

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**Divergência genética entre linhagens de milho estimada
por microssatélites e correlação com desempenho de
híbridos simples.**

PAULA GARCIA MEIRELLES

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristina Lacerda Soares Petrarolha Silva
Co – orientador: Prof. Dr. João Antônio da Costa Andrade

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia -
UNESP – Campus de Ilha Solteira, para
obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Especialidade: Sistemas de Produção

Ilha Solteira – SP
agosto/2009

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da UNESP - Ilha Solteira.

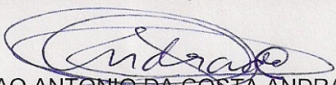
- M514d Meirelles, Paula Garcia.
Divergência genética entre linhagens de milho estimada por microssatélites e correlação com desempenho de híbridos simples / Paula Garcia Meirelles. -- Ilha Solteira : [s.n.], 2009.
92 f.
- Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2009
- Orientador: Cristina Lacerda Soares Petrarolha Silva
Co-orientador: João Antônio da Costa Andrade
Bibliografia: p. 78-92
1. Plantas – Melhoramento genético.
 2. Marcadores moleculares.
 3. Milho híbrido.

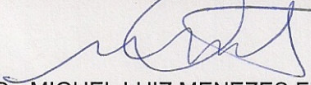
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

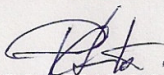
TÍTULO: Divergência genética entre linhagens de milho utilizando microsatélites e correlação com desempenho de híbridos simples

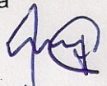
AUTORA: PAULA GARCIA MEIRELLES
ORIENTADOR: Prof. Dr. JOAO ANTONIO DA COSTA ANDRADE

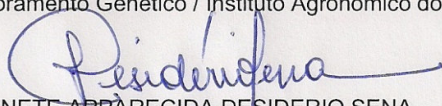
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR em AGRONOMIA ,
Área: SISTEMAS DE PRODUÇÃO, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JOAO ANTONIO DA COSTA ANDRADE
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. MIGUEL LUIZ MENEZES FREITAS
Estação Ecológica de Ribeirão Preto / Instituto Florestal de São Paulo


Prof. Dr. PEDRO CESAR DOS SANTOS
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. PEDRO MÁRIO DE ARAÚJO
Área de Melhoramento Genético / Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR


Profa. Dra. JANETE APPARECIDA DESIDERIO SENA
Departamento de Biologia Aplicada a Agropecuária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 21 de agosto de 2009.

*Aos meus pais, William Reis Meirelles e Maria Ofélia Garcia
Meirelles,*

Aos meus irmãos, Gabriela e Vinícius,

Ao meu namorado, Leandro Ferreira Grassi,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À minha família, que me deu apoio incondicional durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu namorado Leandro, que foi essencial para a conclusão deste, pela compreensão, carinho e dedicação.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos, Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia e Departamento de Biologia e Zootecnia, pelo apoio.

À Prof^ª. Dr^ª. Cristina Lacerda Soares Petrarolha Silva, pela orientação, ensinamento, compreensão, paciência e, acima de tudo, pela amizade.

Ao Prof. Dr. João Antonio da Costa Andrade, pela colaboração e orientação.

Ao Prof. Dr. Mário Luiz Teixeira de Moraes e à toda equipe do Laboratório de Genética de Populações e Silvicultura, pelo auxílio no desenvolvimento das análises moleculares.

Aos funcionários da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da FEIS, pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho de campo.

Às bancas examinadoras da qualificação e da defesa pelas valiosas correções e sugestões, contribuindo para melhorar o trabalho desenvolvido.

A todos aqueles que mesmo não citados aqui, contribuíram de alguma forma para a conclusão deste trabalho.

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE LINHAGENS DE MILHO ESTIMADA POR MICROSSATÉLITES E CORRELAÇÃO COM DESEMPENHO DE HÍBRIDOS SIMPLES

Autora: PAULA GARCIA MEIRELLES

Orientadora: Prof^a. Dr^a. CRISTINA LACERDA SOARES PETRAROLHA SILVA

Co-orientador: Prof. Dr. JOÃO ANTONIO DA COSTA ANDRADE

RESUMO

O sucesso nos programas de melhoramento genético de milho depende da identificação de genitores com boa capacidade de combinação para a produção de híbridos e também da conservação da variabilidade genética do germoplasma. Os marcadores moleculares são ferramentas da genética molecular, muito empregados em avaliações de diversidade e distância genética, uma vez que possibilitam a identificação de variações diretamente nos genótipos. A maioria dos trabalhos que utilizam a distância genética para predição de híbridos simples tem sido conduzida com germoplasmas de clima temperado. Entretanto, os germoplasmas tropicais normalmente apresentam maior variabilidade genética, o que gera dificuldades na alocação de suas linhagens em grupos heteróticos bem definidos, baseando-se apenas na divergência de caracteres fenotípicos. Assim o presente trabalho objetivou avaliar, por meio de marcadores microssatélites, a diversidade genética em 40 linhagens de milho, oriundas dos compostos Dentado e Flintisa. Objetivou-se também, comparar o sistema de predição dos híbridos simples interpopulacionais por meio das distâncias genéticas estimadas a partir de marcadores microssatélites com a predição por meio da capacidade geral de combinação das linhagens, obtida por meio de um dialelo parcial circulante. Foram genotipados 18 locos microssatélites em 20 linhagens do composto Dentado e 20 linhagens do composto Flintisa. Verificou-se ocorrência de diversidade genética nos dois grupos de linhagens, sendo polimórficos todos os 18 locos SSR, com um total de 117 alelos. O número de alelos por loco variou de 3 (ϕ 059) a 13 (ϕ 299852), com média de 6,5. A heterozigosidade esperada variou de 0,51 a 0,85, com média de 0,70, enquanto que a heterozigosidade observada variou de 0,00 a 0,16, com média de 0,06. Todos os locos apresentaram desvios significativos do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, por excesso de homozigotos, com índices de fixação variando de 0,83 a 1,00, o que confirma o nível máximo

de endogamia a que os compostos foram submetidos para a extração das linhagens, muito embora, diversos locos ainda não tenham atingido o estado absoluto de homozigose. Os compostos Dentado e Flintisa diferiram não apenas pelas frequências alélicas em cada loco, mas também pela ocorrência de alelos privados em ambos os compostos. A partir das distâncias genéticas, as linhagens foram alocadas em quatro grupos heteróticos distintos, que apresentaram concordância apenas parcial com os dados de *pedigree*. Empregando-se o dialelo parcial circulante foram obtidos híbridos interpopulacionais com bons desempenhos, que em muitas vezes se equipararam ou até superaram a testemunha (Dow 2B710). Os híbridos D02 x F05, D10 x F11 e D02 x F03, podem ser indicados para novas avaliações, em vários ambientes, visando possível uso comercial. As correlações entre os híbridos observados e preditos por meio da capacidade geral de combinação foram altas, variando entre 0,70 e 0,97, indicando que a predição de híbridos foi eficiente. As correlações entre desempenho dos híbridos interpopulacionais e as distâncias genéticas das linhagens foram positivas e significativas para altura de planta, acamamento, espigas doentes, prolificidade e grãos ardidos. Estes resultados indicam a necessidade de mais estudos a respeito dos germoplasmas brasileiro e tropical, que têm demonstrado comportamento diferente do germoplasma temperado.

