominado de cruzamentos dialélicos, no qual uma série de genótipos são cruzados entre si, em todas as combinações possíveis. Este delineamento permite a estimativa da capacidade geral de combinação (CGC) e da capacidade específica de combinação (CEC) das linhagens.

Os conceitos das CGC e CEC são úteis na caracterização das linhagens em cruzamentos, estando a CGC associada aos efeitos aditivos dos alelos e a CEC aos efeitos não aditivos (dominância e epistasia). Os cruzamentos dialélicos têm sido muito utilizados no melhoramento de milho e se mostrado eficientes para detectar divergências genéticas entre linhagens e a alocação destas em grupos heteróticos distintos (Han et al., 1991; Gonzalez et al., 1997; Terron et al., 1997; Soengas et al., 2003).

Recentemente, marcadores moleculares têm sido empregados para a alocação de linhagens de milho em grupos heteróticos. De maneira geral, a alocação de linhagens em grupos heteróticos distintos com base em marcadores moleculares têm confirmado a alocação destas mesmas linhagens em grupos heteróticos por meio de dialelos.

Lübberstedt et al. (2000) genotiparam 51 linhagens representativas dos grupos heteróticos *dent* e *flint*, com oito combinações de *primers* AFLP, com o objetivo de investigar a utilidade deste marcador em alocar linhagens em grupos heteróticos. A análise de coordenadas principais das similaridades genéticas permitiu observar um claro agrupamento das linhagens em dois grupos distintos: grupo *flint* e grupo *dent*. Foi observada uma alta correlação entre a similaridade genética obtida por meio de AFLP e dados de genealogia ( $r = 0,84$ ,  $P < 0,01$ ).

Reif et al. (2003a) genotiparam 20 populações de milho com 83 marcadores microsátélites (SSR), sendo cinco subtropicais, duas temperadas,

onze subtropicais intermediárias, duas populações temperadas intermediárias e duas subtropicais adaptadas, mantidas pelo CIMMYT. Os valores de distâncias genéticas foram correlacionados com dados de heterose, obtidos por meio de cruzamentos dialélicos entre estas populações. Os valores de correlação foram positivos e significativos, variando de 0,18 a 0,56. Observou-se a formação de dois grupos heteróticos distintos, um composto pelas populações subtropicais e outro pelas temperadas.

Pinto et al. (2003) genotiparam 18 linhagens  $S_3$  derivadas das populações BR-105 e BR-106 com marcadores RFLP com o objetivo de alocar estas linhagens em grupos heteróticos. Estas mesmas linhagens foram intercruzadas em esquema dialélico inter e intrapopulacional, no qual avaliou-se a produtividade de grãos e foram estimadas a capacidade geral de combinação e a capacidade específica de combinação. Observou-se que a alocação destas linhagens em grupos heteróticos, com base em RFLP, foi muito similar às estimativas por meio de cruzamentos dialélicos.

A associação da endogamia das linhagens, da heterose capitalizada com os cruzamentos e de grupos heteróticos, alocando as linhagens em grupos bem definidos, são fatores chave para o progresso genético do milho nas últimas décadas.

#### **2.4 Relacionamento entre distância genética e heterose**

Dentro de um programa de melhoramento, o conhecimento da distância genética entre genótipos é muito útil porque permite uma melhora na eficiência da amostragem e utilização de germoplasma. Os melhoristas podem fazer uso desta informação no momento de tomar decisões, como a escolha de genótipos para o desenvolvimento de populações, alocação de grupos heteróticos ou, mesmo, para facilitar a identificação de diversos genitores para a obtenção de combinações híbridas, com o objetivo de maximizar a expressão da heterose (Cheres et al., 2000).

Considerando duas populações  $\pi_1$  e  $\pi_2$ , em equilíbrio de Hardy-Weinberg, e sua população híbrida  $\pi_1 \times \pi_2$  e assumindo dois alelos por loco com ausência de epistasia, obtém-se o seguinte relacionamento entre as médias destas populações (Falconer e Mackay, 1996):

$$\Delta H(\pi_1 \times \pi_2) = \mu_{\pi_1 \times \pi_2} - (\mu_{\pi_1} + \mu_{\pi_2}) / 2 = \sum_i y_i^2 d_i = \sum_i DMR_i^2(\pi_1 \times \pi_2) d_i$$

em que  $\Delta H$  é a variação na heterose,  $d_i$  é o efeito de dominância do locus  $i$ ,  $y_i$  é a diferença da frequência alélica e  $DMR_i^2(\pi_1 \times \pi_2)$  corresponde ao quadrado da distância modificada de Roger do locus  $i$  entre  $\pi_1$  e  $\pi_2$ . Conseqüentemente, com dominância direcional ( $d_i > 0$ ), é esperado um incremento na heterose com o aumento da distância genética entre  $\pi_1$  e  $\pi_2$  (Falconer, 1981). Com isso, a DMR é especialmente indicada para estudos que tenham como objetivos a predição da heterose, por meio da dissimilaridade genética entre indivíduos e o estabelecimento de grupos heteróticos (Reif et al., 2005).

Melchinger (1999), revisando o trabalho de Dhillon et al. (1993) com grupos heteróticos, observou um incremento de 19% na distância genética média entre os genitores, 33% na heterose e 16% na produtividade de grãos dos híbridos entre grupos heteróticos sobre os híbridos obtidos dentro do mesmo grupo heterótico. Para o autor, isto implica que a endogamia pode afetar as médias dos híbridos intra, porém, não de intergrupos heteróticos. Conseqüentemente, a alta intensidade de seleção dentro de cada grupo heterótico não é prejudicial para as médias dos híbridos intergrupos, pelo menos em curto prazo.

De acordo com os resultados de Moll et al. (1962 e 1965), citados por Melchinger (1999), existe um nível ótimo para a distância genética entre genitores sendo que, após este valor, ambos, heterose e desempenho dos híbridos, declinam em função da falta de adaptação dos mesmos.

A distância genética entre linhagens, obtida com marcadores moleculares, tem sido considerada uma alternativa viável para predições do desempenho de híbridos e das heteroses dos cruzamentos. O seu princípio está na associação entre heterose e medidas indiretas de diversidade genética para cruzamentos entre linhagens de milho ou mesmo para cruzamentos inter-raciais (Hallauer et al., 1988). Dessa forma, reduzindo-se o nível heterozigótico, normalmente ocorre uma redução no desempenho e vigor, causada pela depressão por endogamia.

Baseados na hipótese de associação entre heterose e a frequência de locos heterozigóticos afetando a característica, Hallauer et al. (1988) sugeriram a predição da heterose com base em marcadores moleculares. Da mesma forma, Árcade et al. (1996), considerando a participação da heterozigosidade no fenômeno da heterose, sugerem um potencial preditivo da heterose baseada na quantificação da distância genética entre os genitores.

## **2.5 A utilização de híbridos e o progresso genético em milho**

Os primeiros trabalhos de melhoramento com milho foram realizados por East (1908) e Shull (1909), que relataram, isoladamente, a perda de vigor das plantas devido a sucessivas autofecundações e a sua restauração por meio da hibridação. Uma grande limitação à aplicabilidade desta técnica era o seu alto custo, em função da baixa produtividade das linhagens e, por este motivo, não foi imediatamente disseminada entre os agricultores.

Jones (1918) sugeriu o cruzamento entre dois híbridos simples, obtendo-se, com isso, um híbrido duplo. A partir desse momento, a produção de sementes híbridas tornou-se economicamente viável e de amplo uso entre os agricultores.

Nos Estados Unidos da América, o primeiro híbrido duplo de milho foi lançado entre os anos de 1920 e 1930 e superava as variedades de polinização aberta da época em produtividade, além de apresentar maior estabilidade e tolerância às condições edafoclimáticas adversas. Por volta dos anos de 1950, aproximadamente 100% da área cultivada com milho eram compostas de híbridos duplos (Hallauer, 1990).

No Brasil, os primeiros trabalhos com híbridos de milho foram realizados pelo Instituto Agrônomo de Campinas, que lançou o primeiro híbrido duplo brasileiro em 1939.

Com o progressivo melhoramento genético das linhagens, a utilização de híbridos simples tornou-se viável economicamente. Já a partir de 1970, praticamente todo o milho cultivado nos EUA era de híbridos simples. No Brasil, existe uma tendência de substituição dos híbridos duplos pelos simples, como ocorreu nos EUA.

Em relação ao progresso genético, Vencovsky e Ramalho (2000) encontraram valores médios de  $71 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$  no Brasil. Já Duvick (1994), avaliando híbridos comercializados nos EUA entre os anos de 1934 e 1991, observou um incremento em produtividade, médio, de 1% ao ano, sem indicativo de estabilização neste patamar. Em parte, a manutenção dos ganhos genéticos no milho, neste patamar, deve-se à correta seleção de populações para a extração de linhagens promissoras.

## **2.6 Tipos de híbridos de milho**

De maneira geral, os tipos de híbridos podem ser divididos em duas categorias: híbridos normais e híbridos modificados. Os primeiros são

produzidos por meio de linhagens não relacionadas e os modificados por meio de linhagens aparentadas (Souza Jr., 2001).

Quanto aos híbridos normais, existem basicamente três tipos: híbridos simples, duplos e triplos. Os híbridos simples são o produto do cruzamento de duas linhagens; os híbridos duplos, o produto do cruzamento de dois híbridos simples e os híbridos triplos, obtidos pelo cruzamento de um híbrido simples e uma linhagem. Têm-se dois tipos de híbridos triplos: o tipo I, em que o híbrido simples é obtido da população 1 e a linhagem oriunda da população 2 e o tipo II, no qual o híbrido simples é obtido da população 2 e a linhagem oriunda da população 1.

Os híbridos modificados podem ser divididos em simples e triplos modificados. Os híbridos simples modificados podem ser do tipo I, quando as duas linhagens genitoras são modificadas; tipo II, quando uma linhagem modificada oriunda da população 1 é cruzada com uma linhagem pura da população 2 e tipo III, quando uma linhagem pura oriunda da população 1 é cruzada com uma linhagem modificada da população 2. Os híbridos triplos modificados podem ser do tipo I, no qual a linhagem modificada oriunda da população 2 é cruzada com o híbrido simples da população 1, e tipo II, em que a linhagem modificada oriunda da população 1 é cruzada com o híbrido simples da população 2 (Souza Jr., 1992).

De acordo com Souza Jr. (2001), as populações de espécies alógamas apresentam elevada depressão por endogamia e, por este motivo, as linhagens endogâmicas geralmente possuem baixa produtividade. Para contornar este problema, os híbridos duplos e triplos foram propostos, uma vez que, ao contrário dos híbridos simples, as sementes destes híbridos são colhidas de híbridos simples, que são mais produtivos que linhagens, já que a depressão por endogamia é nula.

## 2.7 Seleção de populações para a obtenção de linhagens

O sucesso de um programa de melhoramento está associado à seleção de populações para a obtenção de linhagens. De maneira geral, o desempenho de um híbrido qualquer é função:  $\bar{F}_1 = m + a + d$ , em que  $m + a$  representa a contribuição dos locos em homozigose já fixados e  $d$  está associado ao desvio dos heterozigotos em relação à média (Souza Jr., 2001). Com isso, um bom híbrido depende de uma média alta entre os pais ( $m + a$ ) e do grau de divergência entre os mesmos.

Vencovsky (1987) propôs uma forma prática de obtenção da contribuição dos locos em homozigose ( $m + a$ ) por meio da avaliação simultânea das gerações  $S_0$  e  $S_1$ , fazendo-se o contraste  $2S_1 - S_0$ .

Em relação à divergência genética entre as linhagens parentais ( $d$ ), esta pode ser estimada por meio de caracteres morfológicos (Amorim, 2002), marcadores moleculares (Amorim et al., 2003) e cruzamentos dialélicos (Souza Sobrinho et al., 2002).

A extração de linhagens pode ser implementada desde variedades de polinização aberta até híbridos simples comerciais. Estes últimos apresentam a vantagem de já terem sido testados em vários ambientes, associando, dessa forma, alta produtividade com grande proporção de locos favoráveis já fixados.

Lima et al. (2000) avaliaram 169 famílias  $S_{0,1}$ , as gerações  $F_1$ ,  $S_0$  e  $S_1$  dos híbridos DKB333B, Z8392 e AG1051. Os autores relatam que a variação para  $m + a$  oscilou entre  $3,64 \text{ t ha}^{-1}$  para o híbrido Z8392 a  $6,51 \text{ t ha}^{-1}$  para o híbrido AG1051. Para os autores, linhagens superiores poderiam ser obtidas a partir do híbrido AG1051.

Um trabalho semelhante foi realizado por Bison et al. (2003), avaliando o potencial dos híbridos simples comerciais AG9012 e DKB333 como fontes para a extração de linhagens. Os autores avaliaram 169 famílias  $S_{0,1}$  obtidas a

partir de dois híbridos comerciais. Em função das estimativas de média, herdabilidade e ganhos esperados com a seleção, concluiu-se que as duas populações são ótimas alternativas para a extração de linhagens, em especial a população derivada do híbrido DKB333.

Comparando-se populações de híbridos comerciais com as variedades de polinização aberta (VPA), ainda muito utilizadas como fontes de linhagens, fica fácil perceber que as primeiras são superiores às VPA, visto que as mesmas, geralmente, são pouco melhoradas. Com isso, são necessários trabalhos adicionais de melhoramento, o que conduz a um maior aporte financeiro e tempo para a obtenção das linhagens.

Do exposto, conclui-se que os híbridos simples comerciais são germoplasmas prioritários para a extração de linhagens em um programa de melhoramento, já que foram extensivamente melhorados, tendo acumulados vários alelos desejáveis. Com isso, o trabalho do melhorista é diminuído, principalmente nas empresas privadas, onde a pressão por novos lançamentos de híbridos é muito grande.

Recentemente, tem sido proposta a utilização de linhagens com endogamia intermediária ( $0 < F < 1$ ) para a obtenção de híbridos. Esta metodologia tem como objetivo reduzir os problemas relacionados com a depressão por endogamia que ocorre com as sucessivas gerações de autofecundação, conduzindo à redução no vigor e à queda na produtividade (Souza Jr., 2001).

Linhagens  $S_0$  ou  $S_1$  ainda apresentam variabilidade genética dentro, o que poderia inviabilizar a sua manutenção. Por outro lado, Carlone e Russel (1988) observaram que a produção de sementes de linhagens  $S_2$  pode ser até 70% superior à de linhagens  $S_8$  delas derivadas, indicando com isso seu uso para a obtenção de híbridos. Os autores ainda destacaram que estas linhagens apresentam menor interação genótipos por ambientes, quando comparadas com linhagens com alto grau de endogamia.

Bernardo (1991) demonstra que a correlação entre o desempenho de um indivíduo em gerações precoces ( $n$ ) e do seu respectivo genótipo em gerações avançadas ( $n'$ ) ( $r_{Fn}G_n$ ) é representada pela expressão  $r_{Fn}G_n = r_{Fn}G_n h_n$ , o que significa que esta correlação é função da raiz quadrada da herdabilidade na geração precoce e do desempenho das progênies nas gerações  $n$  e  $n'$ . Esta correlação é igual a 0,87 para linhagens  $S_2$ , 0,94 para  $S_3$  e 0,97 para  $S_4$ . A partir de  $S_3$ , a correlação com a geração  $S_\infty$  pode ser considerada muito elevada (0,94).

Na mesma época, Souza Jr. (1992) demonstrou que as diferenças entre as variâncias genéticas dos híbridos simples de linhagens  $S_3$  ( $F = 0,75$ ) e de linhagens  $S_\infty$  ( $F = 1$ ) são pequenas, em especial a variância aditiva, como pode ser visualizado na Tabela 2.

Souza Jr. (1995) avaliou o comportamento de 80 híbridos simples obtidos a partir de oito linhagens  $S_3$  da população BR105 e dez da população BR106. O autor verificou que 27 híbridos  $S_3 \times S_3$  superaram a média dos cinco híbridos comerciais utilizados como testemunhas superiores e que seis híbridos  $S_3 \times S_3$  superaram a testemunha superior, um híbrido simples comercial.

Ao avaliar 90 progênies  $S_2$  de cada uma das populações de milho BR106 e IAPAR-26, Araújo (2000) verificou que a maior média de um híbrido  $S_2$  foi 15,6% superior à média do híbrido P3041 utilizado como testemunha e 35,1% superior à média das populações parentais.

Carvalho et al. (2003), conduzindo um experimento de avaliação de 135 híbridos obtidos a partir de progênies  $S_2$  nos estados de Minas Gerais e Roraima, verificaram que 17% dos híbridos  $S_2 \times S_2$  superaram o híbrido DKB333B utilizado como testemunha enquanto que 46% superaram a média do híbrido duplo comercial C-435.

TABELA 2. Coeficientes de variâncias genéticas interpopulacionais de híbridos simples (HS), duplos (HD) e triplos (HT) obtidos de linhagens completamente endogâmicas, comparados com híbridos simples obtidos de linhagens com diferentes graus de endogamia. Adaptado de Souza Jr. (1992).

Tipos de linhagens	$F$	Variância genética		
		$\sigma_{A12}^2$	$\sigma_{A21}^2$	$\sigma_{D12}^2$
S <sub>1</sub> (HS)	0,00	0,2500	0,2500	0,2500
S <sub>2</sub> (HS)	0,50	0,3750	0,3750	0,5625
S <sub>3</sub> (HS)	0,75	0,4375	0,4375	0,7656
S <sub><math>\alpha</math></sub> (HS)	1,00	0,5000	0,5000	1,0000
S <sub><math>\alpha</math></sub> (HT)	1,00	0,5200	0,5000	0,5000
S <sub><math>\alpha</math></sub> (HD)	1,00	0,2500	0,2500	0,2500

$\sigma_{A12}^2$ : variância genética aditiva interpopulacional com a população 1 de referência;

$\sigma_{A21}^2$ : variância genética aditiva interpopulacional com a população 2 de referência;

$\sigma_{D12}^2$ : variância genética dominante interpopulacional;

$F$ : coeficiente de endogamia.

Oito híbridos de milho obtidos a partir de linhagens parcialmente endogâmicas S<sub>3</sub> foram avaliados em nove municípios do estado de Goiás, utilizando-se como testemunhas duas variedades (V), dois híbridos simples (HS), dois híbridos duplos (HD) e dois híbridos triplos (HT) (Salin-Neto et al., 2004). A média dos híbridos S<sub>3</sub> x S<sub>3</sub> foi semelhante à média das testemunhas. Por outro lado, comparando-se a média dos três híbridos S<sub>3</sub> x S<sub>3</sub> mais produtivos verificou-se que esta foi superior em 7%, 16%, 21% e 27% para os HS, HT, HD e V, respectivamente.

Os híbridos de linhagens parcialmente endogâmicas são uma alternativa aos híbridos tradicionais, uma vez que, por não ser necessária a condução das linhagens até a homozigose completa, o tempo dispensado para a obtenção de sementes é sensivelmente reduzido, possibilitando com isso o fornecimento de

sementes de qualidade a um custo mais acessível para pequenos produtores rurais que hoje não têm acesso a híbridos de qualidade, em função do seu alto custo.

## **2.8 Predição do desempenho de híbridos de milho por meio de marcadores bioquímicos e moleculares**

No século XX, dados isoenzimáticos, em combinação com cromatográfica de zeínas, foram utilizados para examinar a diversidade genética em germoplasma de milho. Estes estudos tiveram grande impacto na análise da pureza dos híbridos como descritores adicionais para a identificação de cultivares e linhagens.

Além disso, pesquisas também foram conduzidas para avaliar a utilidade das isoenzimas como critério de seleção e predição, obtendo-se resultados variados (Gonella et al., 1978; Frei et al., 1986; Lankey et al., 1987; Messmer et al., 1992).