Palavras – chave: *Zea mays*, Predição de Híbridos, Marcadores moleculares, Distância genética, Capacidade de combinação, Híbridos interpopulacionais.

**GENETIC DIVERGENCE AMONG MAIZE INBRED LINES ESTIMATED BY
MICROSATELLITES AND CORRELATION WITH SINGLE-CROSS HYBRID
PERFORMANCE**

Author: PAULA GARCIA MEIRELLES

Adviser: Prof^ª. Dr^ª. CRISTINA LACERDA SOARES PETRAROLHA SILVA

Co-adviser: Prof. Dr. JOÃO ANTONIO DA COSTA ANDRADE

ABSTRACT

The success in the maize breeding programs depends on the identification of inbred lines with good combining ability for hybrids production and also on the conservation of germplasm genetic variability. The molecular markers are tools of the molecular genetics, largely used in diversity and genetic distance evaluations, that make possible the identification of variations directly in the genotypes. Most of the works that use the genetic distance for single-cross hybrid prediction has been made with temperate germplasms. However, the tropical germplasms usually present larger genetic variability, what generates difficulties in the allocation of their inbred lines in well defined heterotic groups, just basing on the divergence of phenotypic traits. Like this the present work aimed at to evaluate, through microsatellite markers, the genetic diversity in 40 maize inbred lines derived from the Dentado and Flintisa composites. It was also aimed at to compare the system of interpopulational single-cross hybrids prediction through the estimated genetic distances from microsatellite markers with the prediction through the general combining ability of the inbred lines, obtained through a partial circulant diallel. Were genotyped 18 microsatellite loci in 20 inbred lines of Dentado composite and 20 lines of Flintisa composite. Genetic diversity was verified in the two groups of inbred lines, being polymorphic all the 18 SSR loci, with a total of 117 alleles. The alleles number per locus varied from 3 (phi059) to 13 (phi299852), with average of 6.5. The expected heterozygosity varied from 0.51 to 0.85, with average of 0.70, while the observed heterozygosity varied from 0.00 to 0.16, with average of 0.06. All the loci presented significative deviation from Hardy-Weinberg Equilibrium, for excess of homozygotes, with fixation indexes varying from 0.83 to 1.00, confirming the maximum inbreeding level that composites were submitted for inbred line extraction, however, several

loci haven't achieved the absolute homozygosity state. The composites Dentado and Flintisa did not differ not only at allele frequencies in each locus, but at the occurrence of private alleles in both composites. From the genetic distances, the inbred lines were allocated in 4 distinct heterotic groups, which showed partial concordance with pedigree data. Through de partial circulant diallel, interpopulational hybrids with good performance were obtained, which in many cases were equivalent or superior to the commercial hybrid (Dow 2B710). The hybrids D02 x F05, D10 x F11 and D02 x F03 can be indicated for new evaluations, in several environments, aiming a possible commercial use. The correlations between the observed and predicted hybrids, through general combining ability, were high, varying from 0.70 and 0.97, indicating that the hybrids prediction was efficient. The correlations between interpopulational single-cross hybrids performance and the genetic distance of the inbred lines were positive and significant to plant height, lodging, sick ears, prolificacy and burning grains. These results indicate the need of more studies on Brazilian and tropical germplasm, which have showed different behavior of temperate germplasm.

Key words: *Zea mays*, Hybrid prediction, Molecular markers, Genetic distance, Combining ability, Intropopulational single-cross.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Caracterização dos locos SSR avaliados em 40 linhagens de milho das populações Flintisa e Dentado..... 43
- Tabela 2** – Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variância para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) dos 80 híbridos simples, coeficiente de variação experimental (CV) e médias geral, dos híbridos experimentais (HS) e da testemunha (T). 48
- Tabela 3** – Valores médios dos híbridos observados para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) e correlação com os valores médios preditos..... 49
- Tabela 4** - Valores e significância dos quadrados médios das análises de variância para capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) das linhagens para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) 53
- Tabela 5** – Estimativa das capacidades gerais de combinação (CGC) linhagens do Composto Dentado para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta

branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED),
prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG)..... 54

Tabela 6 – Estimativa das capacidades gerais de combinação (CGC) das linhagens do Composto Flintisa para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), corn stunt (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG)..... 55

Tabela 7 – Estimativa das capacidades específicas de combinação (CEC) dos pares de linhagens dos Compostos Dentado e Flintisa para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), corn stunt (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) 56

Tabela 8 – Índices de diversidade genética para a amostra total de linhagens de milho oriundas dos compostos Dentado e Flintisa. N é o número de linhagens amostradas; k é o número total de alelos; R é a riqueza alélica nos locos; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; H_o é a heterozigosidade observada; f é o índice de fixação. 61

Tabela 9 – Alelos privados nas linhagens Dentado e Flintisa e suas frequências 69

Tabela 10 – Distâncias genéticas entre as linhagens das populações Dentado e Flintisa, computadas a partir de dados SSR. 74

Tabela 11 – Intervalo de variação entre os híbridos, médias e correlação com distâncias genéticas (DG) de 400 híbridos de milho (observados e preditos), para 12 caracteres..... 76

LISTA DE FIGURAS

Quadro 1 – Tipos de híbridos e parentais que os originam.....	22
Quadro 2 – Esquema do dialelo parcial circulante interpopulacional com linhagens S ₇ dos Compostos Flintisa e Dentado.....	36
Figura 1 – Eletroferograma dos alelos microssatélites amplificados nas linhagens Dentado e Flintisa utilizando-se o iniciador phi299852. 1 – Marcador de tamanho molecular 100 pb; 2 – F16; 3 – D05; 4 – F10; 5 – F03; 6 – D03; 7 – D14; 8 – D16; 9 – D09; 10 – D13; 11 – D02; 12 – F01; 13 – F04; 14 – F13; 15 – F18; 16 – controle negativo; 17 – marcador 100 pb.....	62
Figura 2 – Distribuição das frequências alélicas para os locos phi064, umc1823 e bnlgl1138, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.....	63
Figura 3 – Distribuição das frequências alélicas para os locos phi453121, bnlgl1108 e phi072, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.....	64
Figura 4 – Distribuição das frequências alélicas para os locos bnlgl2291, bnlgl105 e bnlgl1346, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.....	65
Figura 5 – Distribuição das frequências alélicas para os locos phi126, phi299852 e phi112, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.....	66
Figura 6 – Distribuição das frequências alélicas para os locos phi082, bnlgl669 e phi233376, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.....	67
Figura 7 – Distribuição das frequências alélicas para os locos bnlgl127, bnlgl128 e phi059, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.....	68
Figura 8 - Dendrograma das linhagens de milho das populações Dentado e Flintisa,	

gerado a partir da distância de Rogers (1972), pelo método de UPGMA. (GI, GII, GIII e GIV – grupos heteróticos e as distâncias genéticas médias entre e dentro dos grupos)..... 75