As isoenzimas foram utilizadas extensivamente nas análises de milho, porém este marcador apresenta algumas limitações. Dentre elas destacam-se o pequeno número de locos amostrados, poucos locos polimórficos no germoplasma elite, pequeno número de sistemas isoenzimáticos disponíveis, não cobertura completa do genoma e influência ambiental sobre a atividade enzimática (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Com o advento das modernas técnicas de biologia molecular, surgiram diversos marcadores moleculares que detectam polimorfismo genético diretamente ao nível de DNA. Para Milach (1998), estes marcadores podem ser classificados em dois grupos: hibridização e amplificação de DNA. Entre os identificados por hibridização estão os marcadores RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e minissatélites ou locos VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*). Já os revelados por amplificação do DNA

incluem os marcadores do tipo RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*), STS (*Sequence Tagged Sites*) ou ASA (*Amplified Specific Amplicon*), microsátélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*).

Com os marcadores de DNA, vários trabalhos têm sido feitos com o objetivo de prever o desempenho de híbridos por meio da genotipagem dos seus genitores. De maneira geral, os resultados encontrados na literatura são bastante inconsistentes quanto à eficiência da predição do desempenho dos híbridos por meio de marcadores moleculares (Souza Jr., 2004).

Para Melchinger (1999), nos cruzamentos intragrupos, as correlações entre as distâncias genéticas (DG) dos parentais com a produção de grãos dos híbridos simples e suas heteroses (h) variam de moderadas a altas. Esta observação pode estar associada aos seguintes fatores: um oculto relacionamento entre alguns genitores considerados como sendo não relacionados, baseados em dados de genealogia e a presença de uma mesma fase de ligação entre QTL e marcador nos genitores, a qual resulta em uma covariância positiva entre DG e h. Já para os cruzamentos intergrupos, a correlação DG e h, normalmente, é baixa, em função de diferentes fases de ligação entre QTL e marcador nos parentais, levando a valores positivos e negativos que se cancelam, deixando de contribuir para a covariância entre DG e h.

Smith et al. (1994) demonstraram que dados gerados a partir de 20 *primers* AFLP, em 35 linhagens endogâmicas de milho apresentaram uma correlação de 0,91 com a produção de grãos e 0,84 com a heterose de híbridos simples. Por outro lado, Lanza et al. (1997) encontraram valores de correlação baixos entre as distâncias genéticas e a produção de grãos dos híbridos simples obtidos a partir de 18 linhagens genotipadas com marcadores RAPD.

Ao avaliarem 13 linhagens endogâmicas de milho, utilizando 209 AFLP e 135 RFLP, Ajmone-Marsan et al. (1998) encontraram correlações entre distâncias genéticas e desempenho dos  $F_1$  para a produção de grãos positivas, porém, de baixo valor preditivo; entretanto, a correlação entre distâncias genéticas e capacidades específicas de combinação, para produção de grãos, foi alta, apresentando, dessa forma, valor preditivo.

Barbosa et al. (2003) genotiparam linhagens  $S_3$  derivadas das populações BR-105 e BR-106 com marcadores AFLP e SSR. As linhagens foram inter cruzadas em esquema dialelo, obtendo-se híbridos intra e interpopulacionais, que foram avaliados em três locais do estado de São Paulo. Coeficientes de correlação da distância genética com produtividade de grãos e heterose foram altos para BR-106 x BR-106 ( $r = 0,91$  para AFLP e  $0,82$  para SSR), moderados para BR-105 x BR-105 ( $r = 0,52$  para AFLP e SSR) e baixos para BR-106 x BR-105 ( $r = 0,29$  para AFLP e  $0,16$  para SSR). A baixa correlação interpopulacional, provavelmente, está associada à pequena variação na distância genética entre os genitores causada, por uma prévia seleção para capacidade de combinação.

Benchimol et al. (2000), trabalhando com as mesmas populações, já haviam observado valores de correlação de  $0,40$  e  $0,83$  entre as distâncias genéticas e o desempenho dos híbridos intrapopulacionais das populações BR-105 e BR-106, respectivamente. A correlação entre distância genética e o desempenho dos híbridos interpopulacionais BR-106 x BR-105 foi de  $0,19$ .

Parentoni et al. (2001) avaliaram 378 híbridos obtidos a partir de 28 variedades de polinização aberta em dez ambientes no Brasil. Estas variedades foram genotipadas com 50 marcadores RAPD, com o objetivo de correlacionar a capacidade específica de combinação com a distância genética entre os genitores. A correlação encontrada foi baixa e positiva ( $r = 0,16$ ). Para os

autores, uma possível causa desta baixa correlação está associada à não utilização de marcadores ligados a QTL para produtividade de grãos.

Com o objetivo de investigar o relacionamento entre heterose e distância genética, determinada por meio de microsátélites, Reif et al. (2003b) genotiparam sete populações de milho. Estas populações foram cruzadas em esquema dialelo e os híbridos avaliados em sete locais em relação a produtividade de grãos. A correlação foi alta e significativa nos cruzamentos intergrupos ( $r = 0,63$ ) e, segundo os autores, estes resultados vêm de encontro aos obtidos por Melchinger (1999), que indicava a associação entre heterose e distância genética somente nos cruzamentos intragrupos.

Resultado semelhante foi encontrado por Drinic et al. (2002) quando genotiparam doze linhagens de diferentes origens, agrupadas em dois grupos, segundo sua maturidade, com marcadores SSR. As linhagens foram cruzadas em esquema dialelo inter e intragrupos e seus híbridos avaliados em dois locais por dois anos. Os autores observaram que não houve uma tendência de maior associação entre produtividade de grãos e distância genética nos cruzamentos intragrupos. Estes resultados indicam que o agrupamento das linhagens em grupos heteróticos, com base em marcadores moleculares, não melhora a correlação entre a heterose e a distância genética nos cruzamentos inter ou intragrupos.

É uma prática muito comum, em estudos para a estimativa da distância genética, que um conjunto de marcadores moleculares que cubram o genoma seja prioridade. No entanto, estes marcadores, na maioria das vezes, não estão associados a QTL influenciando diretamente a característica alvo da seleção.

## 2.9 Mapeamento de QTL associados a características agronômicas

A grande maioria das características agronômicas de interesse apresenta variação fenotípica e distribuição contínua. Esta distribuição está associada ao seu controle genético e à interação com o ambiente. Vários locos interagem, resultando na expressão de uma determinada característica como, por exemplo, produtividade de grãos, crescimento volumétrico e precocidade. Esses locos são denominados “QTL, do inglês *Quantitative Trait Loci*”, ou seja, locos controladores de características quantitativas. De maneira geral, QTL é a região genômica identificada por um marcador molecular que pode conter um ou mais locos quantitativos.

De maneira geral, os caracteres quantitativos são estudados por análises estatísticas baseadas no fato de que a variabilidade na expressão de um caráter resulta de vários locos segregantes que interagem com o ambiente (Fisher, 1918). Segundo Tanksley (1993), utilizando cruzamentos controlados entre pais com fenótipos contrastantes, os melhoristas estimam a herdabilidade, o número de locos relevantes, o grau de dominância, a aditividade e a heterose e também as interações gene por gene e gene por ambiente. Os resultados destes estudos fornecem informações preciosas para o progresso genético em programas de melhoramento.

Porém, estes estudos não permitem a análise do comportamento de QTL individualmente. Com o advento dos mapas genéticos, começa a ser possível analisar a variação de um caráter quantitativo em fatores individuais, isto é, analisa-se os QTL envolvidos na variação do caráter em determinadas regiões cromossômicas, assim como estimar seus efeitos (Malosseti et al., 2004).

É necessário deixar claro que o mapeamento de QTL apresenta, ainda, algumas limitações. Entre elas podem-se destacar: a necessidade de mapas suficientemente saturados com marcadores, a dificuldade de mapear

individualmente QTL múltiplos em um mesmo grupo de ligação e o tamanho das populações de mapeamento, que precisa ser relativamente grande para cobrir locos de pequeno efeito.

Alguns modelos biométricos já estão disponíveis, com poder para identificar e quantificar o efeito de QTL sobre um determinado caráter.

O método de mapeamento por intervalo simples (Lander e Botstein, 1989) detecta QTL dentro de uma região limitada por dois marcadores ligados e foi o primeiro método proposto, servindo como base para os atuais modelos. O método de mapeamento por intervalo composto (Zeng, 1994) condiciona o teste para um QTL em determinado intervalo a outros marcadores selecionados, com o objetivo de minimizar efeitos de outros QTL no genoma. Ambos os métodos detectam QTL em regiões genômicas separadamente, o que é uma limitação. Recentemente, Kao e Zeng (1999) propuseram o mapeamento por intervalo múltiplo, que considera efeitos pleiotrópicos entre QTL próximos.

Sax (1923) foi o primeiro pesquisador a mapear QTL, indicando que o tamanho das sementes de feijão estava associado com sua cor. Dessa forma, se a segregação de um caráter monogênico simples, como a cor da semente, segundo o autor, poderia ser utilizada para detectar ligações com QTL, portanto, poderia eventualmente ser possível mapear e caracterizar todos os QTL envolvidos com caracteres complexos, como o tamanho das sementes de feijão.

Em milho, várias regiões do genoma têm sido associadas a QTL como, por exemplo, a resistência a estresses bióticos e abióticos, caracteres morfológicos e produtividade de grãos (Khairallah et al., 1989; Ajmone Marsan et al., 1995; Ribaut et al., 1997; Frova et al., 1999; Sibov et al., 2003).

Em relação ao mapeamento de QTL associados aos componentes de produção, vários trabalhos foram realizados (Graham et al., 1997; Austin e Lee, 1998; Melchinger et al., 1998; Sanguineti et al., 1999; Frova et al., 1999). Em

resumo, estes trabalhos utilizam um número de plantas variável entre 100 a 300 e os tipos de populações incluem  $F_2$ , retrocruzamentos ou linhagens recombinantes. O número de QTL variou de três a oito e a porcentagem da variação fenotípica explicada por cada um de 5% a 35%. Cabe salientar que estes trabalhos foram realizados com germoplasma temperado, principalmente do cinturão de milho norte-americano. Estas linhagens são oriundas de grupos heteróticos bem definidos e de estreita base genética.

Grande parte das populações de milho tropical utilizadas em programas de melhoramento deriva de diferentes populações e compostos, sendo populações de ampla base genética e com maior variabilidade do que os germoplasmas temperados (Sibov et al., 2003). Este fato pode limitar a utilização direta de QTL identificados em germoplasma temperado nos programas de melhoramento de milho tropical. Outro fator limitante está associado a poucas indicações de interação genótipos por ambientes, para os caracteres analisados em germoplasma temperado.

QTL para produção detectados por Ribaut et al. (1997) com material tropical, em ambientes simulando três diferentes condições de estresse hídrico, não foram estáveis em relação à sua localização genômica e percentual de explicação da variação fenotípica. Estes resultados indicam que diferentes conjuntos gênicos podem estar relacionados com o controle da produção de grãos nos diferentes ambientes tropicais sendo, necessário, dessa forma, trabalhos de mapeamento de QTL no germoplasma de milho tropical.

Recentemente, Sibov et al. (2003) identificaram locos de características quantitativas (QTL) para produção de grãos (PG), altura de planta (AP) e altura de espiga (AE) em uma população de milho tropical. A partir das plantas  $F_2$ , 400 progênies  $F_{2:3}$  foram derivadas e avaliadas em experimentos de campo, com duas repetições, em cinco ambientes do estado de São Paulo, Brasil. Detectaram-se 13 QTL para os caracteres avaliados, sendo quatro para PG, quatro para AP e cinco

para AE. Estes QTL explicaram 33%, 25% e 21% da variação fenotípica para PG, AP e AE, respectivamente. QTL para AP e AE foram localizados próximos de locos com efeitos quantitativos para PG, indicando possíveis efeitos pleiotrópicos ou ligação entre esses locos.

Uma estratégia que pode ser utilizada para uma maior eficiência na predição do desempenho de híbridos é a seleção de marcadores que estejam associados com QTL para produtividade de grãos previamente mapeados. Com isso, a seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) pode tornar-se rotineira em um programa de melhoramento genético de milho.

## **2.10 Seleção assistida por marcadores moleculares**

O melhoramento clássico faz uso da seleção baseada em características fenotípicas e tem alcançado espetaculares resultados ao longo dos anos. É evidente que esta metodologia continuará a contribuir para o desenvolvimento da agricultura. Por outro lado, a utilização de marcadores moleculares poderia eliminar certos aspectos indesejáveis da seleção puramente fenotípica, melhorando a eficiência do processo de seleção (Charcosset e Moreau, 2004).

A seleção assistida por marcadores moleculares é uma forma de seleção indireta, na qual o caráter indireto apresenta herdabilidade igual a 100%, uma vez que marcadores moleculares não são influenciados pelo ambiente. Esta metodologia pode ser melhor entendida por meio da equação de ganho genético descrita a seguir:

$$G = \frac{k\sigma_A^2}{y\sqrt{(\sigma_e^2 + \sigma_{ge}^2 + \sigma_g^2)}}$$

em que:

$G$  : ganho genético,  $k$  : diferencial de seleção,  $y$  = número de anos por ciclo de seleção,  $\sigma_A^2$  = variância aditiva,  $\sigma_e^2$  = variância de ambiente,  $\sigma_{ge}^2$  = variância da interação genótipos por ambientes e  $\sigma_g^2$  = variância genética.

Os marcadores moleculares podem incrementar a eficiência no melhoramento de plantas, atuando em vários componentes presentes na equação.

Como os marcadores não são influenciados pelo ambiente, a variância de ambiente e da interação genótipos por ambientes pode ser eliminada. Em adição, desde que a seleção seja praticada diretamente no genótipo, o diferencial de seleção e a variância aditiva poderão ser levados ao extremo.

No caso de marcadores codominantes SSR, a variância aditiva poderá ser extrapolada ao máximo. A ausência de epistasia em marcadores moleculares também poderá possibilitar a seleção para vários caracteres ao mesmo tempo. Cabe destacar que, neste caso, está se desconsiderando a epistasia entre QTL e a interação QTL por ambientes.

O número de anos para o processo de seleção poderá ser reduzido drasticamente, uma vez que vários ciclos de seleção poderão ser praticados a cada ano (Barbosa Neto, 1998).

No entanto, para o emprego da seleção assistida por marcadores moleculares, é necessário o mapeamento de caracteres de interesse agrônomico, de forma a maximizar a correlação genética. Este procedimento é demorado e requer a construção de mapas de ligação genética com as regiões de interesse saturadas de marcadores (Melchinger et al., 2004). É importante salientar o alto custo envolvido na utilização desta tecnologia.

Caracteres de alta herdabilidade e de fácil avaliação pelo melhorista podem não ser apropriados para a utilização da SAM, uma vez que a avaliação direta do caráter é eficiente para a separação das diferentes classes de

genótipos e o custo envolvido na análise com marcadores moleculares não implicará em maior eficiência no melhoramento. Em geral, caracteres de baixa herdabilidade ou de difícil avaliação, como tolerância ao alumínio e resistência a nematóides, são considerados preferenciais para a SAM.

Para caracteres governados por um grande número de genes de pequeno efeito sobre o caráter (poligenes), a seleção assistida não tem produzido resultados práticos. A dificuldade em definir quais marcadores devem ser empregados e o efeito do ambiente na análise dos QTL têm dificultado o avanço desta técnica em programas de melhoramento de plantas. No entanto, alguns trabalhos têm sido publicados com a seleção assistida para produtividade de grãos em milho apresentando resultados satisfatórios (Melchinger et al., 1998; Khairallah et al., 1998; Yousef et al., 2001).

### **2.11 Marcadores microssatélites (SSR)**

Microssatélites ou SSR, do inglês *Simple Sequence Repeats*, são seqüências de DNA com dois a seis pares de bases de comprimento repetidas em tandem. Os primeiros relatos da sua existência foram descritos no genoma humano, no qual estão presentes em um grande número de cópias (Litt e Luty, 1989).

Em plantas, os microssatélites foram relatados pela primeira vez por Weising et al. (1989). Os autores observaram que oligonucleotídeos contendo elementos repetidos de TG e GATA/GACA detectavam polimorfismo quando utilizados com sondas de RFLP.

No genoma vegetal, os microssatélites são largamente distribuídos com uma freqüência de um a cada 50 mil pares de bases, sendo o elemento mais repetido o dinucleotídeo AT (Morgante e Olivieri, 1993).

O número de repetições em tandem de um microssatélite geralmente é variável, enquanto que a seqüência de bases adjacentes ao microssatélite pode

ser única no genoma e conservada entre diferentes indivíduos da mesma espécie. Sendo assim, pode-se desenhar *primers* específicos para as seqüências adjacentes a um dado microssatélite, de forma que, por meio de uma reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), seja possível amplificar este loco em diferentes genótipos. Como o número de unidades repetidas em tandem em um microssatélite pode ser variável entre diferentes genótipos, os produtos de amplificação dos diferentes indivíduos exibirão polimorfismo no tamanho do fragmento amplificado, o que é a base da genotipagem com SSR.

Não existe uma explicação definitiva sobre a variação encontrada no número de unidades repetidas. Acredita-se que ela seja causada por falhas na recombinação do DNA ou no processo de replicação. Esta variação leva à existência de vários alelos em uma população, podendo o nível de heterozigosidade ser extremamente alto. Aliado a isso, os SSR possuem herança Mendeliana e comportamento codominante, ou seja, permitem a identificação de genótipos homozigotos e heterozigotos na população.

O desenvolvimento de marcadores SSR requer um alto investimento inicial, sendo que, a partir da obtenção de um conjunto de SSR, a sua aplicabilidade torna-se extremamente viável.

Um resumo das etapas para a obtenção de microssatélites foi apresentado por Souza (2001).

Primeiramente, é necessário o conhecimento das seqüências adjacentes à região contendo as repetições. Para isso, faz-se uma biblioteca genômica utilizando-se clones previamente selecionados quanto à presença de repetições em tandem. Estes clones são hibridizados com sondas constituídas por oligonucleotídeos apresentando as repetições observadas no microssatélite. Os clones positivos são analisados por meio de uma amplificação seletiva, para deduzir-se onde está localizada a repetição em relação a ambas as extremidades do fragmento clonado. Após a detecção dos clones desejáveis, estes devem ser

seqüenciados e a região contendo a seqüência única é utilizada para o desenho dos *primers* empregados para a amplificação deste loco em diferentes genótipos. Ao final do processo, os *primers* são utilizados para a amplificação do loco, utilizando-se o DNA de diferentes indivíduos, para a identificação e caracterização dos alelos.

Como se pode observar, a obtenção de microssatélites é um processo laborioso e de custo elevado, sendo realizado, na maioria das vezes, por instituições públicas como, por exemplo, a Universidade de Columbia/Missouri, EUA (*primers* UMC) ou privadas, como o *Brookhaven National Laboratory* (*primers* BNLG).

No caso do milho, já existem conjuntos de microssatélites disponíveis para a utilização em estudos genéticos que podem ser acessados por meio do *Maize Genome Database Page* ([www.maizegdp.org/SSR](http://www.maizegdp.org/SSR)).

Géis desnaturantes de poliacrilamida são os mais indicados para a detecção de polimorfismo em microssatélites, já que possibilitam a detecção de diferenças de tamanho tão pequenas quanto um par de bases. Entretanto, estes géis requerem a utilização de *primers* marcados com isótopos radioativos ou coloração do gel com nitrato de prata. Ambos os procedimentos são de custo elevado e demorados, o que pode inviabilizar a utilização dos marcadores SSR.

Senior et al. (1998) propuseram a utilização de agarose especial a uma concentração de 3% a 3,5% e tratamento do gel com brometo de etídeo para a visualização dos alelos. Este procedimento mostrou-se eficiente na detecção de polimorfismo, porém, com um poder de resolução inferior aos géis de poliacrilamida corados com prata ou com *primers* radioativos. A utilização de géis de poliacrilamida tratado com brometo de etídeo também tem se mostrado eficiente com microssatélites.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Descrição das populações e dos locais

Foram utilizadas três populações  $S_0$  oriundas dos híbridos simples comerciais P30F45 (Pioneer), Dow657 (Dow Agrosiences) e DKB333B (Dekalb). O P30F45 é um híbrido de ciclo normal, de grãos amarelos e porte alto. O Dow657 é um híbrido de ciclo normal, de grãos semiduros e alaranjados e porte médio. O DKB333B é um híbrido simples modificado de ciclo normal, de grãos semiduros e alaranjados e porte alto.