LISTA DE ABREVIATURAS

AC – Acamamento

AE – Altura de espiga

AP – Altura de planta

CEC – Capacidade específica de combinação

CGC – Capacidade geral de combinação

CS – *Corn stunt*

ED – Espigas doentes

FF – Florescimento feminino

GA – Grãos ardidos

NG – Nota geral para doenças foliares

PB – Nota para infecção por pinta branca

PR – Prolifricidade

QB – Quebramento

RG – Rendimento de grãos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVO.....	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
3.1 O milho.....	20
3.2 O milho híbrido.....	22
3.3 Marcadores moleculares no melhoramento do milho.....	25
3.4 Marcadores microssatélites (SSR).....	30
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4.1 Local.....	35
4.2 Material.....	35
4.3 Avaliação dos híbridos no campo.....	37
4.4 Genotipagem dos locos SSR.....	38
4.4.1 Extração do DNA.....	39
4.4.2 Quantificação do DNA.....	39
4.4.3 Amplificação dos locos SSR.....	40
4.5 Análise da diversidade genética.....	41
4.6 Análise da distância genética e correlação com o desempenho dos híbridos.....	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1 Avaliação dos híbridos no campo.....	44
5.2 Estimativas das capacidades geral e específica de combinação.....	52

5.3 Diversidade genética.....	59
5.4 Distância genética e alocação em grupos heteróticos.....	71
5.5 Correlação do desempenho dos híbridos com distância genética das linhagens parentais.....	72
6 CONCLUSÕES.....	77
7 REFERÊNCIAS.....	78

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma das espécies mais extensivamente cultivadas no Brasil, atingindo área de 14,3 milhões de hectares (COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO-CONAB, 2009). A grande evolução ocorrida no rendimento da cultura teve por base o milho híbrido de linhagens. Sendo assim, nos programas de melhoramento, a identificação de genitores com boa capacidade de combinação e, conseqüentemente, que produzam bons híbridos, sempre foi um dos pontos de maior interesse dos melhoristas. Além disso, o conhecimento da diversidade do germoplasma é crucial para o planejamento da produção de híbridos e conservação da variabilidade genética.

Com o desenvolvimento das técnicas baseadas em marcadores moleculares, muitos estudos vêm sendo realizados para avaliar a diversidade genética dos materiais em melhoramento e o potencial da predição de híbridos pela estimativa da distância genética. Isto auxilia na resolução de um dos problemas enfrentados pelos melhoristas na obtenção de híbridos, que é a avaliação dos parentais. O número cada vez maior de linhagens a serem avaliadas é um fator limitante até mesmo para os esquemas mais modernos de cruzamentos, como o dialelo parcial circulante interpopulacional, proposto por Miranda Filho e Vencovsky (1999).

O uso de marcadores moleculares para estimar divergência entre linhagens tem sido sugerido como uma estratégia para transpor as dificuldades de avaliação, em campo, do grande número de cruzamentos possíveis para a predição do desempenho de híbridos simples (SU-XIA et al. 2004, LABORDA et al., 2005, PATERNIANI et al., 2008). Uma vez que o comportamento de híbridos está relacionado à diversidade genética entre os parentais, abriu-se a possibilidade da identificação de bons híbridos apenas com a caracterização genética das linhagens (LANZA et al., 1997).

A maioria dos trabalhos que utilizam a distância genética para predição de híbridos simples tem sido conduzida com germoplasmas de clima temperado (BOPPENMAIER et al., 1992, SMITH et al., 1997, AJMONE-MARSAN et al., 1998, SU-XIA et al., 2004, VAZ PATTO et al., 2004), em comparação com os tropicais (LANZA et al., 1997, BARBOSA et al., 2003, LABORDA et al., 2005). Entretanto, os germoplasmas tropicais normalmente são compostos, apresentando maior variabilidade genética, o que gera dificuldades na alocação de suas linhagens em grupos heteróticos bem definidos, baseando-se

apenas na divergência de caracteres fenotípicos (LANZA et al., 1997, PINTO et al. 2001). Isso evidencia a necessidade do emprego de marcadores moleculares para acessar a diversidade genética em nível de DNA (BARBOSA et al., 2003). Como o uso efetivo de marcadores na seleção de caracteres quantitativos e, conseqüentemente, na predição de híbridos, ainda é incipiente, há necessidade de mais estudos, no sentido fornecer mais informações e auxiliar na tomada de uma posição definitiva quanto ao poder e utilidade prática dessas técnicas.

Diversos estudos demonstraram correlação significativa entre distância genética baseada em microssatélites (SSR) e pedigree, tornando este tipo de marcador molecular uma alternativa promissora na análise da estrutura genética de populações de milho (SMITH et al., 1997, PEJIC et al., 1998, BERNARDO et al., 2000, LIU et al., 2003, PINTO, R. et al., 2003, VAZ PATTO et al., 2004, GARCIA et al., 2004).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral foi comparar o sistema de predição de híbridos simples entre linhagens de milho por meio da distância genética, obtida a partir de marcadores moleculares (microssatélites), com a predição por meio da capacidade geral de combinação das linhagens, obtida por meio de um dialelo parcial circulante.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar o desempenho de 80 híbridos simples obtidos de 20 linhagens do composto Dentado e 20 linhagens do composto Flintisa, por meio de dialelo parcial circulante;
- Estimar a capacidade geral de combinação das 40 linhagens, utilizando o método dos quadrados mínimos, visando estimar a média de todos os 400 híbridos simples possíveis;
- Estimar a diversidade genética das linhagens e classificá-las em grupos heteróticos, com base em locos SSR;
- Correlacionar a diversidade genética obtida pela caracterização molecular (SSR) com o desempenho dos híbridos no campo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 O milho

O milho é uma planta pertencente à família Poaceae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays*. É taxonomicamente identificado como *Zea mays* L. ssp. *mays*, para distinguir do seu parente silvestre mais próximo, o teosinto, atualmente considerado da mesma espécie e com várias subespécies (PATERNIANI; CAMPOS, 2005).

É o único cereal nativo do Novo Mundo, tendo como centro de origem a América Central. Já na época do descobrimento das Américas o milho era o alimento base de todas as civilizações do continente. Das raças identificadas no mundo, praticamente todas tiveram sua origem direta ou indireta nos trabalhos pioneiros dessas civilizações pré-colombianas (CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA- CIB, 2009).

O milho é cultivado mundialmente entre as latitudes 58° norte e 40° sul, distribuído nas mais diversas altitudes, encontrando-se desde localidades situadas abaixo do nível do mar até regiões apresentando mais de 2.500 m de altitude (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000). A necessidade de adaptação a diferentes ambientes resultou em uma ampla variabilidade genética, caracterizada pela existência de cerca de 300 raças descritas, além de milhares de populações e amostras preservadas nos bancos de germoplasmas (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988). É, sem dúvida, a principal espécie alógama cultivada, não só pela sua importância econômica, mas também pela sua importância em termos científicos e tecnológicos. Toda a base sobre a genética e o melhoramento de espécies alógamas foi desenvolvida com essa espécie (ARAÚJO; PATERNIANI, 1999).

No Brasil a cultura é uma das espécies mais extensivamente cultivadas. Está presente em todo território nacional, com cerca de 14,8 milhões de hectares e produção de aproximadamente 58,7 milhões de toneladas de grãos na safra 2007/2008, atingindo seu recorde, com aumento de cerca de 14% em relação à safra anterior. Esse desempenho se deve ao incremento de 9% na produtividade média, enquanto a área cresceu apenas 4,7% (CONAB, 2009, ANUÁRIO, 2008). O Brasil é o terceiro maior produtor do mundo, sendo superado apenas pelos Estados Unidos e pela China, com áreas de 36 e 26 milhões de

hectares, e produções de 332,1 e 139,4 milhões de toneladas, respectivamente (CIB, 2009, ANUÁRIO, 2008).

O Estado do Paraná é o maior produtor deste cereal com produção de aproximadamente 15,36 milhões de toneladas na safra 2007/2008, seguido por Mato Grosso, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. O Estado de São Paulo ocupa a sexta posição no ranking nacional, com produção média de 4,67 milhões de toneladas em 966 mil hectares (4.838 kg ha^{-1}) (CONAB, 2009).

Para a safra 2008/2009, a produção nacional de milho deve atingir 49,95 milhões de toneladas, havendo um recuo, em termos percentuais, de 15,7% e, em valores absolutos, de 9,2 milhões de toneladas, comparativamente ao ciclo anterior. Esta queda deve-se a fatores como queda na área semeada e falta de chuva durante o desenvolvimento e florescimento (CONAB, 2009).

Além da sua importância econômica como principal componente na alimentação de aves, suínos e bovinos, o milho cumpre papel técnico importante para a viabilidade de outras culturas, como a soja e o algodão, por meio da rotação de culturas, minimizando possíveis problemas como nematóides de galha, nematóide de cisto e doenças como o mofo branco e outras, dando sustentabilidade para diferentes sistemas de produção em muitas regiões agrícolas do Brasil e do mundo (CIB, 2009).

Muito energético, o milho traz em sua composição vitaminas A e do complexo B, proteínas, gorduras, carboidratos, cálcio, ferro, fósforo e amido, além de ser rico em fibras. Cada 100 gramas do cereal tem cerca de 360 Kcal, sendo 70% de glicídios, 10% de protídeos e 4,5% de lipídios. Devido a essas propriedades, pode suprir boa parte das necessidades nutricionais da população, além de ser excelente complemento alimentar, “in natura” ou em forma de farinha de milho, fubá, canjica, polenta, cuscuz e outras. Além de ser consumido diretamente, pode também ser componente de balas, biscoitos, pães, chocolates, geléias, sorvetes, maionese e até cerveja (CIB, 2009).

Atualmente, somente cerca de 15% da produção nacional se destina ao consumo humano, de maneira indireta na composição de outros produtos. A maior parte da produção serve às indústrias de rações, onde é o principal componente da alimentação de bovinos, suínos e aves. Além das rações, o milho pode ser utilizado na forma de silagem de planta inteira, para alimentação de bovinos, e de grão úmido, para uso principalmente pelos suínos (CIB, 2009).

3.2 O milho híbrido

A maioria da evolução ocorrida no rendimento da cultura, permitindo os altos rendimentos hoje obtidos pelos agricultores mais tecnificados, teve por base o milho híbrido de linhagens. A importância do método da hibridação no melhoramento do milho transcende a própria cultura, dados os fatos históricos, científicos e econômicos que estão intimamente a ele associados. O milho encaixa-se entre as espécies para as quais a hibridação é recomendada como método adequado de melhoramento, dada a relativa facilidade de produção de sementes híbridas, tanto para pesquisa como comercialmente, e facilidade de se obterem bons níveis heteróticos (PATERNIANI; CAMPOS, 2005).

Existem diversos tipos de híbridos de milho, originados de parentais diferentes, conforme exposto no Quadro 1.

Quadro 1 – Tipos de híbridos e parentais que os originam

Híbridos	Parentais
Intervarietal	Variedade A x Variedade B
<i>Top cross</i>	Linhagem x Variedade
Híbrido simples	Lin. A x Lin. B
Híbrido simples modificado	(Lin. A x Lin. A') x Lin. B
Híbrido triplo	(Lin. A x Lin. B) x Lin. C
Híbrido triplo modificado	(Lin. A x Lin. B) x (Lin. C x Lin. C')
Híbrido duplo	(Lin. A x Lin. B) x (Lin. C x Lin. D)

Fonte: Paterniani e Campos (2005).

O interesse sobre a heterose teve início em 1877, com os trabalhos de autofecundação e cruzamentos realizados por Darwin, influenciando Beal a propor a utilização de cruzamentos intervarietais na produção comercial de milho (SPRAGUE; HEBERHART, 1977). A manifestação da heterose na produção de grãos em híbridos intervarietais foi muito estudada no início deste século. Porém a grande contribuição prática

para a agricultura iniciou-se com os trabalhos básicos de Shull (1908, 1909), East (1909) e a introdução dos híbridos duplos de linhagens por Jones (1918, 1922).

Jones (1922) propôs o sistema de cruzamentos para obtenção de híbridos duplos, uma vez que os híbridos simples não foram prontamente aceitos pelos agricultores. Mais tarde, com a evolução tecnológica e cultural dos agricultores americanos, os híbridos triplos e simples começaram a ser aceitos e hoje praticamente 100% da semente de milho comercializada naquele país é de híbridos simples. No Brasil esse tipo de mudança está em curso e os híbridos simples estão ganhando espaço na faixa de agricultores de alta tecnologia. Os híbridos duplos estão diminuindo no mercado de sementes, sendo utilizados principalmente pela faixa de média tecnologia, e os híbridos triplos dominam a faixa de média/alta tecnologia.

A introdução do milho híbrido na década de 1920 consistiu em um dos maiores impulsos à agricultura moderna e desde então inúmeros programas concentraram seus esforços no desenvolvimento de linhagens endogâmicas com capacidade de produzir bons híbridos.

A identificação de linhagens com boa capacidade de combinação e conseqüentemente que produzem bons híbridos sempre foi um dos pontos de maior interesse dos melhoristas ao longo desses 80 anos de milho híbrido. Até o final da década de 20 costumava-se avaliar todos os $n(n-1)/2$ híbridos possíveis com um grupo de n linhagens, pois o número de linhagens disponíveis era pequeno. Entretanto, com o aumento do número de linhagens nos programas de melhoramento, esse método tornou-se inviável, pois o número de híbridos possíveis elevava-se rapidamente e novos métodos foram propostos para a identificação de combinações superiores. A utilização de *top crosses* (DAVIS, 1927, JENKINS; BRUNSON, 1932), que consiste na avaliação dos cruzamentos de grande número de linhagens com um testador comum, foi o passo seguinte na tentativa de solucionar o problema.

A predição do comportamento de híbridos duplos foi primeiramente proposta por Jenkins (1934), utilizando dados dos híbridos simples entre as linhagens envolvidas. Sendo bem menor o número de híbridos simples possíveis entre n linhagens $[n(n-1)/2]$ que híbridos duplos ($3C_n^4$), a metodologia tornou-se viável e tem sido empregada até hoje nos programas de milho híbrido.

Com a introdução do conceito de capacidade geral e específica de combinação na

década de 40 (SPRAGUE; TATUM, 1942), os esquemas de cruzamentos dialélicos começaram a ser estudados e muito contribuíram para a avaliação do comportamento de linhagens em cruzamento.

Dois tipos de habilidade de combinação podem ser distinguidos. A capacidade geral de combinação (CGC) refere-se à habilidade de um genótipo produzir progênes com dado comportamento, quando cruzado com uma série de outros genitores. A capacidade específica de combinação (CEC) refere-se ao comportamento de uma combinação específica, que pode desviar do comportamento esperado com base na CGC. Os conceitos da CGC e CEC são úteis na caracterização das linhagens em cruzamentos, sendo que a CGC está associada principalmente a genes de efeito aditivo e a CEC depende basicamente de genes de efeito não aditivo (dominância e epistasia). Os cruzamentos dialélicos têm sido muito usados no melhoramento de milho e se mostraram eficientes para detectar divergências genéticas entre as linhagens e alocar estas em grupos heteróticos distintos (HALLAUER, 1990, BORÉM; MIRANDA, 2005).