Estes híbridos foram autofecundados na área experimental do Departamento de Biologia (DBI), localizado no Campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e avaliados neste Campus e na fazenda experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária do estado de Minas Gerais (EPAMIG) no município de Lambari.

O município de Lavras está situado a 21° 14' Latitude Sul, 45° 00' Longitude Oeste e altitude de 918 m. A temperatura média anual é de 19,4°C e a precipitação de 1.529,7 mm. O município de Lambari está situado a 21° 58' 10'' Latitude Sul, 42° 22' Longitude Oeste e altitude de 896 m. A temperatura média anual é de 19,1°C e a precipitação de 1.568,9 mm.

#### 3.2 Obtenção dos híbridos a partir de populações $S_0$

As populações  $S_0$  dos três híbridos comerciais foram semeadas na área experimental do DBI/UFLA, no ano agrícola de 2002/2003. As populações foram codificadas como população A (P30F45), população B (Dow657) e população C (DKB333B). Os cruzamentos para a obtenção dos híbridos, a partir das populações  $S_0$ , foram realizados no esquema interpopulacional e intrapopulacional aos pares, sem repetição de plantas. As plantas  $S_0$  de cada

população foram intercruzadas duas a duas, obtendo-se os híbridos intrapopulacionais. Foram obtidos também os híbridos interpopulacionais, sendo cada híbrido proveniente do cruzamento de duas plantas de um par de populações.

A segunda espiga de cada um dos genitores  $S_0$  dos híbridos foi autofecundada, obtendo-se a geração  $S_1$  que foi genotipada com marcadores moleculares microssatélites (SSR).

### **3.3 Avaliação dos híbridos obtidos a partir de populações $S_0$**

A avaliação dos híbridos foi realizada no ano agrícola 2003/2004 nos municípios de Lavras e Lambari, MG.

Foram avaliados 110 híbridos  $S_0$  interpopulacionais (34 AB, 48 AC e 28 BC) e 53 híbridos  $S_0$  intrapopulacionais (17 A, 17 B e 19 C), totalizando 163 híbridos  $S_0$ . Utilizaram-se como testemunhas os três híbridos comerciais e as suas respectivas populações  $S_0$ . O delineamento experimental utilizado foi um látice simples 13 x 13.

Cada parcela foi constituída de uma linha de dois metros, no espaçamento de 0,90 m. Foram semeadas oito sementes/metro linear, de forma a garantir a densidade final desejada de cinco plantas/metro, após o desbaste que foi realizado aos 15 dias após a emergência, deixando-se 10 plantas/parcela.

No momento da semeadura, foram aplicados  $400 \text{ kg ha}^{-1}$  da fórmula 08-28-16, no sulco de plantio. A adubação nitrogenada, em cobertura, foi realizada aos 40 dias após a emergência, fazendo-se uso de  $200 \text{ kg ha}^{-1}$  de uréia. Os demais tratos foram os normalmente empregados na cultura do milho.

Foram avaliados os seguintes caracteres:

- altura de planta (AP): altura, em centímetros, do solo até a inserção da folha bandeira, por meio de uma avaliação visual da altura média da parcela;

- altura de espiga (AE): altura, em centímetros, do solo até a inserção da primeira espiga, obtida de forma semelhante a AP;
- estande final (EF): número total de plantas na parcela por ocasião da colheita;
- teor de umidade dos grãos;
- produtividade de grãos (RG): peso, em kilogramas, dos grãos após a debulha de todas as espigas da parcela. Este valor foi extrapolado para toneladas ha<sup>-1</sup>.
- Para o município de Lambari, ainda foram avaliados os caracteres:
- número de espigas (NE): número total de espigas de cada parcela;
- peso de espigas despalhadas (PED): peso, em kilogramas, de todas as espigas da parcela. Este valor foi extrapolado para toneladas ha<sup>-1</sup>.

A produtividade de grãos foi corrigido para 13% de umidade, utilizando-se a seguinte expressão:

$$PG = PEP * \frac{(100 - U)}{87}$$

em que:

PG: peso de grãos corrigido para 13% de umidade;

PEP: peso de grãos por parcela;

U: umidade dos grãos da parcela.

A produtividade de grãos foi corrigido para o estande ideal, segundo o modelo de análise de covariância, em que se assume como co-variável o estande final da parcela, ou seja, 10 plantas/metro linear (Cruz e Carneiro, 2003). Esta correção foi realizada por meio do software GENES (Cruz, 2004).

### 3.4 Análise dos dados

#### 3.4.1 Análises de variância individuais

Inicialmente, os dados foram submetidos aos testes de aditividade do modelo e normalidade dos erros. Como não ocorreu nenhuma restrição às pressuposições da análise de variância, procederam-se as análises individuais. Estas análises foram realizadas para os caracteres AP, AE, RG, NE e PED, por meio do seguinte modelo estatístico:

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

em que:

$Y_{ij}$ : valor observado do híbrido  $\mathbf{i}$ , no bloco  $\mathbf{j}$ ;

$m$ : média geral do experimento;

$t_i$ : efeito aleatório dos híbridos  $\mathbf{i}$ ,  $\mathbf{i} = 1, 2, \dots, 169$ ;

$b_j$ : efeito aleatório do bloco  $\mathbf{j}$ ,  $\mathbf{j} = 1, 2$ ;

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

#### 3.4.2 Análise conjunta

Foi realizado o teste de Hartley (H), que verifica a homocedasticidade de variância para cada característica, analisada individualmente por local, realizando-se a razão entre a maior e a menor variância do erro.

O valor de H é testado pelo F máximo obtido em tabelas estatísticas apropriadas. Quando o valor de H for menor que o tabelado, conclui-se pela homogeneidade dos quadrados médios, podendo-se proceder a análise conjunta.

A análise conjunta foi realizada somente para a característica produtividade de grãos, utilizando-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = m + t_i + b_{j(k)} + l_k + (pl)_{ik} + \bar{e}_{ij(k)}$$

em que:

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

$m$  : média geral do experimento;

$t_i$  : efeito aleatório dos híbridos **i**, **i** = 1, 2, ... , 169

$b_{j(k)}$  : efeito do bloco **j** dentro do local **k**, em que **j** = 1, 2;

$l_k$  : efeito aleatório do local **k**, em que **k** = 1, 2;

$(pl)_{ik}$  : interação de híbridos x locais;

$\bar{e}_{ij(k)}$  : erro experimental médio.

Tanto as análises individuais quanto à análise conjunta foram realizadas por meio do software SAS v. 8,1 (SAS Institute, 2000).

### 3.4.3 Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos

A partir das esperanças dos quadrados médios para as análises individuais e conjunta (Tabela 1 e 2) foram estimados os componentes de variância e os parâmetros genéticos e fenotípicos (Tabela 3), para os caracteres produtividade de grãos (PG) e peso de espiga despalhada (PED), este último mensurado somente no município de Lambari. Para as estimativas, as testemunhas foram excluídas da análise.

A herdabilidade ( $h^2$ ) no sentido amplo foi estimada pela razão entre a variância genética entre os híbridos e a variância fenotípica média entre os híbridos. As estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos foram realizadas por meio do software GENES (Cruz, 2004).

TABELA 1. Esquema de análise de variância individual, com as respectivas esperanças dos quadrados médios.

FV	GL	QM	E(QM)
Blocos	(r - 1)	Q <sub>1</sub>	
Híbridos	(h - 1)	Q <sub>2</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_h^2$
Resíduo	(h - 1)(r - 1)	Q <sub>3</sub>	$\sigma_e^2$

TABELA 2. Esquema de análise de variância conjunta, com as respectivas esperanças dos quadrados médios.

FV	GL	QM	E(QM)
Bloco/locais	(r - 1)a	Q <sub>1</sub>	
Locais (L)	(a - 1)	Q <sub>2</sub>	
Híbridos (H)	(h - 1)	Q <sub>3</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_{ha}^2 + ar\sigma_h^2$
H x L	(h - 1)(a - 1)	Q <sub>4</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_{ha}^2$
Resíduo médio	a(h - 1)(r - 1)	Q <sub>5</sub>	$\sigma_e^2$

TABELA 3. Estimadores dos componentes de variância e dos parâmetros genéticos e fenotípicos dos híbridos de milho.

Estimadores	Análise individual	Análise conjunta
$\sigma_g^2$	$(Q_2 - Q_3)/r$	$(Q_3 - Q_4)/ar$
$\sigma_f^2$	$Q_2/r$	$Q_3/ar$
$h^2$	$[(Q_2 - Q_3)/r]/[(Q_2/r)]$	$[(Q_3 - Q_4)/ar]/[(Q_3/ar)]$
$CV_g$	$100.\sigma_g/\bar{X}$	$100.\sigma_g/\bar{X}$

em que:

$\sigma_g^2$ : variância genética entre híbridos;

$\sigma_f^2$ : variância fenotípica média entre híbridos;

$h^2$ : herdabilidade no sentido amplo;

$CV_g$  : coeficiente de variação genético entre médias;

$\sigma_g$  : desvio padrão genotípico;

$\bar{X}$  : média dos híbridos.

A estimativa do erro associado a herdabilidade foi obtida por meio da metodologia proposta por Knapp et al. (1985).

#### 3.4.4 Estimativa da heterose dos híbridos

A heterose dos híbridos foi estimada considerando-se as médias para produtividade de grãos das testemunhas como sendo a dos genitores dos híbridos intra e interpopulacionais.

Para os híbridos interpopulacionais, a heterose foi estimada, em relação à média das populações  $S_0$  ou dos híbridos comerciais, da seguinte forma:

$$h = \overline{Hib_{ij}} - 0,5(\overline{\phi_i} + \overline{\beta_j})$$

em que:

$h$  : heterose média;

$\overline{Hib_{ij}}$  : média do híbrido interpopulacional **ij**;

$\overline{\phi_i}$  : média da população  $S_0$  ou do híbrido comercial **i**;

$\overline{\beta_j}$  : média da população  $S_0$  ou do híbrido comercial **j**.

Já para os híbridos intrapopulacionais, a heterose foi estimada por meio da seguinte expressão:

$$h = \overline{Hib_i} - \overline{\phi_i}$$

em que:

$\bar{h}$  : heterose média;

$\overline{Hib}_i$  : média do híbrido intrapopulacional **i**;

$\bar{\phi}_i$  : média da população  $S_0$  ou do híbrido comercial **i**

### **3.4.5 Estimativa da depressão por endogamia entre os híbridos comerciais**

Foi estimada a depressão por endogamia entre os híbridos comerciais e suas populações  $S_0$ , por meio da seguinte expressão:

$$I(\%) = \frac{(\bar{F}_1 - \bar{S}_0)}{\bar{F}_1} * 100$$

em que  $I(\%)$  : depressão por endogamia, expresso em porcentagem;  $\bar{F}_1$  : média do híbrido comercial;  $\bar{S}_0$  : média da população  $S_0$  do híbrido comercial.

## **3.5 Avaliação das linhagens $S_1$ em laboratório**

### **3.5.1 Seleção das linhagens parentais $S_1$ para genotipagem com SSR**

A seleção das linhagens parentais para a genotipagem com microssatélites foi realizada a partir das médias para produtividade de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ) dos híbridos interpopulacionais e intrapopulacionais, considerando a análise conjunta.

Para tanto, foram selecionados os dois híbridos mais produtivos e os dois menos produtivos de cada esquema de cruzamento (interpopulacional AB, AC e BC; intrapopulacional A, B e C), totalizando 24 híbridos. Com isso, 48 linhagens parentais  $S_1$  foram identificadas e selecionadas para as análises. As linhagens foram codificadas da seguinte forma:

---

1 a 8	Linhagens genitoras dos híbridos interpopulacionais AB
9 a 16	Linhagens genitoras dos híbridos interpopulacionais AC
17 a 24	Linhagens genitoras dos híbridos interpopulacionais BC
25 a 32	Linhagens genitoras dos híbridos intrapopulacionais A
33 a 40	Linhagens genitoras dos híbridos intrapopulacionais B
41 a 48	Linhagens genitoras dos híbridos intrapopulacionais C

---

### 3.5.2 Preparação do material vegetal e extração do DNA

Para a preparação do material vegetal, com o objetivo de extrair o DNA total, vinte sementes de cada  $S_1$  foram colocadas para germinar em câmara de crescimento, em rolos de papel germinador, no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA. Aos dez dias, folhas de cada uma das vinte plântulas de cada  $S_1$  foram coletadas e misturadas em partes iguais para a extração do DNA.

O DNA foi extraído segundo o protocolo descrito por Saghai-Marooft et al. (1984). Foram utilizados aproximadamente dois gramas de tecido vegetal, os quais foram macerados em nitrogênio líquido. O material macerado foi acondicionada em tubos e centrifugados, adicionando-se 10 mL do tampão de extração CTAB e, posteriormente, incubados por 90 minutos em banho-maria a 65°C. O tampão de extração foi constituído por Tris HCl 0,1M, NaCl 0,7M, EDTA 0,01M, CTAB e  $\beta$ -mercaptoetanol. Após o período em banho-maria, foi realizada a primeira extração do DNA, com 5 mL da mistura clorofórmio:álcool isoamil (24:1). Durante esta extração, as fases orgânicas e aquosas foram separadas por centrifugação a 4000 rpm, por 10 minutos, sendo o sobrenadante coletado.

Em seguida, o DNA foi precipitado pela adição de 6 mL de isopropanol, sendo removido com o auxílio de um gancho de vidro e transferido para 3 mL de TE pH 8,0, constituído por Tris 1M pH 8,0, EDTA 0,2M e água pura,

permanecendo à temperatura de 4°C por uma noite. No dia seguinte, o DNA foi novamente precipitado, adicionando-se 150 µL de NaCl 5M e 3 mL de etanol e, em seguida, removido novamente com o gancho de vidro e acondicionado em tubo contendo 2 mL de WASH 1, solução esta constituída de 76 mL de álcool etílico 95%, 8 mL de acetato de sódio 2,5M e 16 mL de água, onde permaneceu por aproximadamente 30 minutos. A utilização do WASH 1 tem por objetivo a lavagem do DNA.

Seguindo, uma segunda lavagem do DNA com WASH 2 (76 mL de álcool etílico 95%, 1 mL de acetato de amônio 1M e 23 mL de água) por 10 segundos foi realizada. Ao final, o DNA foi dissolvido em 500 µL de TE pH 8,0 deixado a 4°C por uma noite, e mantido a -20°C.

Concluído o processo de extração, a quantificação do DNA foi realizada em fluorímetro (Hoeffer Scientific TKO 100) e a diluição para uma concentração de 10 ng µl<sup>-1</sup> de DNA.

### **3.5.3 Amplificações dos fragmentos de microssatélites (SSR)**

Foram utilizados 50 *primers* de SSR gentilmente cedidos pela Profa. Dra. Anete Pereira de Souza, da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Estes *primers* foram selecionados de maneira a cobrir todos os dez cromossomos do milho (em média, cinco *primers* por cromossomo). Destes SSR, onze estão associados a QTL para produtividade de grãos e outras características agronômicas de interesse, identificados em germoplasmas de milho tropical (Sibov et al., 2003).

As reações de SSR foram preparadas para 10 µL com 1 ng µL<sup>-1</sup> de DNA, tampão de reação 1X (Promega), 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (Promega), 0,2 mM de cada dNTP (Invitrogen), 2 U de Taq DNA polimerase (Promega) e 0,3 µM de cada *primer* (Forward e Reverse).

Procedeu-se à desnaturação inicial do DNA a 95°C por 1 minuto seguido de 30 ciclos cada um constituído por uma desnaturação a 95°C por 1 minuto, anelamento a 55-58°C por 1 minuto (dependendo do *primer*) e extensão final a 72°C por um minuto. Utilizou-se uma extensão final a 72°C por 5 minutos.

As amplificações foram realizadas no termociclador *Termocycler Mastercycler Gradient*, utilizando microtubos com capacidade para 0,2 mL.

Os fragmentos foram separados em gel de agarose ultrapura (GibcoBRL) com concentração de 3% e preparado com tampão TBE 0,5X. A eletroforese foi conduzida a uma voltagem constante de 140V por aproximadamente 2 horas em cuba horizontal (Hoefer SE 600 Gel Casters), no Laboratório de Virologia Molecular do Departamento de Fitopatologia (LVM/DFP) da UFLA. Às reações de 10,65 µL foram adicionados 4 µL de tampão de carregamento (0,25% de azul de bromofenol, 0,25% de xileno cyanol e 30% de glicerol com água). Utilizou-se um padrão de peso molecular de 100 pb (Invitrogen). Após a eletroforese, os géis foram corados com brometo de etídeo (0,5 µg mL<sup>-1</sup>) por cinco minutos.

Os géis foram visualizados em luz ultravioleta e as imagens capturadas por meio do equipamento digital EDAS 290 (Kodak Digital Science), no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Biologia (LBM/DBI) da UFLA. As bandas foram inicialmente codificadas com “1” ou “0” para a presença e ausência, respectivamente, e depois foram lidas como dados genotípicos, a fim de identificar todos os locos e alelos.

Para sete *primers*, os fragmentos de DNA amplificados foram separados em géis de poliacrilamida 7% em cuba vertical (Hoeffer HE 99x Max Submarine Unit) no LVM/DFP da UFLA. A eletroforese foi conduzida a uma voltagem constante de 210V por, aproximadamente, 2 horas e 30 minutos. Para um gel de 30 mL foram adicionados 7 mL de acrilamida/bisacrilamida 37.5:1 (Sigma-

Aldrich), 6 mL de TBE 0,5X, 17 mL de água destilada, 500 µL de persulfato de amônio 10% e 21 µL de TEMED.

Os géis foram corados com brometo de etídeo (0,5 µg mL<sup>-1</sup>) por 10 minutos e visualizados em luz ultravioleta, sendo as imagens capturadas pelo equipamento digital EDAS 290 no LBM/DBI da UFLA.

### 3.6 Análises estatísticas utilizando os dados obtidos com SSR

#### 3.6.1 Estimativa das distâncias genéticas entre as linhagens S<sub>1</sub>

Foram estimadas as distâncias modificadas de Roger (Goodman e Stuber, 1983), a partir das freqüências alélicas, por meio do software TFPGA v. 1,3 (Mille, 1997), de acordo com a seguinte expressão:

$$DMR_{(U)} = \left[ \sum_{k=1}^I (p_{ik} - p_{jk})^2 \right]^{-1/2} / 2n$$

em que:

$DMR$  : distância modificada de Roger;

$p_{ik}$  e  $p_{jk}$  : freqüências do  $k$ -ésimo alelo para as linhagens  $i$  e  $j$ ;

$n$  : número de locos;

$I$  : número total de alelos considerando todos os locos

Foram estimados também o número de alelos por loco de SSR e o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) de cada *primer*, por meio da expressão:

$$PIC = 1 - \sum p_{ij}^2$$

em que  $p_{ij}$  : freqüência do  $j$ -ésimo alelo no  $i$ -ésimo loco microsatélite.

### 3.6.2 Agrupamento das linhagens S<sub>1</sub>

As distâncias genéticas foram utilizadas para fazer o agrupamento das linhagens pelo método UPGMA (*unweighted pair-group method averages*) por meio do software NTSYS-pc versão 2,1 (Rohlf, 2000). Foi calculado o valor de correlação cofenética entre a matriz de distâncias genéticas e a matriz dos valores cofenéticos, a fim de verificar a consistência do agrupamento.

### 3.6.3 Análise de *bootstrap* dos marcadores SSR

O método de reamostragens foi utilizado para verificar se o número de locos (combinações de *primers*) do marcador SSR foi suficiente para determinar com precisão as estimativas de distâncias genéticas entre as linhagens S<sub>1</sub>.