Kempthorne e Curnow (1961) discutem, sob o ponto de vista teórico, a utilização de informações provenientes do esquema dialelo parcial circulante intrapopulacional para predição de médias de rendimento de vários cruzamentos, por meio dos efeitos de capacidades gerais de combinação (\bar{g}) das linhagens envolvidas. Analisando estimativas obtidas a partir do modelo $\hat{Y}_{ij} = \bar{\mu} + \bar{g}_i + \bar{g}_j$, os autores avaliaram a eficiência da metodologia, pela comparação dos erros envolvidos nas estimativas, evidenciando a validade de utilização dos parâmetros na predição de combinações híbridas. O importante deste esquema é que não é necessário avaliar todos os cruzamentos entre as n linhagens, mas apenas uma amostra deles para obter as estimativas de capacidade geral de combinação das linhagens. Isso foi um avanço em relação ao método de Jenkins (1934), pois começou a haver limitações no uso dos dialelos completos quando o número de linhagens participantes aumentava.

Como normalmente em um programa de milho híbrido o interesse final é cruzar linhagens de uma população com linhagens de outra população contrastante, Miranda Filho e Vencovsky (1999) adaptaram o esquema de Kempthorne e Curnow (1961), introduzindo o dialelo parcial circulante interpopulacional. Nesse esquema, a partir da avaliação de uma amostra dos híbridos simples é possível prever os híbridos simples não avaliados, os híbridos duplos e triplos. Uma forma de avaliar a capacidade preditiva do modelo é a aplicação do coeficiente de correlação de Pearson entre as médias preditas e observadas.

Andrade (1995) encontrou coeficientes de correlação variando de 0,82 a 0,96. Araújo (2000) observou um coeficiente de 0,86 e Fuzzato (2003) obteve correlações variando de 0,69 a 0,93. Em todos os casos a capacidade geral de combinação das linhagens foi estimada pelo método dos quadrados mínimos.

Veiga et al. (2000) avaliaram a eficiência do dialelo parcial circulante em relação ao dialelo completo, por meio da correlação entre os valores de capacidade geral e específica de combinação obtidos pelas duas metodologias. Os resultados indicaram que a eficiência dos dois tipos de dialelo é a mesma.

Dessa maneira, métodos de predição que envolvam poucos cruzamentos, a previsão do rendimento dos híbridos com base apenas no conhecimento das linhagens progenitoras e a alocação dessas linhagens em grupos heteróticos, estão entre os principais objetivos a serem alcançados pelos melhoristas. A utilização de marcadores genéticos pode auxiliar na identificação de linhagens com genótipos superiores, acelerando o processo e minimizando o trabalho envolvido.

3.3 Marcadores moleculares no melhoramento do milho

Com a Biotecnologia, uma série de metodologias surgiu para auxiliar o processo do melhoramento do milho, possibilitando a obtenção de genótipos de interesse em menor tempo. Os marcadores moleculares surgiram como uma grande contribuição para o estudo de genomas. Dentre outras aplicações dos marcadores moleculares em programas de melhoramento, pode-se citar: avaliação de variabilidade genética, predição de heterose, seleção de genitores e híbridos (BORÉM; MIRANDA, 2005).

Desde que as técnicas de marcadores moleculares começaram a ser estudadas, o seu uso prático em programas de melhoramento é um objetivo a ser atingido. Com a possibilidade de se caracterizar linhagens com estes marcadores, a idéia de se prever boas combinações híbridas sem a necessidade da avaliação dos cruzamentos no campo passou a ser estudada mais profundamente (BOPPENMAIER et al., 1992, AJMONE-MARSAN et al., 1998, LANZA et al., 1997, BARBOSA et al., 2003). Além disso, os marcadores moleculares são especialmente vantajosos para caracteres agrônômicos de difícil avaliação, como

resistência a patógenos, insetos e nematóides, tolerância a fatores abióticos de stress, parâmetros de qualidade e caracteres quantitativos (MOHAN et al. 1997).

Técnicas que são particularmente promissoras para aplicação no melhoramento genético de plantas envolvem RAPDs (*random-amplified polymorphic DNAs*), RFLPs (*restriction fragment length polymorphism*), AFLPs (*amplified fragment length polymorphism*) e microssatélites (*SSRs – simple sequence repeats*) (MOHAN et al., 1997).

Estes marcadores genéticos possuem um mecanismo de herança mendeliana e em alguns casos apresentam expressão codominante (como os RFLPs e microssatélites), o que permite identificar genótipos heterozigotos e homozigotos nos indivíduos analisados (FERREIRA; GRATAPAGLIA, 1996, SOUZA, 2001).

A diversidade genética de um loco marcador corresponde à ocorrência de polimorfismo entre indivíduos. Para estimar essa diversidade, vários índices que representam o conteúdo informativo de um loco podem ser utilizados para diferentes aplicações, como na identificação individual e na análise de parentesco, na estimativa de fluxo gênico, da definição do sistema de cruzamento e na determinação da estrutura genética espacial. A estimativa da frequência alélica é considerada fundamental nos estudos evolutivos, pois a mudança genética de uma população é reflexo da mudança nas frequências gênicas (AZEVEDO, 2007).

O número de alelos por loco, a heterozigosidade esperada (H_e) e a heterozigosidade observada (H_o) são os parâmetros genéticos mais utilizados para estimar a diversidade genética em populações de plantas. A H_e diz respeito à heterozigosidade esperada segundo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg, e a H_o representa a real heterozigosidade existente na população. Assim, tem-se que:

$$H_e = 1 - \sum(p_i^2)$$

$$H_o = 1 - \sum(\varphi_{ii})$$

Onde:

p_i = frequência alélica estimada do i -ésimo alelo;

p_{ii} = frequência estimada do homozigoto ii ;

A relação entre os valores de heterozigosidade esperada e observada define o índice de fixação de Wright (f), cuja média é o desvio da proporção de heterozigotos observados em relação à proporção esperada segundo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (WRIGHT, 1965). Desta forma:

$$\hat{f} = 1 - \frac{\hat{H}_o}{\hat{H}_e} \quad (\text{em nível de loco})$$

$$\hat{f} = 1 - \frac{\sum \hat{H}_o}{\sum \hat{H}_e} \quad (\text{média entre locos})$$

Os marcadores moleculares podem também ser empregados na estimativa das distâncias genéticas entre linhagens. A teoria da genética quantitativa sugere que, em qualquer grau de dominância superior a zero, a heterose é uma função da frequência alélica entre os genitores, existindo, portanto, uma correlação positiva entre divergência genética e heterose (FALCONER, 1981). Por esse motivo, estimativas de distâncias genéticas entre linhagens vêm sendo utilizadas como meio de alocação destas em grupos heteróticos e predição de cruzamentos superiores em programas de melhoramento de plantas (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1995, BARBOSA et al., 2003).

Muitos autores demonstraram a eficiência da identificação de grupos heteróticos em milho empregando marcadores moleculares (PINTO, L. et al., 2003, REIF et al., 2003, WARBURTON et al., 2005, BARATA; CARENA, 2006, LEGESSE et al., 2007). Uma vantagem sobre os métodos convencionais é a de que poucas linhagens divergentes não são discriminadas e, conseqüentemente, os grupos heteróticos formados contêm genótipos que, inequivocamente representam as diferenças na frequência de alelos das populações.

Dias et al. (2004), em um levantamento de 54 trabalhos envolvendo diversas culturas, relatam que em 28 deles foram encontradas associações positivas entre heterose e a divergência por marcadores. Entretanto, em 26 deles foram encontradas correlações negativas ou inconclusivas. Conforme citado anteriormente, espera-se que as divergências entre parentais e as estimativas de heterose sejam altamente correlacionadas. Porém, Moll et al. (1965) relatam que a associação é previsível até certo nível de diversidade, a partir do qual não existe previsibilidade do comportamento das estimativas de divergências.

Em estudos que relatam correlações reduzidas entre as distâncias medidas com auxílio de marcadores e o desempenho dos híbridos, a principal justificativa tem sido a provável utilização de marcadores não associados geneticamente com regiões cromossômicas responsáveis pela manifestação da heterose (CHARCOSSET et al., 1991). Dessa forma, a escolha dos marcadores adequados é uma etapa de extrema importância nestes estudos. Segundo Bernardo (1992), para uma efetiva predição do desempenho de híbridos utilizando marcadores moleculares, as seguintes condições devem ser respeitadas: a) forte efeito de dominância; b) correlação negativa das frequências alélicas nos locos individuais das linhagens parentais; c) caracteres de alta herdabilidade; d) estreito intervalo de variação das médias de frequências dos alelos parentais; e) pelo menos 30 a 50% dos QTLs devem estar ligados aos marcadores moleculares; f) no máximo 20 a 30% dos marcadores devem estar distribuídos ao acaso ou não ligados ao QTL.

Diversos estudos já demonstraram que a distância genética quantificada por meio de isoenzimas não foi um eficiente prognóstico para o rendimento de grãos ou a resposta heterótica (FREI et al., 1986). O advento dos marcadores de RFLP possibilitou, por outro lado, uma amostragem muito mais ampla do genoma e análise mais detalhada desta questão. Verificou-se ainda que dados de RFLP podem ser utilizados para a classificação de linhagens em grupos heteróticos bem como a alocação de novas linhagens de origem desconhecida nestes grupos (LIVINI et al., 1992

BURSTIN et al. 1994, WARBURTON et al., 2005). Nesta mesma linha de estudos, foi observada uma alta correlação entre as distâncias genéticas medidas por meio destes marcadores e o desempenho de híbridos de milho (SMITH et al., 1990, DUDLEY et al., 1992, MUNN; DUDLEY, 1994, BURSTIN et al., 1995). Embora o poder de discriminação dos RFLPs em estudos de diversidade ter sido bem documentado, as limitações relativas à rotina de uso destes levou à utilização de outros tipos de marcadores.

Lee et al. (1989) avaliaram, em dialelo, oito linhagens de milho provenientes de quatro populações, para verificar a viabilidade de utilização dos dados de RFLP em definir padrões heteróticos. A heterozigosidade prevista com base nos marcadores foi consistente com os dados de genealogia. Os desempenhos dos híbridos e as CEC foram positivamente correlacionadas com as distâncias genéticas. Resultados semelhantes foram relatados por Smith et al. (1990), que estimaram a distância genética baseadas em RFLPs entre 37 linhagens elite relacionadas e não relacionadas do germoplasma *Corn Belt* de milho. As distâncias foram altamente correlacionadas com as produções de grãos e as heteroses. O

agrupamento das linhagens foi consistente com o histórico do melhoramento e as respostas heteróticas das mesmas.

Lanza et al. (1997) utilizaram marcadores RAPD para obter distâncias genéticas entre 18 linhagens originárias de duas populações de milho e realizar a predição de híbridos simples. Os resultados indicaram que RAPD pode ser usado como ferramenta para determinar diversidade genética entre linhagens de milho tropical, por meio da alocação de genótipos em diferentes grupos heteróticos e também na escolha de cruzamentos superiores, reduzindo o número de cruzamentos a serem avaliados no campo. O mesmo tipo de estudo foi realizado por Ajmone-Marsan et al. (1998), buscando relacionar distância genética, medida com auxílio de marcadores RFLP e AFLP, com o desempenho de híbridos. Os dois tipos de marcadores mostraram resultados semelhantes para a distância genética e a análise de agrupamento separou claramente as linhagens estudadas. Os coeficientes de correlação, para o grupo todo de linhagens, entre as distâncias por RFLP e AFLP com rendimento de grãos, foram 0,36 e 0,51 respectivamente.

Mais recentemente Wu (2000) utilizou AFLP e RAPD para estudar diversidade entre 17 linhagens elites, largamente empregadas em programas de melhoramento na China. Os resultados indicaram que ambos são confiáveis e efetivos na avaliação de variação genética e atribuição de linhagens para diferentes grupos heteróticos. Em particular, AFLP pode permitir aos melhoristas de milho predizer combinações de linhagens que resultam em híbridos simples de alto rendimento. Esta classe de marcadores também foi útil na separação de linhagens de milho tropical em diferentes grupos heteróticos, pelo método de otimização de Tocher, sendo também observada a associação entre os grupos formados com base na análise de similaridade e época de florescimento (OLIVEIRA et al., 2004).

Seguindo a mesma linha, utilizando marcadores AFLP e SSR, Barbosa et al. (2003) encontraram baixa associação entre as distâncias por marcadores e as desempenhos dos híbridos, quando considerados cruzamentos interpopulacionais. Por outro lado, quando considerados apenas os híbridos intrapopulacionais, as correlações encontradas foram de magnitude superior e significativas para os dois marcadores. Associações semelhantes foram obtidas pelos mesmos autores entre as divergências genéticas por marcadores e a heterose. Betrán et al. (2003) também demonstraram uma forte associação entre as divergências por marcadores mensuradas nas linhagens e os desempenhos dos híbridos e CEC mensuradas em *testcrosses*. Por outro lado, as correlações entre as heteroses e as divergências por marcadores apresentaram magnitude inferior.

Recentemente, Vuylsteke et al. (2004) analisando linhagens das populações *Stiff Stalk Synthetic (BSSS)* e *Lancaster Sure Crop (LSC)* encontraram correlações entre as distâncias genéticas baseadas em AFLPs e desempenho de *testcrosses* altamente significativas (0,48), quando considerados todos os cruzamentos. Entre as divergências genéticas e as CECs, a correlação foi significativa para todos os cruzamentos, para os cruzamentos dentro do grupo heterótico BSSS e para linhagens de grupos heteróticos opostos.

Embora os resultados obtidos utilizando RFLP, AFLP e RAPD sejam satisfatórios, estas técnicas são dispendiosas, consomem muito tempo e o custo é elevado. Além disso, AFLP e RAPD são marcadores dominantes, não sendo possível identificar heterozigotos. Por outro lado, os marcadores microssatélites (SSRs) apresentam uma série de vantagens, como relativa simplicidade da técnica e, a partir do momento em que seqüências de iniciadores para detectar este tipo de marcadores são disponibilizadas, o custo é reduzido.

3.4 Marcadores microssatélites (SSR)

Os marcadores SSR são constituídos de unidades repetitivas de nucleotídeos (1-6 nucleotídeos, em “tandem”) e são encontrados em todos os genomas eucariotos e procariotos já estudados. Estão presentes tanto em regiões codificadoras como em não codificadoras e são geralmente muito polimórficos, devido ao alto nível de variação no número de repetições (SOUZA, 2001).