Para cada par de linhagens, a distância modificada de Rogers foi estimada a partir de reamostragens de diferentes tamanhos (2, 4, 6, ..., 42, 44, 46 locos de SSR) cada uma repetida 10.000 vezes por meio do software GQMol (Cruz e Schuster, 2004). O programa obtém estimativas de correlação de valores da matriz de distância original com os de outras matrizes de distância, obtidas considerando-se diferentes números de locos SSR. Além disso, o programa ainda disponibiliza dois outros parâmetros: a soma dos quadrados dos desvios em relação às reamostragens e um valor de estresse (E) que é indicativo de ajuste entre a matriz original, considerando todos os SSR e a matriz amostral, por meio da seguinte expressão:

$$E : \sqrt{\frac{(d_{ij}^* - d_{ij})^2}{\sum d_{ij}^{*2}}}$$

em que:

*E* : estresse;

$d_{ij}^*$  : distância genética média entre todos os pares de genótipos estimada para cada reamostragem

$d_{ij}$  : distância genética média entre todos os pares de genótipos estimada a partir do total de *primers* de SSR

### 3.7 Correlações entre as distâncias genéticas e as médias de heterose e produtividade de grãos dos híbridos S<sub>0</sub>

As correlações entre as distâncias genéticas entre as linhagens parentais e a produtividade de grãos e heterose dos híbridos foram obtidas por meio da correlação de Spearman, descrita pela seguinte expressão (Steel e Torrie, 1980):

$$r_s = \frac{\sum x'_e + \sum y'_e - \sum d_i^2}{\sqrt{\sum x'_e \sum y'_e}}$$

em que:

$r_s$  : correlação de Spearman;

$$\sum x'_e = \frac{n^3 - n}{12} - \sum T_x \text{ e } \sum y'_e = \frac{n^3 - n}{12} - \sum T_y$$

$$T = \frac{t^3 - t}{12}$$

$t$  : número de observações repetidas em uma mesma classificação;

$n$  : número de pares de valores;

$x_i^*$  e  $y_i^*$  : valores de X e Y ordenados por postos (rank);

$$\sum d_i^2 = \sum (x_i^* - y_i^*)^2$$

Este coeficiente consiste no ranqueamento dos dados e posterior utilização do coeficiente de correlação de Pearson. As análises foram realizadas por meio do software SAS v. 8,1 (SAS Institute, 2000). A significância para as correlações foi obtida por meio do teste *t*.

### **3.8. Regressão linear simples entre as distâncias genéticas das linhagens $S_1$ genitoras, as médias de heterose e as médias para produtividade de grãos dos híbridos $S_0$**

Por meio da regressão linear, buscou-se estimar a participação da distância genética entre os parentais na variação observada para heterose e produtividade de grãos entre os híbridos avaliados, por meio do coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

As análises, assim como os gráficos, foram realizadas por meio do software GENES (Cruz, 2004).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análises de variância por local

Como a eficiência do látice não foi superior a do delineamento em blocos casualizados (DBC), todas as análises individuais, assim como a análise conjunta, foram realizadas em DBC.

Os resumos das análises de variância para os experimentos conduzidos em Lavras e Lambari, em relação às características altura de planta (AP), altura de espiga (AE), número de espiga (NE) e peso de espigas despalhadas (PED) estão apresentados nas Tabelas 4 e 5. Os caracteres NE e PED foram mensurados somente em Lambari.

Observa-se que, para AP, o coeficiente de variação foi de 17,30% para Lavras e de 5,92% para Lambari. De acordo com Scapim et al. (1995), estes valores podem ser classificados como sendo muito altos para Lavras e médios para Lambari. A média para a característica foi de 193 cm para Lavras e 217 cm para Lambari. Nota-se que ocorreram diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ) para a fonte de variação Híbridos, permitindo inferir que houve variação para AP, em ambos os locais.

Em relação ao caráter AE, o coeficiente de variação foi de 12,86% para Lavras e de 9,75% para Lambari. Para Scapim et al. (1995), ambos os valores podem ser classificados como médios. A média para a característica foi de 116 cm em Lavras e 139 cm em Lambari. Detectaram-se diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ) para a fonte de variação Híbridos, concluindo-se pela existência de variação para AE, em ambos os locais.

TABELA 4. Resumo das análises de variância do experimento conduzido em Lavras, no ano agrícola 2003/2004, para as características altura de planta (AP) e altura de espiga (AE), expressos em cm.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO	
		AP	AE
Blocos	1	23361,24 **	1137,28 **
Híbridos	168	1059,82 **	250,83 **
Resíduo	168	1114,21	224,18
Média		192,93	116,45
CV(%)		17,30	12,86

\*\* significativo a 1% pelo teste F.

As características NE e PED apresentaram coeficientes de variação de 18,06% e 20,48%, respectivamente. Ambos os valores podem ser classificados como de mediana magnitude (Scapim et al., 1995). As médias foram de 11,74 para NE e de 14,39 t ha<sup>-1</sup> para PED. Pela tabela 5 percebe-se que houve diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ) para ambos, NE e PED, podendo-se inferir pela existência de variação para estas características.

Na Tabela 6 encontra-se um resumo das análises de variância para a característica produtividade de grãos dos experimentos conduzidos em Lavras e Lambari.

Em relação à característica produtividade de grãos, percebe-se que os coeficientes de variação variaram de 23,31% em Lambari a 24,48% em Lavras. Ambos os valores são classificados como altos (Scapim et al., 1995). Estes valores altos para o coeficiente de variação podem estar associados ao tamanho das parcelas experimentais. As médias foram de 7,61 t ha<sup>-1</sup> em Lavras e de 9,73 t ha<sup>-1</sup> em Lambari. Percebe-se que a produtividade média de grãos em Lambari foi 28% superior ao observado em Lavras. Este fato está associado a condições experimentais mais favoráveis no município de Lambari.

TABELA 5. Resumo das análises de variância do experimento conduzido em Lambari, no ano agrícola 2003/2004, para as características altura de planta (AP), altura de espiga (AE), expressos em cm e número de espigas (NE) e peso de espigas despalhadas (PED), expresso em t ha<sup>-1</sup>.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO			
		AP	AE	NE	PED
Blocos	1	5155,03 **	4,73 <sup>ns</sup>	11,37 **	2,23 ns
Híbridos	168	484,65 **	315,48 **	9,49 **	42,64 **
Resíduo	168	165,15	184,49	4,49	8,69
Média		216,98	139,23	11,74	14,39
CV(%)		5,92	9,75	18,06	20,48

\*\* significativo a 1% pelo teste F, <sup>ns</sup> não significativo.

Na decomposição da fonte de variação Híbridos, constatou-se que houve diferenças significativas para os contrastes Intra vs. Inter, Inter AB, Inter BC, Intra A e Entre Testemunhas, nos dois locais. Além disso, em Lavras, notaram-se diferenças significativas para os contrastes Inter AC e Entre Intra. Já em Lambari, ocorreram diferenças nos contrastes Intra B e Entre Inter. Não foram observadas diferenças significativas nos contrastes Entre Inter e Intra B, em Lavras e Inter AC e Entre Intra, em Lambari. Para Intra C não houve diferença significativa em ambos os locais, assim como para o contraste Híbridos x Testemunhas.

Analisando o contraste Intra vs. Inter percebe-se que os híbridos S<sub>0</sub> inter e intrapopulacionais não apresentaram comportamento semelhante, tanto em Lavras quanto em Lambari. Com isso, pode-se inferir que estes híbridos diferiram quanto à característica produtividade de grãos.

TABELA 6. Resumo das análises de variância para produtividade de grãos (t ha<sup>-1</sup>) dos experimentos conduzidos em Lavras e Lambari, no ano agrícola 2003/2004.

FV	GL	Lavras	Lambari
		QM	QM
Blocos	1	1,23 <sup>ns</sup>	0,69 <sup>ns</sup>
Híbridos	168	10,89 <sup>**</sup>	16,92 <sup>**</sup>
Intra vs. Inter	1	679,84 <sup>**</sup>	965,61 <sup>**</sup>
Inter AB	33	6,76 <sup>**</sup>	10,66 <sup>**</sup>
Inter AC	47	7,93 <sup>**</sup>	5,42 <sup>ns</sup>
Inter BC	27	6,60 <sup>**</sup>	11,28 <sup>**</sup>
Intra A	16	15,66 <sup>*</sup>	8,40 <sup>**</sup>
Intra B	16	5,06 <sup>ns</sup>	18,82 <sup>**</sup>
Intra C	18	4,02 <sup>ns</sup>	4,35 <sup>ns</sup>
Hib. x Test.	1	1,51 <sup>ns</sup>	13,66 <sup>ns</sup>
Entre Inter	2	0,72 <sup>ns</sup>	75,78 <sup>**</sup>
Entre Intra	2	17,30 <sup>**</sup>	0,11 <sup>ns</sup>
Entre Test.	5	14,68 <sup>**</sup>	37,05 <sup>**</sup>
Resíduo	168	3,51	4,67
Média (t ha <sup>-1</sup> )		7,61	9,73
CV (%)		24,48	23,31

Inter: híbridos interpopulacionais; Intra: híbridos intrapopulacionais; Hib: híbridos inter + intrapopulacionais; Test: testemunhas; \*/\*\* significativo a 5% e 1% pelo teste F, <sup>ns</sup> não significativo; A: P30F45, B: Dow657 e C: DKB333B.

Em relação ao contraste Híbridos x Testemunhas, é possível concluir que não foi observado comportamento diferenciado em ambos os locais, sugerindo, com isso, que os híbridos obtidos a partir de populações S<sub>0</sub>, em média, não diferiram das testemunhas em relação a produtividade de grãos.

TABELA 7. Número de cruzamentos, produtividade média de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ) e variação para produtividade ( $t\ ha^{-1}$ ) dos híbridos  $S_0$  inter e intrapopulacionais dos experimentos conduzidos em Lavras e Lambari, safra 2003/2004.

Tipo	Nº	Lavras		Lambari	
		Produtividade	Varição	Produtividade	Varição
Total	163	7,61	2,17 a 12,71	9,44	2,79 a 15,48
A X B	34	8,65	3,68 a 12,28	10,90	6,16 a 14,70
A X C	48	8,70	3,96 a 12,64	11,36	7,60 a 15,48
B X C	28	8,50	5,70 a 12,71	9,32	5,12 a 12,86
A X A	17	4,84	2,17 a 7,28	6,86	3,11 a 11,84
B X B	17	6,25	3,27 a 8,84	6,84	2,79 a 12,59
C X C	19	5,42	3,34 a 7,81	6,76	3,08 a 9,83
F <sub>1</sub> A		9,33		12,89	
F <sub>1</sub> B		8,32		9,72	
F <sub>1</sub> C		11,88		16,59	
Média		9,84		13,06	
S <sub>0</sub> A		4,11		4,98	
S <sub>0</sub> B		6,28		6,77	
S <sub>0</sub> C		6,54		7,69	
Média		5,64		6,48	

F<sub>1</sub>: Híbrido comercial; S<sub>0</sub>: população S<sub>0</sub>; A: P30F45, B: Dow657 e C: DKB333B.

Como esperado, o contraste entre testemunhas foi significativo, isso em função da utilização de dois tipos de testemunhas: híbridos comerciais e populações S<sub>0</sub> oriundas destes mesmos híbridos.

Na Tabela 7 também estão apresentados a produtividade média de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ) e a variação para produtividade dos híbridos S<sub>0</sub> inter e intrapopulacionais dos experimentos conduzidos em Lavras e Lambari.

Dos 163 híbridos S<sub>0</sub> avaliados em Lavras, 18,4% superaram a média dos híbridos comerciais utilizados como testemunhas, que ficou em 9,84  $t\ ha^{-1}$ , sendo oito Inter AB, 16 Inter AC e seis Inter BC.

Cinco híbridos S<sub>0</sub> interpopulacionais superaram a média do híbrido simples comercial mais produtivo (DKB333B), que foi de 11,88  $t\ ha^{-1}$ . Não

foram identificados híbridos  $S_0$  intrapopulacionais superiores à média dos híbridos comerciais utilizados como testemunhas. Identificou-se que 81% dos híbridos  $S_0$  inter e intrapopulacionais superaram a média das populações  $S_0$  utilizadas como testemunhas, que foi de  $5,64 \text{ t ha}^{-1}$ .

Em Lambari, 8,6% dos híbridos  $S_0$  interpopulacionais avaliados superaram a média dos híbridos comerciais utilizados como testemunhas, que ficou em  $13,06 \text{ t ha}^{-1}$ , sendo sete Inter AB e sete Inter AC. Não foram identificados híbridos  $S_0$  intrapopulacionais superiores à média dos híbridos comerciais. Identificaram-se 80 híbridos  $S_0$  inter e intrapopulacionais superiores à média das populações  $S_0$  utilizadas como testemunhas, que foi de  $6,48 \text{ t ha}^{-1}$ . Nenhum híbrido  $S_0$  superou a média do híbrido simples DKB333B utilizado como testemunha, que foi de  $16,59 \text{ t ha}^{-1}$ .

A partir desses dados percebe-se que foram identificados híbridos  $S_0$  interpopulacionais superiores, tanto aos híbridos simples comerciais quanto às suas gerações  $S_0$ , em ambos os locais. Em relação aos híbridos  $S_0$  intrapopulacionais, não se identificou nenhum superior à média dos híbridos comerciais utilizados como testemunhas devido, em parte, ao número de híbridos  $S_0$  intrapopulacionais avaliados, 53 contra 110 híbridos  $S_0$  interpopulacionais. Cabe destacar que foram identificados híbridos  $S_0$  intrapopulacionais com produtividade médio de grãos superior a  $10 \text{ t ha}^{-1}$ , o que pode ser considerado como uma ótima produtividade. Estes resultados refletem também a melhor capacidade de combinação interpopulacional do que a intrapopulacional.

#### **4.2 Análise conjunta**

O resumo da análise de variância conjunta para produtividade de grãos ( $\text{t ha}^{-1}$ ) está apresentada na Tabela 8. O coeficiente de variação foi alto para a característica (23,92%) e a média ficou em  $8,53 \text{ t ha}^{-1}$ . Ocorreu

diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) para a fonte de variação Locais, concluindo-se que estes ambientes não são semelhantes. A fonte de variação Híbridos x Locais foi não significativa, indicando que o comportamento dos híbridos foi consistente nos dois locais.

Percebe-se que a fonte de variação Híbridos foi significativa ( $P \leq 0,01$ ), sugerindo variação para produtividade de grãos dos híbridos. Devido à significância, procedeu-se a decomposição desta fonte de variação.

TABELA 8. Resumo da análise de variância conjunta para produtividade de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ), no ano agrícola 2003/2004.

FV	GL	QM
Blocos(locais)	2	0,96 <sup>ns</sup>
Locais	1	565,47 **
Híbridos	168	23,36 **
Intra vs. Inter	1	1632,95 **
Inter AB	33	13,97 **
Inter AC	47	8,99 **
Inter BC	27	11,98 **
Intra A	16	12,12 **
Intra B	16	19,81 **
Intra C	18	5,20 <sup>ns</sup>
Hib. x Test.	1	17,98 *
Entre Inter	2	45,65 **
Entre Intra	2	8,63 <sup>ns</sup>
Entre Test.	5	48,84 **
Híbridos x Locais	168	4,45 <sup>ns</sup>
Resíduo	336	4,09
Média ( $t\ ha^{-1}$ )		8,53
CV (%)		23,92

Inter: híbridos interpopulacionais; Intra: híbridos intrapopulacionais; Hib: híbridos inter + intrapopulacionais; Test: testemunhas; \*/\*\* significativo a 5% e 1% pelo teste F, <sup>ns</sup> não significativo; A: P30F45, B: Dow657 e C: DKB333B.

Excluindo-se os contrastes Intra C e Entre Intra, todos apresentaram diferenças significativas, indicando variação para produtividade de grãos, tanto nos híbridos  $S_0$  interpopulacionais quanto nos intrapopulacionais.

Na Tabela 1A estão apresentadas as médias para produtividade de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ) dos híbridos  $S_0$  interpopulacionais, intrapopulacionais e das testemunhas, assim como a variação para cada um dos seis grupos de híbridos.

A média dos híbridos comerciais utilizados como testemunhas foi de  $11,45\ t\ ha^{-1}$  e das populações  $S_0$  de  $6,06\ t\ ha^{-1}$ . Veja que, para o total de híbridos obtidos a partir das três populações  $S_0$ , a variação para produtividade de grãos foi de  $2,99\ t\ ha^{-1}$  a  $13,14\ t\ ha^{-1}$  podendo-se verificar que alguns híbridos obtidos a partir das populações  $S_0$  de híbridos simples comerciais foram superiores a estas. Um maior número de híbridos superou a população  $S_0$  em comparação com os híbridos comerciais. A média para produtividade de grãos nos cruzamentos interpopulacionais foi  $36,5\%$  superior à dos cruzamentos intrapopulacionais, ficando em  $9,7\ t\ ha^{-1}$  contra  $6,16\ t\ ha^{-1}$  (Tabela 1A).

Carvalho (2004), avaliando 90 híbridos obtidos a partir de populações  $S_2$ , observou alguns híbridos superiores aos híbridos comerciais utilizados como testemunhas, destacando o potencial dos híbridos  $S_2$  em produzir genótipos superiores a híbridos comerciais com ampla aceitação comercial.

Em todos os cruzamentos interpopulacionais constata-se híbridos  $S_0$  superiores à média dos híbridos comerciais e das populações  $S_0$  originais.

De um total de 163 híbridos  $S_0$ ,  $11,65\%$  superaram a média dos híbridos comerciais utilizados como testemunhas, sendo sete Inter AB, dois Inter BC e dez Inter AC (Figura 2B). O híbrido  $S_0$  com maior produtividade de grãos foi identificado no cruzamento Inter AB ( $13,14\ t\ ha^{-1}$ ).

Ao avaliar 90 progênies  $S_2$  das populações de milho BR106 e IAPAR-26, Araújo (2000) verificou que a maior média de um híbrido  $S_2$  foi  $15,6\%$

superior à média do híbrido P3041 utilizado como testemunha e 35,1% superior à média das populações parentais.

Carvalho et al. (2003), avaliando 135 híbridos obtidos a partir de progênies  $S_2$ , verificaram que 17% dos híbridos  $S_2 \times S_2$  superaram o híbrido simples DKB333B utilizado como testemunha, enquanto que 46% superaram a média do híbrido simples comercial C-435.

Oito híbridos de milho obtidos a partir de linhagens parcialmente endogâmicas ( $S_3$ ) foram avaliados em nove municípios do estado de Goiás, utilizando-se como testemunhas duas variedades (V), dois híbridos simples (HS), dois híbridos duplos (HD) e dois híbridos triplos (HT) (Salin-Neto et al., 2004). A média dos híbridos  $S_3 \times S_3$  foi semelhante à média das testemunhas. Por outro lado, comparando-se a média dos três híbridos  $S_3 \times S_3$  mais produtivos verificou-se que esta foi superior em 7%, 16%, 21% e 27% em relação ao HS, HT, HD e V, respectivamente.

Não foi identificado nenhum híbrido  $S_0$  intrapopulacional superior à média dos híbridos comerciais utilizados como testemunhas (Figura 3B). Foram identificados apenas três híbridos  $S_0$  superiores somente ao híbrido comercial B (Dow657), sendo um híbrido Intra A e dois Intra B. Uma possível explicação para este fato pode estar associada ao número de híbridos  $S_0$  intrapopulacionais avaliados, totalizando 53 contra 110 híbridos  $S_0$  interpopulacionais. Além disso, as altas produtividades dos híbridos comerciais dependeram de elevados valores de heterose provenientes das combinações de linhagens de grupos heteróticos diferentes. O pequeno número de linhagens tomadas nas populações  $S_0$  certamente eram recombinantes das genitoras e menos contrastantes.

Os híbridos  $S_0$  foram obtidos a partir de três híbridos simples comerciais de empresas diferentes e, portanto, provavelmente, sem parentesco nas linhagens parentais. Para Vasal et al. (1999), é possível obter híbridos

intrapopulacionais com desempenho superior, desde que se identifiquem linhagens com boa capacidade específica de combinação. Neste trabalho, devido ao fato de se ter obtido um menor número de híbridos intrapopulacionais, a possibilidade de se identificar um híbrido superior ficou reduzida.

Em relação à média das populações  $S_0$  utilizadas como testemunhas, 83,43% dos híbridos  $S_0$  inter e intrapopulacionais apresentaram produtividade de grãos superior (Figura 2B e 3B).

É interessante destacar que nenhum híbrido obtido a partir das populações  $S_0$  superou a produtividade de grãos do híbrido simples comercial C (DKB333B), que foi de 14,23 t ha<sup>-1</sup>. Este híbrido tem se destacado com alta produtividade de grãos em vários trabalhos desenvolvidos no Sul de Minas Gerais, podendo-se inferir que suas linhagens parentais apresentam elevada complementariedade e capacidade específica de combinação, dificultando a identificação de novas combinações superiores, em gerações avançadas, deste híbrido (Lima et al., 2000; Souza Sobrinho, 2001; Carvalho et al., 2003; Carvalho, 2004).

De acordo com os resultados é possível obter híbridos, a partir de populações  $S_0$  de híbridos simples comerciais com produtividade de grãos elevada. É conveniente destacar que híbridos  $S_0$  interpopulacionais, ou seja, oriundos do cruzamento de plantas  $S_0$  de dois híbridos simples diferentes, apresentaram produtividade média de grãos maior que os híbridos  $S_0$  intrapopulacionais, que são obtidos a partir de plantas  $S_0$  do mesmo híbrido comercial.

Verificou-se que híbridos simples comerciais são uma excelente alternativa para a extração de linhagens, já que, em gerações iniciais de endogamia a obtenção de híbridos superiores já é viável. Alguns trabalhos têm

comprovado a eficiência dessa metodologia (Lima et al., 2000; Raposo, 2002; Bison et al., 2003; Carvalho et al., 2003; Carvalho, 2004).

Para Bernardo (1991), a correlação entre o desempenho de um indivíduo em gerações precoces ( $n$ ) e do seu respectivo genótipo em gerações avançadas ( $n'$ ) é representada pela expressão  $r_{Fn}G_n = r_{Fn}G_n h_n$ . Com isso, a correlação é função da raiz quadrada da herdabilidade na geração precoce e do desempenho das progênes nas gerações  $n$  e  $n'$ . Esta correlação é igual a 0,87 para linhagens S<sub>2</sub>, 0,94 para S<sub>3</sub> e 0,97 para S<sub>4</sub>. Este fato reforça a utilização de híbridos simples comerciais para a extração de linhagens.

#### **4.3 Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos**

As estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos para Lavras e Lambari estão apresentadas na Tabela 9. É importante salientar que as estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos foram realizadas excluindo-se as testemunhas.

Por meio da razão maior que a unidade entre o coeficiente de variação genética e o ambiental, pode-se perceber que o componente genético é superior, facilitando a seleção para estas características. Verifica-se também que a estimativa da variância genética entre os híbridos foi maior em Lambari, assim como a estimativa da variância fenotípica.

A herdabilidade para produtividade de grãos, no sentido amplo, foi de 68,02% em Lavras e 70,49% em Lambari, confirmando a diversidade genética entre os híbridos e a possibilidade de obtenção de híbridos superiores.

Para PED, a herdabilidade foi de 79,55%, corroborando com Carvalho (2004), que avaliou híbridos obtidos a partir de linhagens parcialmente endogâmicas S<sub>2</sub> obtendo valores de herdabilidade de 83,6%.

TABELA 9. Estimativa do coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ), variância genética ( $\sigma_g^2$ ), variância fenotípica ( $\sigma_f^2$ ) e herdabilidade ( $h^2$ ) da produtividade de grãos (PG em t ha<sup>-1</sup>), obtidos em Lavras e Lambari e para peso de espigas despalhadas (PED em t ha<sup>-1</sup>), obtida em Lambari, safra 2003/2004.

Parâmetros	Lavras	Lambari	
	PG	PG	PED
$CV_g$	25,19	25,47	28,62
$CV_g / CV_e$	1,03	1,09	1,40
$\sigma_g^2$	3,68	5,78	16,96
$\sigma_f^2$	5,41	8,20	21,32
$h^2$ (%)	68,02	70,49	79,55
LI (%)	56,40	62,70	72,45
LS (%)	76,12	79,50	84,90

LI: limite inferior e LS: limite superior para a herdabilidade.

Resultados semelhantes foram encontrados por Andrade (1995) na avaliação de híbridos S<sub>1</sub> das populações ESALQ-PB1 e SUWAN e por Araújo (2000) avaliando híbridos S<sub>2</sub> das populações BR-106 e IAPAR-26.

Na Tabela 10 estão apresentadas as estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos para produtividade de grãos (PG), com base na análise conjunta. Percebe-se que a estimativa da herdabilidade foi semelhante aos valores obtidos para Lavras e Lambari. Este fato reforça a aplicabilidade de se utilizar híbridos simples comerciais como fonte para a extração de linhagens.

#### 4.4 Estimativa da heterose dos híbridos

As estimativas das heteroses dos híbridos, com base nos híbridos comerciais e nas populações S<sub>0</sub> originais, estão apresentadas na Tabela 1A.

A heterose média dos 163 híbridos S<sub>0</sub> inter e intrapopulacionais, em relação às populações S<sub>0</sub>, foi de 2,50 t ha<sup>-1</sup>, variando de -3,68 t ha<sup>-1</sup> a 7,60 t ha<sup>-1</sup>.

Para os cruzamentos inter e intrapopulacionais, a média de heterose foi de 3,51 t ha<sup>-1</sup> e 0,10 t ha<sup>-1</sup>. Percebe-se maior heterose nos cruzamentos interpopulacionais, destacando-se o cruzamento interpopulacional AB com média de 4,24 t ha<sup>-1</sup>.

Em relação aos híbridos comerciais, a heterose média dos 163 híbridos S<sub>0</sub> inter e intrapopulacionais foi de -3,06 t ha<sup>-1</sup>, variando de -10,8 t ha<sup>-1</sup> a 3,07 t ha<sup>-1</sup>. Para os cruzamentos interpopulacionais, a média foi de -1,93 t ha<sup>-1</sup>, enquanto que para os cruzamentos intrapopulacionais ficou em -5,29 t ha<sup>-1</sup>. Percebem-se valores de heterose positivos, indicando híbridos S<sub>0</sub> inter e intrapopulacionais superiores, em produtividade de grãos, aos híbridos comerciais (Tabela 1A).

Araújo e Garbuglio (2004) também observaram valores negativos ao avaliarem a heterose média para o caráter peso de grãos e seus componentes, por meio do cruzamento dialélico entre 12 populações de milho.

TABELA 10. Estimativa do coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ), variância genética ( $\sigma_g^2$ ), variância fenotípica ( $\sigma_f^2$ ) e herdabilidade ( $h^2$ ) da produtividade de grãos (t ha<sup>-1</sup>), obtidas da média de Lavras e Lambari, safra 2003/2004.

Parâmetro	Estimativa
$CV_g$	25,25
$CV_g / CV_e$	1,05
$\sigma_g^2$	4,64
$\sigma_f^2$	5,68
$h^2$ (%)	81,69
LI (%)	76,30
LS (%)	87,03

LI: limite inferior e LS: limite superior para a herdabilidade.

Gama et al. (1998) avaliaram cinco híbridos comerciais e seus respectivos  $S_1$  com o objetivo de estimar a heterose em relação ao pai superior (heterobeltiose). A estimativa da heterose média foi de -14,8%, com uma amplitude de variação de -83,8% a 23,1% entre os diferentes cruzamentos. O cruzamento entre dois híbridos de uma mesma empresa forneceu valor médio negativo (-44,3%), provavelmente devido mais a algum grau de parentesco do que a um baixo efeito de dominância para esta característica. Os cruzamentos entre híbridos de empresas diferentes disponibilizaram valores de heterose positivos.

É importante salientar que a heterose estimada em relação às populações  $S_0$  originais é a ideal para a comparação com os híbridos  $S_0$  inter e intrapopulacionais, já que os mesmos foram obtidos a partir destas populações. Cabe destacar que a heterose estimada neste trabalho não reflete o conceito clássico de heterose, já que as populações de referência não são linhagens puras.

#### **4.5 Estimativa da depressão por endogamia entre os híbridos comerciais**

A depressão por endogamia entre os híbridos comerciais P30F45, Dow657 e DKB333B e suas populações  $S_0$  está apresentada na Tabela 11. Constatou-se mais uma vez que a alta produtividade do híbrido DKB333B depende da alta complementariedade das linhagens que o geraram. Ao contrário desse híbrido, o Dow657, aparentemente não foi produzido por linhagens tão contrastantes, pelo menos para os genes que se expressaram nos ambientes utilizados.

Assim, considerando o processo de seleção de linhagens para a obtenção dos híbridos simples comerciais e também as recombinações e segregações em  $S_0$ , infere-se que um maior número de linhagens deve ser tomado para aumentar a chance de se encontrar combinações intrapopulacionais mais favoráveis.

TABELA 11. Depressão por endogamia entre os híbridos comerciais P30F45 (A), Dow657 (B) e DKB333B (C) e suas populações S<sub>0</sub>.

Híbridos comerciais	Depressão por endogamia (%)
P30F45	59,13
Dow657	27,60
DKB333B	50,03

Os valores encontrados neste trabalho estão de acordo com os obtidos por Araújo e Gerage (2002) que utilizaram nove híbridos comerciais de milho para estimar a depressão por endogamia. Estes nove híbridos e suas gerações S<sub>0</sub> foram avaliados quanto a produtividade de grãos em dois locais. Observaram-se valores de depressão por endogamia de 20% a 66% entre os híbridos.

Resultado semelhante também foi obtido por Lopes et al. (1998), avaliando o efeito da endogamia em gerações avançadas de híbridos simples (HS), híbridos duplos (HD) e híbridos triplos (HT). A redução média de produção de grãos, devido a efeitos depressivos da endogamia, foi de 24% a 67% para HS, de 21% a 55% para HT e de 11% a 51% para HD.

De acordo com Souza (2002), o HS é o que mais sofre com a depressão por endogamia, devido ao fato de todas as plantas apresentarem a mesma constituição e serem, pelo menos teoricamente, completamente heterozigotas.

Por meio da Tabela 1A, observa-se que os híbridos S<sub>0</sub> intrapopulacionais obtidos a partir do híbrido comercial B (Dow657) foram os que apresentaram maior média para produtividade de grãos (6,55 t ha<sup>-1</sup>). Dos cinco híbridos mais produtivos, quatro pertencem ao cruzamento intrapopulacional B. Este fato está associado ao menor efeito da depressão por endogamia ocorrido no híbrido Dow657. Do exposto, percebe-se que a alta produtividade depende não só da heterose, mas também dos efeitos aditivos (m+a), os quais devem ser maiores para o híbrido Dow657. Por isso, esse maior efeito aditivo também se expressou nos seus híbridos intrapopulacionais. Ao se observar os cruzamentos

interpopulacionais, é possível verificar que o híbrido  $S_0$  de maior produtividade ( $13,14 \text{ t ha}^{-1}$ ) foi obtido pelo cruzamento de plantas da geração  $S_0$  dos híbridos simples DKB333B e P30F45, este último com maior efeito da depressão por endogamia.

#### **4.6 Estimativas das distâncias genéticas entre as linhagens $S_1$**

As 48 linhagens  $S_1$  foram genotipadas com 50 *primers* de microssatélites (SSR). Destes, 47 foram utilizados por apresentarem polimorfismo e facilidade de avaliação dos géis. Na Tabela 2A estão discriminados os 47 *primers* utilizados na avaliação das linhagens  $S_1$  de milho.

O número de alelos obtidos foi 186, com média de 3,96 alelos por *primer*. O maior número de alelos foi identificado no *primer* BNLG1016. Dos 47 *primers*, 19 amplificaram três alelos, 18 quatro alelos, 4 amplificaram 5 alelos, 5 amplificaram 6 alelos e 1 *primer* amplificou 7 alelos. O número médio de alelos por loco SSR é similar ao obtido com outros estudos realizados em milho. Menkir et al. (2004), utilizando 38 linhagens e 33 SSR, encontraram 5,33 alelos por loco; Lu e Bernardo (2001), com 40 linhagens e 83 SSR, encontraram 4,9 alelos por loco e Le Clerc et al. (2005), com 133 cultivares e 51 SSR encontraram 3,9 alelos por loco.

O conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) variou de 0,49 para o *primer* BNLG2238 a 0,80 para o *primer* BNLG1016. O PIC médio foi 0,65. Os valores de PIC estão de acordo com os observados por Vaz Patto et al. (2004), ao genotiparem 104 linhagens de milho com 15 marcadores SSR. De acordo com os autores, o PIC ficou entre 0,33 e 0,89, com média de 0,56. Xia et al. (2004), ao genotiparem 155 linhagens de milho com 79 marcadores SSR, encontraram um PIC médio de 0,60.

Como o PIC fornece uma estimativa do poder discriminatório de um marcador, e é sinônimo de diversidade genética, segundo Weir (1996), pode-se

inferir que as 48 linhagens genotipadas com SSR apresentam elevada variabilidade genética.

A correlação entre o número de alelos e o PIC foi alta ( $r = 0,82$ ,  $P \leq 0,001$ ). Este resultado está de acordo com o de Vaz Patto et al. (2004), que observaram um valor de correlação de 0,85.

Na Figura 4B está um exemplo de polimorfismo detectado pelo *primer* BNLG1600 entre 40 das 48 linhagens S<sub>1</sub> genotipadas neste trabalho.

As distâncias genéticas médias, mínima e máxima entre as oito linhagens S<sub>1</sub> utilizadas em cada grupo de cruzamentos encontram-se na Tabela 12. A distância genética média entre todas as linhagens foi 0,75, variando entre 0,40 e 0,89, indicando a existência de grande variabilidade genética entre as linhagens.

A distância genética média nos cruzamentos interpopulacionais foi 0,70, enquanto que nos intrapopulacionais ficou em 0,59. A amplitude de variação para a distância genética foi maior nos cruzamentos intrapopulacionais (0,42). De maneira geral, as linhagens intrapopulacionais apresentaram-se mais similares geneticamente. Como a distância genética é diretamente proporcional à heterose (Falconer, 1981), as maiores produtividades de grãos e heteroses dos híbridos interpopulacionais em relação aos intrapopulacionais estão de acordo com esses resultados.

#### **4.7 Agrupamento das linhagens S<sub>1</sub>**

O dendrograma obtido pelo método UPGMA, das distâncias genéticas baseada em SSR, encontra-se na Figura 1B. O valor cofenético foi alto ( $r = 0,82$ ,  $P < 0,0001$ , 10.000 permutações), refletindo em uma boa concordância com os valores de distância genética. Vaz Patto et al. (2004) consideraram um valor acima de 0,56 como ideal.

TABELA 12. Média, mínimo (Mim), máximo (Max) e desvio padrão (DP) da distância modificada de Roger (DMR), calculada por meio de SSR, com 47 *primers* nos cruzamentos inter e intrapopulacionais.

Tipo de cruzamento	Nº de linhagens S <sub>i</sub>	Média DMR	Min	Max	DP
Entre todos	48	0,75	0,40	0,89	0,09
A X B	8	0,71	0,47	0,81	0,12
A X C	8	0,66	0,47	0,86	0,09
B X C	8	0,74	0,47	0,86	0,10
A X A	8	0,43	0,34	0,76	0,12
B X B	8	0,71	0,40	0,85	0,09
C X C	8	0,62	0,34	0,76	0,11

Neste trabalho assumiu-se como ponto de corte no dendrograma a distância genética média (0,75) entre todas as linhagens S<sub>i</sub> genotipadas com microssatélites.

No dendrograma, observa-se que as linhagens S<sub>i</sub> associadas a cada cruzamento intrapopulacional foram alocadas em três grupos (intra A, intra B e intra C). Partindo do pressuposto de que estas linhagens são provenientes de três diferentes híbridos comerciais e considerando-os grupos heteróticos distintos, os microssatélites foram eficientes na alocação destas linhagens em grupos heteróticos.

Barbosa et al. (2003), ao genotiparem 18 linhagens parcialmente endogâmicas S<sub>3</sub> com marcadores AFLP e SSR, sendo oito derivadas da população BR-105 e dez da população BR-106, observaram que as 18 linhagens foram agrupadas em dois grupos bastante distintos. Segundo os autores, trabalhos anteriores já tinham alocado as duas populações em grupos heteróticos diferentes, concluindo que ambos os marcadores foram eficientes na alocação das linhagens em seus respectivos grupos heteróticos.

Reif et al. (2003b), ao genotiparem 20 populações de milho com 83 marcadores SSR, observaram uma alta correlação entre o relacionamento genético entre estas populações, obtido por meio de SSR e dados de pedigree.

As linhagens associadas aos cruzamentos interpopulacionais não agruparam de forma distinta, como o que ocorreu com as linhagens dos cruzamentos intrapopulacionais, o que era esperado, já que a estrutura de grupos heteróticos deixa de existir entre as linhagens dos cruzamentos interpopulacionais.

#### **4.8 Análise de *bootstrap* dos marcadores SSR**

Os resultados das análises de reamostragens *bootstrap* estão apresentados na Figura 5B. Nota-se que, com 25 *primers*, a estimativa das distâncias genéticas já apresentou alta correlação com a matriz original, considerando os 47 *primers* utilizados neste trabalho. A correlação observada foi de 0,88, com valor de estresse (E) de 0,049 e soma dos quadrados dos desvios (SQ<sub>d</sub>) de 1,66. Cada amostragem foi repetida 10.000 vezes, garantindo uma boa confiabilidade aos resultados. Além disso, de acordo com Kruskal (1964), um valor de estresse menor que 0,05 é indicativo de uma excelente precisão.

Pejic et al. (1998), avaliando 33 linhagens endogâmicas de milho com SSR, determinaram que 20-30 *primers* foram suficientes para estimar, com precisão, as distâncias genéticas entre as linhagens. Em outro trabalho, Barbosa et al. (2003), ao genotiparem 18 linhagens de milho, determinaram que 29 dos 68 marcadores SSR seriam necessários para uma precisa estimativa da distância genética entre as linhagens.

Com isso, é possível concluir que o número de *primers* utilizado neste trabalho foi suficiente para uma boa genotipagem das 48 linhagens S<sub>1</sub>, principalmente porque eles foram escolhidos visando conseguir uma cobertura física representativa do genoma do milho (Tabela 2A).

#### **4.9 Correlações entre as distâncias genéticas e as médias de heterose e produtividade de grãos dos híbridos S<sub>0</sub>**

As correlações de Spearman entre a distância modificada de Roger (DMR), produtividade de grãos dos híbridos S<sub>0</sub> e suas heterose, nos cruzamentos inter e intrapopulacionais, estão apresentadas na Tabela 13.

A correlação entre DMR e produtividade de grãos foi alta e significativa para os cruzamentos interpopulacionais ( $r = 0,84$ ,  $P \leq 0,01$ ). Por outro lado, a correlação entre DMR e produtividade de grãos, nos cruzamentos intrapopulacionais, foi baixa e não significativa ( $r = 0,18$ ,  $P \geq 0,05$ ). A correlação entre DMR e produtividade de grãos foi de  $0,55$  ( $P \leq 0,01$ ), considerando, em conjunto, os cruzamentos inter e intrapopulacionais.

Em milho, vários trabalhos têm indicado a ocorrência de correlações entre a distância genética dos parentais e o desempenho dos híbridos, porém, com diferentes magnitudes (Lee et al., 1989; Smith et al., 1990; Ajmone Marsan et al., 1998; Melchinger et al., 1999; Benchimol et al., 2000; Barbosa et al., 2003).