Locos SSRs têm sido descritos para uma série de espécies, incluindo variedades de culturas agrícolas como arroz, cevada, feijão, milho, algodão e soja. Todos estes trabalhos demonstraram que este marcador é altamente multi-alélico e informativo para estudos de genética de populações, permitindo estimar com precisão relações de parentesco e fluxo gênico. Esse marcador pode ser usado tanto para a identificação individual quanto para associação com caracteres de interesse (WEIR, 1996).

No genoma de plantas superiores a repetição (AT)_n é a mais encontrada, seguida por (A)_n e (AG)_n. Repetições de trinucleotídeos e tetranucleotídeos também foram encontradas nos genomas de plantas, sendo os motivos mais freqüentes (AAT)_n, (AAC)_n, (AGC)_n, (AAG)_n, (AATT)_n e (AAAT)_n (MORGANTE; OLIVIERI, 1993, GUPTA et al.,

1996).

Enquanto o número de repetições de um SSR geralmente varia, a sequência de bases adjacente ao SSR pode ser única no genoma e conservada entre diferentes indivíduos da mesma espécie. Assim, pode-se desenhar iniciadores específicos para as sequências adjacentes a um SSR, sendo possível então, por PCR, amplificar este loco em diferentes genótipos. Uma vez que o número de repetições em um SSR pode variar entre genótipos diferentes, o polimorfismo será observado no tamanho dos fragmentos gerados (SOUZA, 2001).

Vários modelos da dinâmica evolutiva dos SSR foram propostos, sendo que a maioria deriva do modelo definido como *stepwise*. Neste modelo, por meio de *slippage* ou escorregamento, há uma alteração no comprimento de uma região repetitiva por meio da adição ou remoção de uma unidade repetitiva. Isto ocorre provavelmente devido à dissociação transiente da fita de DNA que está sendo sintetizada, seguida por um novo pareamento incorreto. Outro tipo de mutação que deve ocorrer em SSRs envolve a recombinação entre moléculas de DNA. Estimativas mostram que a taxa de mutação em SSR *in vivo* ocorre em torno de 10^{-2} a 10^{-6} eventos por loco por replicação, dependendo do organismo (LENVINSON; GUTMAN, 1987, GOLDSTEIN; SCHLOTTERER, 2001, ELLEGREN, 2004).

Os SSRs apresentam diversas características que os tornam extremamente eficientes na identificação e diferenciação de indivíduos, como: (1) são muito abundantes na maioria dos genomas e, geralmente, são uniformemente distribuídos; (2) são hipervariáveis e codominantes, portanto o conteúdo informativo é bastante elevado, permitindo uma precisa discriminação mesmo de indivíduos proximamente relacionados; (3) são baseados em PCR, requerendo pequena quantidade de DNA para sua amplificação; (4) emprego de pares de iniciadores específicos para cada loco, facilitando a troca de informações entre grupos de pesquisa; (5) a genotipagem pode ser semi-automatizada em ensaios multiplex (vários locos ao mesmo tempo); (6) são transferíveis entre pedigrees, populações e, frequentemente, entre espécies geneticamente relacionadas (RAFALSKI et al. 1996, FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996, SOUZA, 2001, PINTO et al., 2001, BUSO et al., 2003).

A interpretação da significância da variação nesses locos dentro e entre grupos deve ser cuidadosamente considerada. O nível de diferenciação e distância genética entre grupos é altamente influenciado pelo nível de heterozigosidade desses locos altamente variáveis. Além disso, a conexão entre a significância estatística e biológica pode às vezes ser

pequena. Portanto, cuidados devem ser tomados na interpretação de dados de SSRs, uma vez que a informação que eles fornecem pode ser um pouco diferente daquelas obtidas com marcadores tradicionalmente menos variáveis (HEDRICK, 1999).

Os SSR sempre foram tidos apenas como marcadores para estudos genéticos, porém uma série de estudos recentes demonstra que eles também apresentam papel funcional como elementos codificadores e regulatórios agindo *upstream* a promotores de sequências codificadoras. Além disso, foi demonstrado que SSRs se ligam a proteínas, estando associados a efeitos funcionais. Finalmente, efeitos fenotípicos da variação dos SSRs na fisiologia e desenvolvimento dos organismos foram observados. (KASHI et al., 1997, GOLDSTEIN; SCHLOTTERER, 2001). Considerando os SSRs como *hotspots* de mutações e a sua possível funcionalidade, esses marcadores talvez sejam a maior fonte de variação genética quantitativa e adaptação evolucionária (AZEVEDO, 2007).

Atualmente existem mais de 1700 marcadores microssatélites já descritos para milho e suas seqüências, localizações e iniciadores para detectá-los estão disponíveis no GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) e no MaizeGDB (www.maizegdb.org) (SHAROPOVA et al., 2002).

Diversos estudos demonstraram que há correlação significativa entre a distância genética baseada em SSR e pedigree, tornando este tipo de marcador molecular em uma alternativa promissora na análise de estrutura genética de populações de milho.

Smith et al., (1997) reportaram a classificação de 58 linhagens baseadas na variabilidade de 131 locos SSR e os padrões de variabilidade foram comparados com aqueles obtidos por meio de RFLP. Os valores de PIC (conteúdo de informação de polimorfismo), uma medida da diversidade de alelos, foram similares para ambas as técnicas, porém os valores de 9 locos SSR excederam o valor máximo observado para RFLP. Os padrões de variabilidade para ambos os marcadores se aproximaram da divergência genética estimada por pedigree, com $r = 0,80$ e $0,81$, respectivamente, para RFLP e SSR. Os autores concluíram que, devido ao fato de a variabilidade de SSRs ser observada com maior fidelidade e reprodutibilidade do que RFLPs, além de diversos SSRs apresentarem PIC altos, este tipo de marcador poderia apresentar um poder de discriminação igual ou maior do que os RFLPs, de forma menos dispendiosa.

Pejic et al. (1998) compararam as técnicas de RFLP, SSR e AFLP em análises de similaridade genética para 33 linhagens, concluindo que os dados de SSR mostraram o mais alto nível de discriminação entre pares de linhagens. Porém as árvores de similaridade

construídas para cada sistema de marcadores mostraram discrepâncias entre os subgrupos.

Os resultados acima descritos foram também reportados em estudos mais recentes envolvendo populações de milho de diferentes regiões e origens (LIU et al. 2003, PINTO, L. et al., 2003, VAZ PATTO et al., 2004, GARCIA et al., 2004).

Atualmente, a ligação entre marcadores moleculares e caracteres quantitativos (QTLs – quantitative trait loci), como produtividade de grãos, e predição de híbridos por meio desses marcadores, tem sido extensivamente estudada. Diversos ensaios demonstraram a associação de marcadores SSR e QTLs em milho, principalmente relativos à produtividade de grãos. Mohammadi et al. (2002) analisaram híbridos simples de milho de diversas regiões geográficas da Índia e encontraram 14 marcadores associados a regiões cromossômicas com efeito significativo na produtividade de grãos.

Sibov et al. (2003) utilizaram 117 locos SSR e 400 plantas F_2 (milho tropical) para detectar QTLs para produtividade de grãos, altura da planta e inserção de espigas. Foram detectados 13 QTLs distintos, sendo 4 para produtividade de grãos, 4 para altura da planta e 5 para inserção de espiga. A maior parte dos QTLs (10) foram detectados na mesma região cromossômica, sendo que apenas 3 QTLs não estavam mapeados próximos a algum outro.