Os resultados deste trabalho corroboram com os encontrados por Reif et al. (2003a) genotipando sete populações de milho com marcadores SSR. Estas populações foram cruzadas em esquema dialelo e os híbridos avaliados em sete locais em relação a produtividade de grãos. A correlação foi alta e significativa nos cruzamentos intergrupos ( $r = 0,63$ ). Para os autores, esta alta correlação pode estar relacionada a efeitos não aditivos (dominância e epistasia) associados a altos valores de capacidade específica de combinação entre estas populações.

Num outro trabalho, Drinic et al. (2002) genotiparam doze linhagens de diferentes origens com marcadores SSR. As linhagens foram cruzadas em esquema dialelo inter e intragrupos. Os autores observaram que não houve uma tendência de maior associação entre produtividade de grãos e distância genética nos cruzamentos intragrupos em relação aos intergrupos. Em alguns casos, a correlação foi maior nos cruzamentos intergrupos.

TABELA 13. Correlações de Spearman entre a distância modificada de Roger (DMR), produtividade dos híbridos e heterose dos híbridos inter e intrapopulacionais.

Tipo de cruzamento	Número	Produtividade	Heterose <sup>a</sup>	Heterose <sup>b</sup>
Inter	12	0,84 **	0,88 **	0,75 **
Intra	12	0,18 ns	-0,03 ns	0,42 ns
Inter + intra	24	0,55 **	0,45 *	0,58 **

\*/\*\* significativo a 5% e 1% pelo Teste t, <sup>ns</sup> não significativo, <sup>a</sup> em relação às populações S<sub>0</sub>, <sup>b</sup> em relação aos híbridos comerciais.

Com base em relatos da literatura, Melchinger (1999) afirma que somente cruzamentos intragrupos mostram correlação alta entre a distância genética (DG) dos parentais e a produtividade de grãos (RG) dos híbridos. O autor levanta algumas hipóteses para explicar esta alta associação: um oculto relacionamento entre alguns genitores considerados como sendo não relacionados com base em dados de genealogia e a presença de uma mesma fase de ligação entre QTL e marcador nos genitores, o qual resulta em uma covariância positiva entre DG e RG. Já para os cruzamentos intergrupos, a correlação DG e RG, normalmente, é baixa, em função de diferentes fases de ligação entre QTL e marcador nos parentais, levando a valores positivos e negativos que se cancelam, deixando de contribuir para a covariância entre DG e RG.

Por meio dos resultados obtidos neste trabalho observa-se também que em cruzamentos intergrupos, a correlação entre a distância genética dos parentais e a produtividade de grãos dos híbridos pode ser alta. Uma possível explicação para os resultados está associada a uma maior distância genética média entre as linhagens nos cruzamentos interpopulacionais (0,70) que nos intrapopulacionais (0,58). Com isso, o coeficiente de coancestralidade (*f*. Malécot, 1948) é menor entre as linhagens dos cruzamentos interpopulacionais, contribuindo para uma maior correlação entre a distância genética dos parentais e a produtividade de grãos dos híbridos

interpopulacionais. Além disso, a maior variabilidade da produtividade e das heteroses dos híbridos interpopulacionais certamente contribuiu para um maior valor de correlação.

A correlação entre DMR e heterose, com base nas populações  $S_0$ , foi alta e significativa para os cruzamentos interpopulacionais ( $r = 0,88$ ,  $P \leq 0,01$ ). Entretanto, para os cruzamentos intrapopulacionais, correlação entre DMR e heterose foi negativa  $-0,03$  ( $P \geq 0,05$ ). Quando se considerou a correlação entre DMR e heterose em conjunto, a correlação foi de  $0,45$  ( $P \leq 0,05$ ).

A correlação entre DMR e heterose, com base nos híbridos comerciais, foi alta e significativa para os cruzamentos interpopulacionais ( $r = 0,75$ ,  $P \leq 0,01$ ). Já para os cruzamentos intrapopulacionais, a correlação foi média, porém, não significativa ( $r = 0,45$ ,  $P \geq 0,05$ ). A correlação entre DMR e heterose, considerando os cruzamentos inter e intrapopulacionais em conjunto, foi de  $0,58$  ( $P \leq 0,01$ ).

Nota-se que, nos cruzamentos interpopulacionais, a correlação entre a distância genética das linhagens  $S_1$  parentais e o desempenho dos híbridos foi superior aos valores obtidos nos cruzamentos intrapopulacionais.

Em função do agrupamento das linhagens em três grupos heteróticos distintos, segundo sua origem, os marcadores SSR podem ser úteis na seleção de linhagens divergentes entre estes grupos heteróticos, para a obtenção de híbridos com desempenho superior. Isso evidencia que os três híbridos utilizados para gerarem as populações formam grupos heteróticos diferentes. Deve ser considerado que as linhagens utilizadas na obtenção de cada híbrido comercial deveriam ser também de grupos heteróticos diferentes.

De acordo com esses resultados, infere-se que havendo interesse na seleção de linhagens intrapopulacionais, deve-se tomar da população segregante um número maior de linhagens, para aumentar a chance de

identificar aquelas mais contrastantes e, posteriormente, obter híbridos superiores.

A utilização de marcadores SSR associados a QTL para produtividade de grãos, identificados em germoplasmas de milho tropical (Sibov et al., 2003), também pode ter contribuído para os resultados favoráveis obtidos neste trabalho.

#### **4.10 Regressão linear simples entre as distâncias genéticas das linhagens $S_1$ genitoras, as médias de heterose e as médias para produtividade de grãos dos híbridos $S_0$**

Na Figura 6B estão apresentadas as regressões simples entre a distância modificada de Roger (DMR) e a produtividade dos híbridos interpopulacionais e intrapopulacionais.

Percebe-se que 69,03% da variação para produtividade de grãos nos cruzamentos interpopulacionais são explicados pela maior distância genética entre as linhagens parentais. Por outro lado, a distância genética entre as linhagens parentais não exerce influência sobre a produtividade de grãos dos híbridos  $S_0$  intrapopulacionais. Estes resultados são diferentes dos encontrados em alguns trabalhos em milho utilizando diferentes marcadores moleculares.

Betrán et al. (2003) avaliaram híbridos obtidos a partir de um dialelo envolvendo 13 linhagens de milho previamente genotipadas com marcadores RFLP. Os autores registraram que somente 15% da variação para produtividade de grãos entre os híbridos foram explicados pela maior divergência genética entre as linhagens parentais. De maneira semelhante, Shieh et al. (2002) observaram que 16% da variação para produtividade de grãos entre híbridos obtidos a partir de cruzamentos dialélicos eram devido à maior divergência entre as 13 linhagens, genotipadas com marcadores RAPD.

As regressões simples entre DMR e heterose dos híbridos  $S_0$  inter e intrapopulacionais podem ser visualizadas nas Figuras 7B e 8B.

Considerando os híbridos comerciais como base para a estimativa da heterose para produtividade de grãos, percebe-se que, nos híbridos  $S_0$  interpopulacionais, quanto maior a distância genética entre as linhagens parentais, maior a heterose nos cruzamentos ( $R^2 = 0,55$ ). Em relação aos híbridos  $S_0$  intrapopulacionais, verifica-se pouca influência da distância genética entre as linhagens parentais no incremento da heterose ( $R^2 = 0,10$ ).

Em relação à heterose estimada a partir das populações  $S_0$ , o aumento da distância genética entre as linhagens parentais é responsável por 71,55% da variação para heterose, nos cruzamentos interpopulacionais. Em relação aos cruzamentos intrapopulacionais, a distância genética entre os parentais exerce pouca influência sobre o incremento na heterose dos híbridos  $S_0$ . Shieh et al. (2002) verificaram que somente 17% da variação para heterose de híbridos obtidos a partir de 13 linhagens endogâmicas eram explicados pela maior distância genética entre os parentais.

O fenômeno da heterose depende da diversidade genética e dos desvios de dominância entre os parentais. No caso dos híbridos interpopulacionais, ocorreram as duas coisas, daí a correlação alta entre a distância genética e a heterose dos híbridos. Por outro lado, nos híbridos intrapopulacionais, houve maior similaridade entre as linhagens parentais e também menores desvios de dominância, ou seja, a menor variação desses parâmetros resultou na falta de correlação observada nos híbridos intrapopulacionais.

## 5 CONCLUSÕES

Foram identificados híbridos  $S_0$  interpopulacionais superiores à média dos híbridos comerciais e das populações  $S_0$  utilizadas como testemunhas.

Não se observaram híbridos  $S_0$  intrapopulacionais superiores à média dos híbridos comerciais utilizados como testemunhas.

Os marcadores SSR foram eficientes na alocação das linhagens  $S_1$  associadas aos cruzamentos intrapopulacionais em grupos heteróticos distintos, segundo sua origem.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. Disponível em: <http://www.abrasem.com.br>.> Acesso em: 22 fev. 2005.

AJMONE MARSAN, P.; CASTIGLIONE, P.; FU SARI, F.; KUIPER, M.; MOTTO, M. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 96, n. 2, p. 219-227, Feb. 1998.

AJMONE MARSAN, P.; MONFREDINI, G.; LUDWIG, W. F.; MELCHINGER, A. E.; FRANCESCHINI, P.; PAGNOTTO, G.; MOTTO, M. In an elite cross of maize a major quantitative trait locus controls one fourth of genetic variation for grain yield. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 90, n. 3/4, p. 415-424, Mar. 1995.

AMORIM, E. P. **Variabilidade genética em milho doce através de caracteres morfológicos, RAPD e microssatélites**. 2002. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

AMORIM, E. P.; ALMEIDA, C. C. S.; SERENO, M. J. C. M.; BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F. Genetic variability in sweet corn using molecular markers. **Maydica**, Bergamo, v. 48, n. 3, p. 177-181, 2003.

ANDRADE, J. A. C. **Dialelo parcial circulante interpopulacional em milho (*Zea mays* L.) com dois níveis de endogamia dos parentais**. 1995. 134 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

ARAÚJO, P. M. **Dialelo parcial circulante interpopulacional e cruzamento “Top-cross” na avaliação de linhagens parcialmente endogâmicas de milho (*Zea mays* L.)**. 2000. 170 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

ARAÚJO, P. M.; GARBUGLIO, D. D. Análise da heterose percentual em híbridos intervarietais de milho (*Zea mays* L.) em Londrina. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 25., 2004, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: ABMS, 2004. 1 CD-ROM.

ARAÚJO, P. M.; GERAGE, A. G. Capacidade de combinação e depressão por endogamia em híbridos e populações de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 24., 2002, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: ABMS, 2002. 1 CD-ROM.

ÁRCADE, A.; FAIVRE-RAMPANT, P.; LE GUERROUÉ, B.; PAQUES, L. E.; PRAT, D. Heterozygosity and hybrid performance in larch. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 93, n. 8, p. 1274-1281, Dec. 1996.

AUSTIN, D. F.; LEE, M. Detection of quantitative trait loci for grain yield and yield in maize across generation in stress and no stress environments. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1296-1308, Sept./Oct. 1998.

BARBOSA, A. M. M.; GERALDI, I. O.; BENCHIMOL, L. L.; GARCIA, A. A. F.; SOUZA Jr., C. L.; SOUZA, A. P. Relationship of intra and interpopulation tropical maize single cross hybrid performance and genetic distances computed from AFLP and SSR markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 87, n. 1, p. 87-99, 2003.

BARBOSA NETO, J. F. Seleção assistida por marcadores moleculares. In: MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 75-88.

BENCHIMOL, L. L.; SOUZA Jr., C. L.; GARCIA, A. A. F.; KONO, P. M. S.; MANGOLIN, C. A.; BARBOSA, A. M. M.; COELHO, A. S. G.; SOUZA, A. P. Genetic diversity in tropical maize inbred lines: heterotic group assignment and hybrid performance determined by RFLP markers. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, n. 6, p. 491-496, Dec. 2000.

BERNARDO, R. Correlation between testcross performance of lines at early and late selfing generations. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 82, n. 1, p. 17-21, Feb. 1991.

BETRÁN, F. J.; RIBAUT, J.M.; BECK, D. GONZALEZ DE LEÓN, D. Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and nonstress environments. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 3, p. 797-806, May/June 2003.

BISON, O.; RAMALHO, M. A. P.; RAPOSO, F. V. Potencial de híbridos simples de milho para a extração de linhagens. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 348-355, mar/abr. 2003.

CARLONE, M. R.; RUSSEL, W. A. Evaluation of S<sub>2</sub> maize lines reproduced from several generations by random mating within lines: II. Comparisons of testcross performance of original and advanced S<sub>2</sub> and S<sub>8</sub> lines. **Crop Science**, Madison, v. 28, n. 6, p. 916-920, Nov./Dec. 1988.

CARVALHO, A. D. F. **Capacidade de combinação de linhagens parcialmente endogâmicas obtidas de híbridos comerciais de milho**. 2004. 66 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CARVALHO, A. D. F.; SOUZA, J. C.; RIBEIRO, P. H. Desempenho de híbridos de linhagens parcialmente endogâmicas de milho em regiões dos Estados de Roraima e Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 8, p. 985-990, set./out. 2003.

CHARCOSSET, A.; MOREAU, L. Use of molecular markers for the development of new cultivars and the evaluation of genetic diversity. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 81-94, 2004.

CHERES, M. T.; MILLER, J. F.; CRANE, J. M.; KNAPP, S. J. Genetic distance as a predictor of heterosis and hybrid performance within and between heterotic groups in sunflower. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 6, p. 889-894, Apr. 2000.

CROW, J. The rise and fall of overdominance. In: JANICK, J. **Plant breeding reviews**. Purdue: John Wiley & Sons, 2000. v. 17, p.225-257.

CRUZ, C. D. **Programa Genes – Versão Windows**, aplicativo computacional em genética e estatística. Versão 2004.2.1. Viçosa: UFV, 2004.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. 585 p.

CRUZ, C. D.; SCHUSTER, I. **GQMOL – Aplicativo computacional para análise de dados moleculares e de suas associações com caracteres quantitativos**. versão 2004.2.1. Viçosa: UFV, 2004.

DRINIC, S. M.; TRIFUNOVIC, S.; DRINIC, G.; KONSTANTINOV, K. Genetic divergence and its correlation to heterosis in maize as revealed by SSR base markers. **Maydica**, Bergamo, v. 47, p. 1-8, 2002.

DUVICK, D. N. Maize breeding: past, present and future. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 20., 1994, Goiânia. **Anais ...** Goiânia, 1994. p. 1-19.

EAST, E. M. Inbreeding in corn. **Connecticut Agricultural Experimental Station**. 1908. p. 419-428.

FALCONER, D. S. **Introduction to quantitative genetics**. London: Longman, 1981. 438 p.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. **Introduction to quantitative genetics**. 4. Ed. Essex, England: Ed. Longman, 1996. 464 p.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1998. 220 p.

FISHER, R. A. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. **Transactions Royal Society Edinburgh**, Edinburgh, v. 52, p. 399-433, 1918.

FREI, O. M.; STUBER, C. W.; GOODMAN, M. M. Uses of allozymes as genetic markers for predicting performance in maize single cross hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 26, n. 1, p. 37-42, Jan./Feb. 1986.

FROVA, C.; KRAJEWSKY, P.; di FONZO, N.; VILLA, M.; SARI-GORLA, M. Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. I. Yield components. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 99, n. 1/2, p. 280-288, July 1999.

FU, H.; DOONER, H. K. Intraspecific violation of genetic colinearity and its implications in maize. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 99, n. 14, p. 9573-9578, July 2002.

GAMA, E. E. G.; PACHECO, C. A. P.; SANTOS, M. X.; PARENTONI, S. N.; GUIMARÃES, P. E. O; CORREA, L. A.; SOUZA, I. R. P. Heterose e depressão por endogamia em alguns híbridos comerciais de milho de diferentes origens. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 12., 1998, Recife. **Anais...** Recife: ABMS, 1998. 1 CD-ROM.

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

GONZALEZ, S.; CÓRDOVA, H.; RODRÍGUEZ, S.; DE LEON, H.; SERRATO, V. M. Determinación de un patron heterotico a partir de la evaluación de un dialelo de diez líneas de maiz subtropical. **Agronomia Mesoamericana**, Mexico, v. 8, p. 1-7, 1997.

GOOD, R. L.; HALLAUER, A. R. Inbreeding depression in maize by selfing and full-sibbing. **Crop Science**, Madison, v. 17, n. 6, p. 935-940, Nov./Dec. 1977.

GOODMAN, M. M.; STUBER, C. W. Races of maize: VI. Isozyme variation among races of maize in Bolivia. **Maydica**, Bergamo, v. 28, n. 3, p. 169-187, 1983.

GOODNIGHT, C. J. Epistasis and the effect of founder events on the additive genetic variance. **Evolution**, Lawrence, v. 42, n. 2, p. 441-454, Mar./Apr. 1998.

GRAHAM, G. I.; STUBER, C. W.; WOLFF, D. W. Characterization of a yield quantitative trait locus on chromosome five of maize by fin mapping. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 6, p. 1601-1610, Nov./Dec. 1997.

HALLAUER, A. R. Method's use in developing maize inbreds. **Maydica**, Bergamo, v. 35, n. 1, p. 1-16, Jan./Abr. 1990.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HALLAUER, A. R.; SEARS, J. H. Changes in quantitative traits associated with inbreeding in a synthetic variety of maize. **Crop Science**, Madison, v. 13, n. 3, p. 327-330, May/June 1973.

HAN, G. C.; VASAL, S. K.; BECK, D. L.; ELIAS, E. Combining ability of inbred lines derived from CIMMYT maize (*Zea mays* L.) germoplasm. **Maydica**, Bergamo, v. 36, n. 1, p. 57-64, 1991.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>.> Acesso em: 01 nov. 2004.

JONES, D. F. The effects of inbreeding and crossbreeding upon development. **Connecticut Agricultural Experimental Station Bulletin**, Washington, v. 297, p. 5-100, 1918.

KAO, C. H.; ZENG, Z. B.; TEASDALE, R. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Rome, v. 152, n. 3, p. 1203-1216, July 1999.

KHAIRALLAH, M. M.; BOHN, M.; JIANG, C.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J. A.; MELCHINGER, A. E.; GONZÁLEZ de LÉON, D.; HOISINGTON, D. A. Molecular mapping of QTL for southwestern corn borer resistance, plant height and flowering in tropical maize. **Plant Breeding**, Berlin, v. 117, n. 4, p. 309-318, Sept. 1998.

KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny means basis. **Crop Science**, Madison, v. 25, n. 1, p. 192-194, Jan./Feb. 1985.

KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a no metric hypothesis. **Psychometrika**, Williamsburg, v. 29, n. 1, p. 1-27, 1964.

LANDER, E. S.; BOTSTEIN, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, Rome, v. 121, n. 1, p. 185-199, Jan. 1989.

LANKEY, K. R.; HALLAUER, A. R.; KAHLER, A. L. Allelic differences at enzyme loci and hybrid performance in maize. **The Journal of Heredity**, Rome, v. 78, n. 4, p. 231-234, July/Aug. 1987.

LANZA, L. L.; SOUZA Jr., C. L.; OTTOBONI, L. M. M.; VIEIRA, M. L. C.; SOUZA, A. P. Genetic distance of inbred lines and prediction of maize single-cross performance using RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 8, p. 1023-1030, June 1997.

LE CLERC, V.; BAZANTE, F.; BARIL, C.; GUIARD, J.; ZHANG, D. Assessing temporal changes in genetic diversity of maize varieties using microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 110, n. 2, p. 294-302, Jan. 2005.

LEE, M.; GODSHALK, E. B.; LAMKEY, K. R.; WOODMAN, W. W. 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.

LIMA, M. W. O. P.; SOUZA, E. A.; RAMALHO, M. A. P. Procedimentos para a escolha de populações de milho para a extração de linhagens. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 2, p. 153-158, jan./abr. 2000.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v. 44, n. 3, p. 389-401, Mar. 1989.

LOPES, M. T. G.; VIANA, J. M. S.; MATTA, F. P. Efeito depressivo da endogamia em três tipos genéticos de híbridos de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 12., 1998, Recife. **Anais...** Recife: ABMS, 1998. 1 CD-ROM.

LU, H.; BERNARDO, R. Molecular marker diversity among current and historical maize inbreds. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 103, n. 4, p. 613-617, Sept. 2001.

LÜBBERSTEDT, T.; MELCHINGER, A. E.; DUBLE, C.; VUYLSTEKE, M.; KUIPER, M. Relationships among early European maize inbreds: IV. Genetic diversity revealed with AFLP markers and comparison with RFLP, RAPD, and pedigree data. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 3, p. 783-791, May/June 2000.

MALÉCOT, G. **Les mathématiques de l'hérédité**. Masson et Cie, Paris.

MALOSSETI, M.; VOLTAS, J.; ROMAGOSA, I.; ULLRICH, S. E.; EUWIJK, F. A. Mixed model including environmental covariables for studying QTL by environment interaction. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 139-145, 2004.

MELCHINGER, A. E. Genetic diversity and heterosis. In: COORS, J. G.; PANDEY, S. **The genetics and exploitation of heterosis in crops**. Madison: ASA, 1999. p. 99-118.

MELCHINGER, A. E.; UTZ, H. F.; SCHON, C. C. QTL analyses of complex traits with cross validation, bootstrapping and other biometric methods. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 1-11, 2004.

MELCHINGER, A. E.; UTZ, H.; SCHON, C. C. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals low power of QTL detections and large bias in estimates of QTL effects. **Genetics**, Rome, v. 149, n. 1, p. 383-350, May 1998.

MENKIR, A.; MELAKE-BERHAN, A.; INGELBRECHT, A. T. I.; ADEPOJU, A. Grouping of tropical mid-altitude maize inbred lines on the basis of yield data and molecular markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 108, n. 8, p. 1582-1590, May 2004.

MESSMER, M. M.; MELCHINGER, A. E.; LEE, M.; WOODMAN, W. L.; LEE, E.; KANKEY, K. R. Genetic diversity among progenitors and elite lines from Iowa Stiff Stalk (BSSS) maize population: comparison of allozyme and RFLP data. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 83, n. 1, p. 97-107, 1991.

MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.

MILLE, M. **TFPGA – Toll for population genetic analysis**, version 1.3. Northern Arizona University, 1997.

MIRANDA FILHO, J. B. Inbreeding and heterosis. In: COOR, J. G.; PANDEY, S. (Ed.). **The genetics and exploitation of heterosis in crops**. Madison: American Society of Agronomy. 1999. p. 69-80.

MORGANTE, M.; OLIVIERI, A. M. PCR-amplification microsatellites as markers in plant genetics. **The Plant Journal**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 175-182, Jan. 1993.

PARENTONI, S. N.; MAGALHÃES, J. V.; PACHECO, C. A. P.; SANTOS, M. X.; ABADIE, T.; GAMA, E. E. G.; GUIMARÃES, P. E. O.; MEIRELLES, W. F.; LOPES, M. A.; VASCONCELOS, M. J. V.; PAIVA, E. Heterotic groups based on yield-specific ability data and phylogenetic relationship determined by RAPD markers for 28 tropical maize open pollinated varieties. **Euphytica**, Wageningen, v. 121, n. 2, p. 197-208, 2001.

PEJIC, I.; AJMONE MARSAN, P.; MORGANTE, M.; KOZUMPLICK, V.; CASTIGLIONI, P.; TARAMINO, G.; MOTTO, M. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 97, n. 8, p. 1248-1255, Dec. 1998.

PINGALI, P. L.; PANDEY, S. Meeting maize World needs: technological opportunities and priorities for the public sector. In: PINGALI, P. L. (Ed.). **CYMMIT 1999-2000 world maize facts and trends. Meeting world maize needs: technological opportunities and priorities for the public sector.** México: CYMMIT, 2001. p. 1-9.

PINTO, R. M. C.; SOUZA Jr., C. L.; CARLINI-GARCIA, L. A.; GARCIA, A. A. F.; SOUZA, A. P. Comparison between molecular markers and diallel crosses in the assignment of maize lines to heterotic groups. **Maydica**, Bergamo, v. 48, n. 1, p. 63-73, 2003.

RAPOSO, F. V. **Seleção recorrente recíproca em populações derivadas de híbridos simples de milho.** 2002. 106 p. Doutorado (Tese em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

REIF, J. C.; MELCHINGER, A. E.; FRISCH, M. Genetical and mathematical properties of similarity and dissimilarity coefficients applied in plant breeding and seed bank management. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 2005.

REIF, J. C.; MELCHINGER, A. E.; XIA, X. C.; WARBURTON, M. L.; HOISINGTON, D. A.; VASAL, S. K.; BECK, D.; BOHN, M.; FRISCH, M. Use of SSRs for establishing heterotic groups in subtropical maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 5, p. 947-957, Sept. 2003a.

REIF, J. C.; MELCHINGER, A. E.; XIA, X. C.; WARBURTON, M. L.; HOISINGTON, D. A.; VASAL, S. K.; SRINIVASAN, G.; BOHN, M.; FRISCH, M. Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 4, p. 1275-1282, July/Aug. 2003b.

RIBAUT, J. M.; JIANG, C.; GONZÁLEZ-de LÉON, D.; EDMEADES, G. O.; HOISINGTON, D. A. Identification of quantitative trait loci under drought conditions and tropical maize. 2. Yield components and marker assisted strategies. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 6/7, p. 887-896, May 1997.

ROHLF, F.J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. New York: Exeter Software, 2000. 38 p. (Version 2.1).

ROSINHA, R. O. **Estratégias competitivas e reestruturação da indústria de sementes no Brasil: a análise do segmento do milho**. 2000. 134 p. Dissertação (Mestrado em Mercadologia e Administração Estratégica) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SAGHAI-MAROOF, M. A.; SOLIMAN, K. M.; JORGENSEN, R. A.; ALLARD, R. W. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 83, p. 1757-1761, 1984.

SALIN-NETO, A. A. M.; PEDRO, H. E.; RIBEIRO, J.; SOUZA, J. R.; SEBASTIÃO FILHO, N. R. Desempenho produtivo de híbridos de milho de endogamia parcial ( $S_3 \times S_3$ ) em nove locais do Estado de Goiás. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 25., 2004, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: ABMS, 2004. 1 CD-ROM.

SANGUINETI, M. C.; TUBEROSA, R.; LANDI, P.; SALVI, S.; MACCAFERRI, M.; CASARINI, E.; CONTI, S. QTL analysis of drought related traits and grain yield in relation to genetic variation for leaf abscisic acid concentration in field grown maize. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 337, p. 1289-1297, Oct. 1999.

SAS Institute. **SAS language and procedures: Usage**. Version 8.1. Cary NC: SAS: SAS Institute, 2000. CD-ROM.

SAX, K. The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. **Genetics**, Rome, v. 8, p. 552-556, 1923.

SCAPIM, C. A.; CARVALHO, A. G. P.; CRUZ, C. D. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 5, p. 683-686, maio 1995.

SENIOR, M. L.; MURPHY, J. P.; GOODMAN, M. M.; STUBER, C. W. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 4, p. 1088-1098, July/Aug. 1998.

SHIEH, G. J.; THSENG, F. S. Genetic diversity of Tainan White maize inbred lines and prediction of single cross hybrid performance using RAPD markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 124, n. 3, p. 307-313, 2002.

SHULL, G. H. A pure line method of corn breeding. **American Breeders Association Report**, Washington, v. 4, p. 296-301, 1909.

SHULL, G. H. What is 'heterosis'. **Genetics**, Austin, v. 33, n. 5, p. 439-466, 1948.

SIBOV, S. T.; SOUZA JR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; SILVA, A. R.; GARCIA, A. F.; MANGOLIN, C. A.; BENCHIMOL, L. L.; SOUZA, A. P. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsattelite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. **Hereditas**, Copenhagen, v. 139, n. 2, p. 107-115, 2003.

SIMON, G. A.; SCAPIM, A. A.; PACHECO, C. A. P.; PINTO, R. J. B.; BRACCINI, A. L.; TONET, A. Depressão por endogamia em populações de milho pipoca. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 1, p. 55-62, 2004.

SMITH, O. S.; SMITH, J. S. C.; BOWEN, S. L.; TENBORG, R. A.; WALL, S. J. Similarities among a group of elite inbreds as measured by pedigree, F<sub>1</sub> heterosis, and RFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 80, n. 6, p. 833-840, 1990.

SMITH, S.; LUK, S.; SOBRAL, B.; MUHAWISH, S.; PELEMAN, J.; ZABEAU, M. Association among inbred lines of maize using RFLP and amplification technologies (AFLP and AP-PCR), and correlations with pedigree, F<sub>1</sub> yield and heterosis. **Maize Genetics Newsletter**, Oxford, v. 68, p. 45, 1994.

SOENGAS, P.; ORDAS, B.; MALVIR, R. A.; REVILLA, P.; ORDÁS, A. Heterotic patterns among flint maize populations. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 3, p. 844-849, May/June 2003.

SOUZA, A. P. Biologia molecular aplicado ao melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 939-964.

SOUZA, J. C.; RIBEIRO, P. H. E.; MARQUES Jr., O.; MORETO, A. L. Avaliação de híbridos simples, triplos e duplos e suas respectivas gerações endogâmicas. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 24., 2002, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: ABMS, 2002. 1 CD-ROM.

SOUZA JR., C. L. Avaliação de híbridos de linhagens S<sub>3</sub> de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 20., 1995, Goiânia. **Anais...** Goiânia: ABMS/ENGOPA/EMBRAPA/UFG/EMATER, 1995. p. 95.

SOUZA Jr., C. L. Interpopulation genetic variances and hybrid breeding programs. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 15, n. 3, p.643-656, Sept. 1992.

SOUZA Jr., C. L. Melhoramento de espécies alógamas. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 159-199.

SOUZA Jr., C. L. **Predição de híbridos** [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por [edson\\_amorim@ufla.br](mailto:edson_amorim@ufla.br) em 26 out. 2004.

SOUZA SOBRINHO, F. **Divergência genética de híbridos simples e alternativa para a obtenção de híbridos duplos de milho**. 2001. 96 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SOUZA SOBRINHO, F.; RAMALHO, M. A. P.; SOUZA, J. C. Alternatives for obtaining double cross maize hybrids. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 70-76, abr. 2002.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw, 1980. 633 p.

SURESH, K. S.; KHANNA, R. Physiological, biochemical, and genetic basis of heterosis. **Advances in Agronomy**, New York, v. 27, p. 123-174, 1975.

TANSKLEY, S. D. Mapping polygenes. **Annual Reviews of Genetics**. Palo Alto, v. 27, p. 205-233, Dec. 1993.

TERRON, A.; PRECIADO, E.; CÓRDOVA, H.; MICKELSON, H.; LÓPEZ, R. Determinación del patron heterotico de 30 lineas de maiz derivadas de la población 43SR del CYMMIT. **Agronomia Mesoamericana**, Mexico, v. 8, n. 1, p. 26-34, 1997.

VASAL, CORDOVA, H.; PANDEY, S.; SRINIVASAN, G. Tropical maize and heterosis. In: COORS, J. G.; PANDEY, S. **The genetics and exploitation of heterosis in crops**. Madison: ASA, 1999. p. 363-373.

VAZ PATTO, M. C.; SATOVIC, Z.; PÊGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germoplasm using microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 63-72, 2004.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G. **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 135-214.

VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M. A. P. Contribuição do melhoramento de plantas no Brasil. In: PATERNIANI, E. (Ed.). **Agricultura brasileira e pesquisa agropecuária**. Brasília: EMBRAPA. Comunicação para transferência de tecnologia, 2000. p. 57-89.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis**. Sunderland: Sinauer, 1996. 445 p.

WEISING, K.; WEIGAND, F.; DRIESEL, A. J.; KAHL, G.; ZISCHLER, H.; EPPLEN, J. T. Polymorphic simple GATA/GACA repeats in plant genomes. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 17, n. 2, p. 120-128, 1989.

XIA, X. C.; REIF, J. C.; HOISINGTON, D. A.; MELCHINGER, A. E.; FRISCH, M.; WARBURTON, M. L. Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers. **Crop Science**, Madison, v. 44, n. 6, p. 2230-2237, Nov./Dec. 2004.

YOUSEF, G. G.; JUVIK, J. A. Comparison of phenotypic and marker assisted selection for quantitative traits in sweet corn. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 3, p. 645-655, May/June 2001.

ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Rome, v. 136, n. 4, p. 1457-1468, Apr. 1994.

## ANEXOS

### ANEXO A

	Página
TABELA 1A	Número de cruzamentos, produtividade médio de grãos (t ha <sup>-1</sup> ), variação para produtividade (t ha <sup>-1</sup> ) e heterose média (t ha <sup>-1</sup> ) dos cruzamentos inter e intrapopulacionais, com base na análise conjunta.....
TABELA 2A	Locos microssatélites (SSR), localização no mapa (Bin), seqüência repetida, número de alelos e conteúdo de informação de polimorfismo (PIC).....

## ANEXO B

	Página	
FIGURA 1B	Distância modificada de Roger entre linhagens $S_1$ . (A, B e C) linhagens dos cruzamentos Intra A, Intra B e Intra C.....	90
FIGURA 2B	Produtividade média de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ) dos híbridos interpopulacionais, considerando a análise conjunta. Produtividade média dos híbridos comerciais (tracejado), produtividade média das populações $S_0$ (pontilhado).....	91
FIGURA 3B	Produtividade média de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ) dos híbridos intrapopulacionais, considerando a análise conjunta. Produtividade média dos híbridos comerciais (tracejado), produtividade média das populações $S_0$ (pontilhado).....	92
FIGURA 4B	Exemplo de polimorfismo detectado pelo <i>primer</i> de microssatélites BNLG 1600 entre 40 linhagens $S_1$ de milho.....	93
FIGURA 5B	Número ótimo de marcadores para uma precisa estimativa das distâncias genéticas entre as linhagens $S_1$ de milho, obtida por meio de 10.000 reamostragens <i>bootstrap</i> .....	94
FIGURA 6B	Regressão simples entre distância modificada de Roger e produtividade de grãos dos híbridos inter (a) e intrapopulacionais (b).....	95
FIGURA 7B	Regressão simples entre distância modificada de Roger e heterose dos híbridos inter (a) e intrapopulacionais (b), com base nos híbridos comerciais.....	96
FIGURA 8B	Regressão simples entre distância modificada de Roger e heterose dos híbridos inter (a) e intrapopulacionais (b), com base nas populações $S_0$ .....	97

TABELA 1A. Número de cruzamentos, produtividade média de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ), variação para produtividade ( $t\ ha^{-1}$ ) e heterose média ( $t\ ha^{-1}$ ) dos cruzamentos inter e intrapopulacionais, com base na análise conjunta.

Tipo	Nº	Produtividade	Variação	Heterose média*	Variação	Heterose média**	Variação
Total	163	8,53	2,99 a 13.14	2,50	-3,68 a 7,60	-3,06	-10,80 a 3,07
A X B	34	9,78	4,92 a 13.14	4,24	-0,62 a 7,60	-0,29	-5,15 a 3,07
A X C	48	10,03	6,25 a 12.84	4,21	0,43 a 7,01	-2,64	-6,42 a 0,17
B X C	28	8,91	5,56 a 12.01	2,09	-1,26 a 5,19	-2,72	-6,07 a 0,38
A X A	17	5,85	2,99 a 9.31	1,31	-1,55 a 4,77	-5,26	-8,12 a -1,80
B X B	17	6,55	3,48 a 10,29	0,02	-3,05 a 3,76	-2,47	-5,54 a 1,27
C X C	19	6,09	3,43 a 8,82	-1,02	-3,68 a 1,71	-8,14	-10,80 a -5,41
Test. F <sub>1</sub> A		11,11					
Test. F <sub>1</sub> B		9,02					
Test. F <sub>1</sub> C		14,23					
Média F <sub>1</sub>		11,45					
Test. S <sub>0</sub> A		4,54					
Test. S <sub>0</sub> B		6,53					
Test. S <sub>0</sub> C		7,11					
Média S <sub>0</sub>		6,06					

Test: testemunhas; F<sub>1</sub>: híbridos comerciais; S<sub>0</sub>: populações, \* em relação às populações S<sub>0</sub>, \*\* em relação aos híbridos comerciais; A: P30F45, B: Dow657 e C: DKB333B.

TABELA 2A. Locos microssatélites (SSR), localização no mapa (Bin), sequência repetida, número de alelos e conteúdo de informação de polimorfismo (PIC).

Locos SSR	Bin	Repetição	Alelos	PIC	Locos SSR	Bin	Repetição	Alelos	PIC
BNLG1484	1,03	(AG)19	4	0,67	UMC1014	6,04	(GA)12	4	0,63
BNLG1016	1,04	(AG)20	7	0,80	UMC1857	6,04	(TAA)6	4	0,59
BNLG2238	1,04	(AG)16	3	0,49	UMC1653	6,07	(GAAA)24	6	0,78
UMC1297	1,05	(GA)6	3	0,58	UMC1409	7,01	(GCTC)4	3	0,66
BNLG615	1,07	SI	3	0,55	BNLG434	7,03	SI	4	0,68
UMC1845	2,03	(AG)8	6	0,77	BNLG1666	7,04	(AG)34	3	0,65
BNLG166	2,04	SI	4	0,61	DUPSSR13	7,04	(CA)12	4	0,56
BNLG2077	2,07	(AG)33	4	0,73	UMC1154	7,05	(AC)6	3	0,59
UMC1230	2,09	(TAA)8	3	0,60	BNLG1176	8,05	(AG)37	4	0,69
UMC1394	3,01	(AT)10	4	0,58	BNLG1607	8,06	(AG)18	3	0,64
BNLG1951	3,06	(AG)11	5	0,72	BNLG240	8,06	SI	4	0,66
BNLG2241	3,06	(AG)26	4	0,71	UMC1069	8,08	(GGAGA)6	3	0,61
BNLG1318	4,01	(AG)28	4	0,62	UMC1638	8,09	(CTCCGG)5	4	0,60
UMC1943	4,02	SI	3	0,55	BNLG1724	9,01	(AG)31	4	0,65
BNLG1755	4,05	(AG)27	3	0,61	BNLG2122	9,01	(AG)17	6	0,81
UMC1088	4,05	(CT)7	5	0,69	UMC1893	9,02	(AGC)5	4	0,64
BNLG1621	4,06	(AG)18	3	0,66	UMC1804	9,07	(AG)44	5	0,75
BNLG589	4,10	SI	4	0,59	UMC1380	10,00	(CTG)5	3	0,56
BNLG1006	5,00	(AG)20	3	0,59	UMC1318	10,01	(GTC)5	6	0,81
BNLG105	5,02	SI	3	0,58	UMC1432	10,02	(AG)6	3	0,58
UMC1221	5,04	(CT)7	4	0,68	BNLG2336	10,04	(AG)16	3	0,49
UMC1792	5,08	(CGG)5	4	0,58	BNLG1250	10,05	(AG)30	3	0,65
BNLG386	5,09	SI	5		Total			186	
BNLG1600	6,00	(AG)21	3	0,70	Média			3.96	0,65
BNLG1371	6,02	SI	6	0,60					

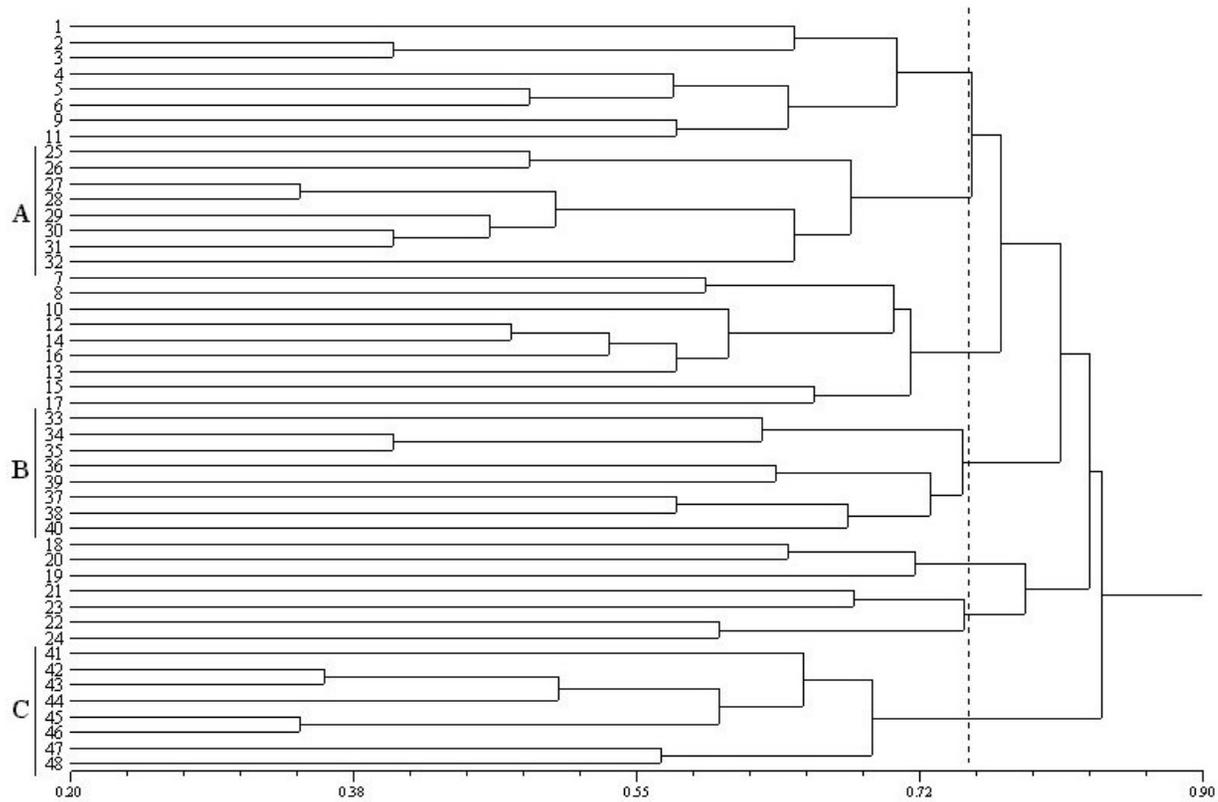


FIGURA 1B. Distância modificada de Roger entre linhagens  $S_1$ . (A, B e C) linhagens dos cruzamentos intrapopulacionais A, B e C.

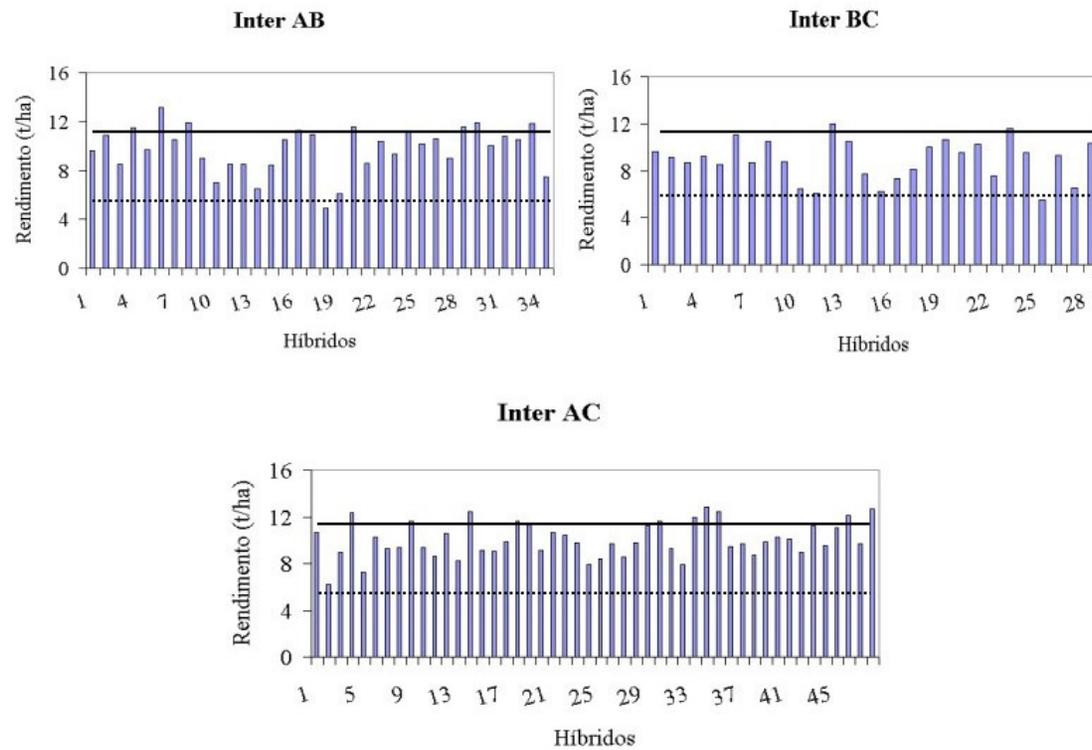


FIGURA 2B. Produtividade média de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ) dos híbridos interpopulacionais, considerando a análise conjunta. Produtividade média dos híbridos comerciais (tracejado), produtividade média das populações  $S_0$  (pontilhado).

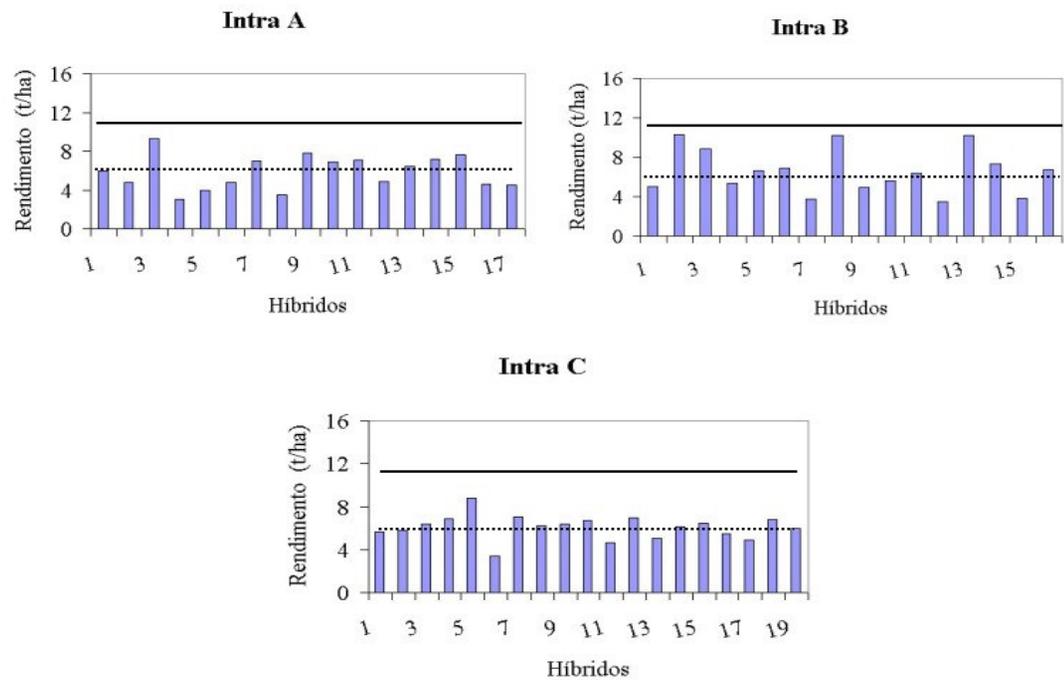


FIGURA 3B. Produtividade média de grãos (t ha<sup>-1</sup>) dos híbridos intrapopulacionais, considerando a análise conjunta. Produtividade média dos híbridos comerciais (tracejado), produtividade média das populações S<sub>0</sub> (pontilhado).

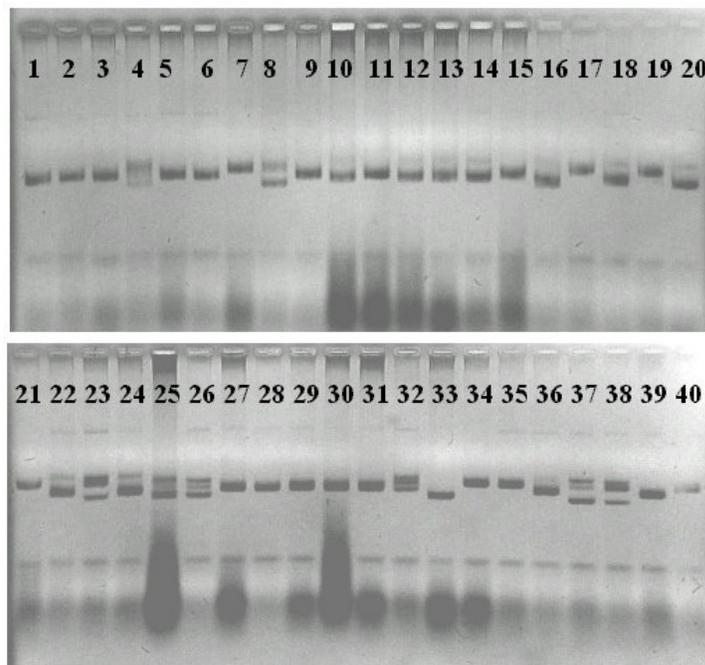


FIGURA 4B. Exemplo de polimorfismo detectado pelo *primer* de microssatélites BNLG 1600 entre 40 linhagens S<sub>1</sub> de milho.

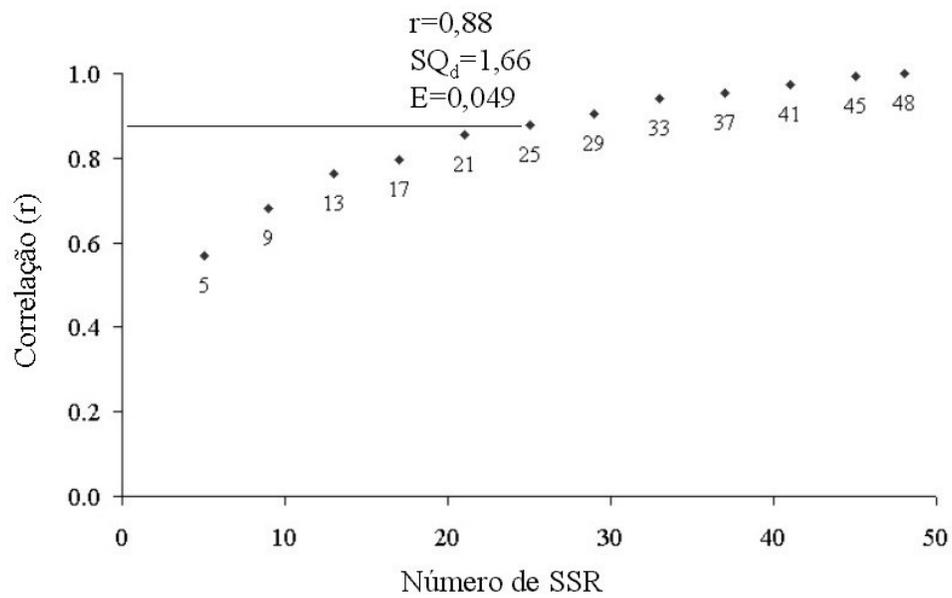


FIGURA 5B. Número ótimo de marcadores para uma precisa estimativa das distâncias genéticas entre as linhagens  $S_1$  de milho, obtida por meio de 10.000 reamostragens *bootstrap*.

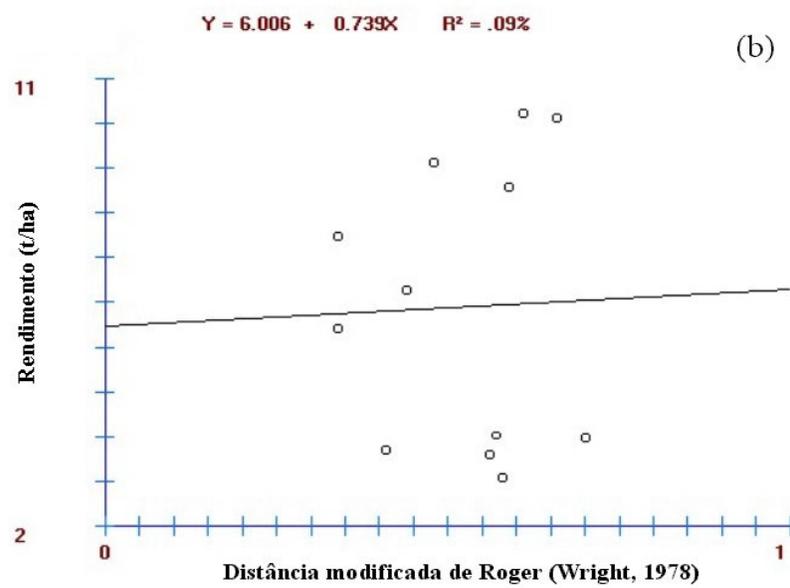
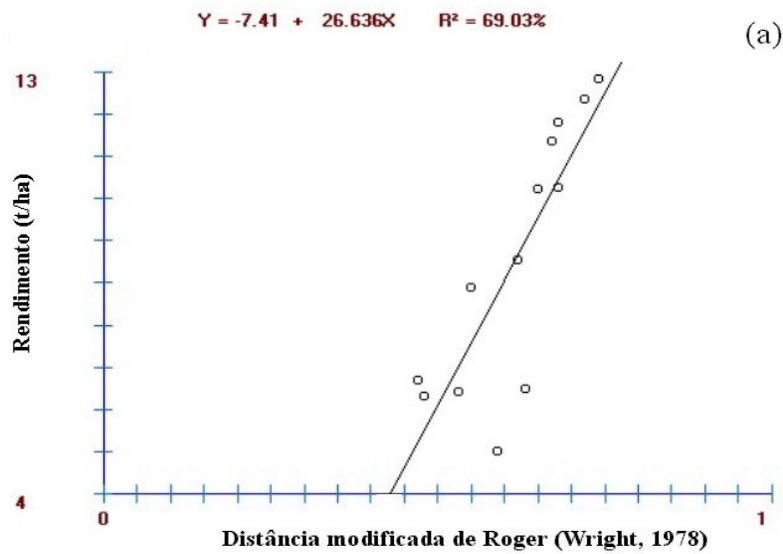


FIGURA 6B. Regressão simples entre distância modificada de Roger e produtividade de grãos dos híbridos inter (a) e intrapopulacionais (b).

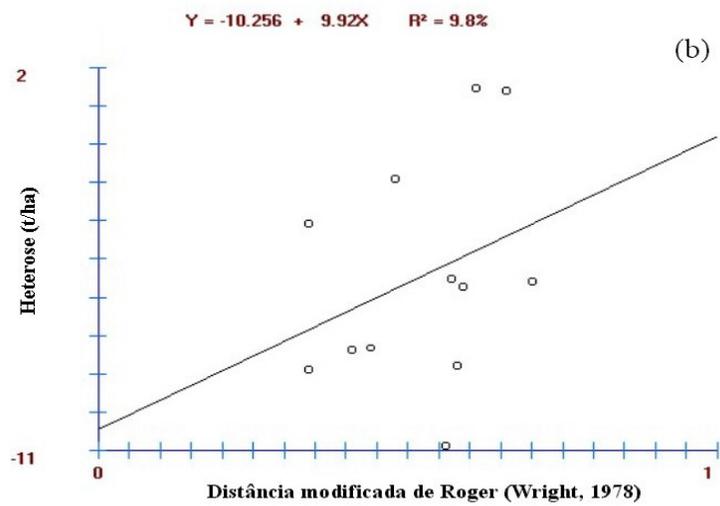
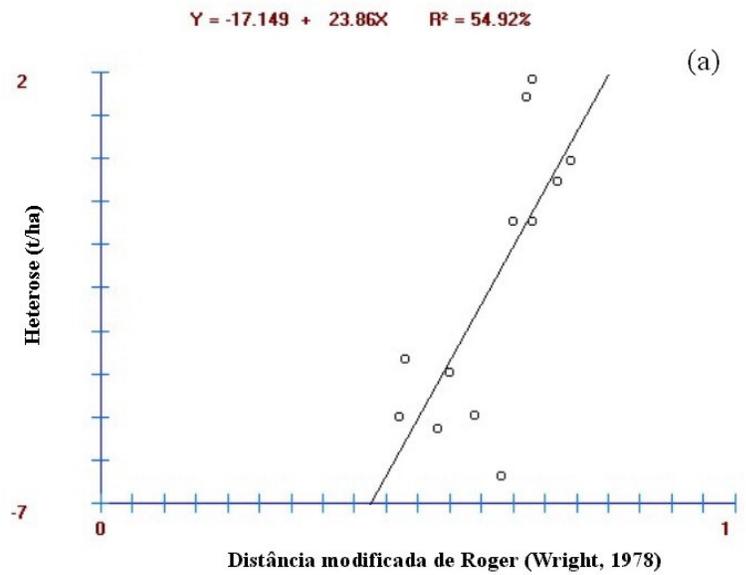


FIGURA 7B. Regressão simples entre distância modificada de Roger e heterose dos híbridos inter (a) e intrapopulacionais (b), com base nos híbridos comerciais.

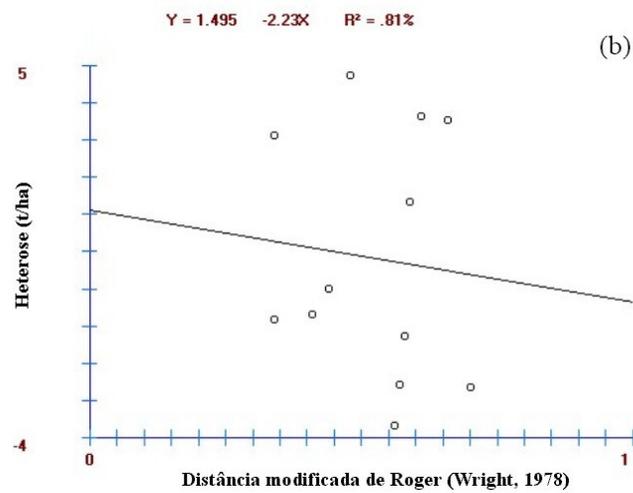
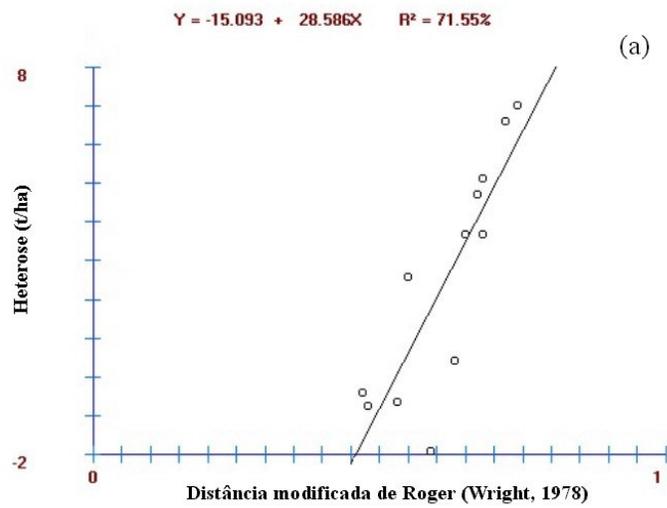


FIGURA 8B. Regressão simples entre distância modificada de Roger e heterose dos híbridos inter (a) e intrapopulacionais (b), com base nas populações  $S_0$ .