Recentemente, Su-Xia et al. (2004) investigaram a utilização de marcadores SSR na determinação da distância genética entre 15 linhagens elite de milho na China e a associação da diversidade à produtividade de grãos e heterose. Os autores observaram uma correlação significativa entre as variáveis, porém apenas quando a relação de pedigree entre os parentais era alta. Quando esta relação era baixa não foi observada correlação entre produtividade de grão, heterose e distância genética baseada em SSRs. Resultados semelhantes foram encontrados por Barbosa et al. (2003), analisando a relação entre a desempenho de híbridos simples intra e interpopulacionais em milho tropical.

Xu et al. (2004) avaliaram a diversidade genética de 15 linhagens de milho, de diversas origens, empregando marcadores SSRs. A análise de agrupamento foi consistente com as estimativas das heteroses. Correlações positivas e significativas foram encontradas entre as distâncias genéticas e o desempenho dos híbridos F_1 para linhagens relacionadas e distância genética e heteroses. Não foi obtida correlação significativa para linhagens não relacionadas.

Drinic et al. (2002) reportaram correlação baixa entre as estimativas de heterose e as divergências por marcadores SSR. Entretanto, as linhagens utilizadas foram agrupadas

coincidentalmente com as informações de genealogia.

Conforme exposto, até o momento a utilização de marcadores moleculares, em especial os SSR, na predição de híbridos é uma ferramenta promissora, porém os resultados ainda são conflitantes. Desta forma fazem-se necessários mais estudos para que os marcadores moleculares possam contribuir com mais eficácia para o melhoramento genético do milho.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local

Os experimentos foram instalados na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira (FE/UNESP), localizada no município de Selvíria – MS. A localização geográfica aproximada da área do experimento está na latitude de 20°20' S, longitude de 51°23' O e altitude de 335 metros. O relevo é caracterizado como moderadamente plano e ondulado. O clima do local é do tipo Aw, pela classificação de Köppen, com temperatura média anual de 23,5° C, umidade relativa entre 70 e 80%, precipitação média anual de 1370 mm e insolação média de 7,3 horas/dia. O solo local foi classificado por Demattê (1980) e reclassificado segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA-EMBRAPA, 1999), como LATOSSOLO VERMELHO Distrófico típico argiloso, A moderado, hipidistrófico, álico, caulínítico, férrico, compactado, muito profundo, moderadamente ácido (LVd).

4.2 Material

Encontra-se em andamento na FE/UNESP, campus de Ilha Solteira, um programa de seleção nas populações de milho Flintisa e Dentado, visando obter variedades de polinização aberta. O Composto Flintisa foi obtido pela recombinação das populações ESALQ - VF 1, SUWAN e CATETO COLÔMBIA (ANDRADE, 1992), tendo sido submetido a oito ciclos de seleção para rendimento e dois ciclos de seleção para menor altura de espigas. O Composto Dentado foi obtido originalmente do Banco de germoplasma do CNPMS-EMBRAPA. Esta população foi submetida a sete ciclos de seleção para rendimento e dois ciclos de seleção para menor altura de espigas.

Embora o programa original seja voltado para melhoramento populacional, com seleção para condições de baixa tecnologia, visando a obtenção de variedades rústicas, durante o andamento do mesmo foram utilizadas progênes endógamas para se fazer a seleção recorrente. Aproveitou-se então esse material para se avançar no processo de endogamia, tendo por objetivo a obtenção de linhagens e produção de híbridos. Neste trabalho foram empregadas 20 linhagens de cada composto, selecionadas com base em *topcross* (dados não publicados).

Inicialmente as 40 linhagens foram multiplicadas empregando-se polinização manual (autofecundação), para obtenção de quantidade suficiente de sementes para obtenção dos híbridos simples.

Para a produção dos híbridos realizou-se um dialelo parcial circulante conforme esquematizado no Quadro 2, onde cada linhagem foi cruzada com quatro linhagens da população contrastante, obtendo-se uma amostra de 80 híbridos simples dos 400 possíveis.

Quadro 2 – Esquema do dialelo parcial circulante interpopulacional com linhagens S₇ dos Compostos Flintisa e Dentado.

	Linhagens do Composto DENTADO												
	1	2	3	4	5	16	17	18	19	20	
Linhagens do Composto FLINTISA	1	H ₀₁₀₁	H ₀₁₀₂	H ₀₁₀₃	H ₀₁₀₄								
	2		H ₀₂₀₂	H ₀₂₀₃	H ₀₂₀₄	H ₀₂₀₅							
	3			H ₀₃₀₃	H ₀₃₀₄	H ₀₃₀₅						
	4				H ₀₄₀₄	H ₀₄₀₅					
	5					H ₀₅₀₅				
	6									
	:									
	:									
	15							H ₁₅₁₆	H ₁₅₁₇	H ₁₅₁₈		
	16								H ₁₆₁₆	H ₁₆₁₇	H ₁₆₁₈	H ₁₆₁₉	
	17									H ₁₇₁₇	H ₁₇₁₈	H ₁₇₁₉	H ₁₇₂₀
	18	H ₁₈₀₁									H ₁₈₁₈	H ₁₈₁₉	H ₁₈₂₀
	19	H ₁₉₀₁	H ₁₉₀₂									H ₁₉₁₉	H ₁₉₂₀
	20	H ₂₀₀₁	H ₂₀₀₂	H ₂₀₀₃									H ₂₀₂₀

4.3 Avaliação dos híbridos no campo

Os 80 híbridos, mais a testemunha comercial (híbrido simples Dow 2B710), foram avaliados em um látice 9 x 9, com 4 repetições. A parcela experimental foi constituída de duas linhas de 5m, espaçadas de 0,85cm, contendo 50 plantas (espaçamento entre covas de 20 cm), implicando uma densidade populacional de 58.800 plantas/ha. O experimento foi semeado em 16 e 17 de outubro de 2006, sob o sistema de plantio direto.

Foram avaliados os caracteres agrônômicos dias para florescimento feminino (FF, contados a partir da emergência até que 50% das plantas da parcela tivessem estigmas emitidos), altura de plantas (AP, em metros, do nível do solo até a inserção da folha bandeira, como média de cinco plantas da parcela), altura de espigas (AE, em metros, do nível do solo até a inserção da espiga superior, como média de cinco plantas da parcela), *corn stunt* (CS, porcentagem de plantas com sintomas da doença, 30 dias após florescimento), nota geral para doenças (NG, escala de 0 – totalmente doente - a 5 – totalmente sadia, baseada no aspecto geral da planta, 30 dias após florescimento), infecção por *Phaeosphaeria maydis*, ou pinta branca (PB, escala de notas de 0 – totalmente sadia a 5 – totalmente doente), 30 dias após florescimento), porcentagem de acamamento (AC), porcentagem de quebramento (QB), porcentagem de espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA, escala de notas de 0 – totalmente estragados, a 5 – grãos perfeitos) e rendimento de grãos (RG corrigido para 13% de umidade e estande ideal de 50 plantas/parcela).

Para o caráter PB, foi necessária a transformação das notas, uma vez que muitas plantas apresentaram-se totalmente sadias (nota = 0). A transformação foi feita seguindo a equação seguindo a equação $PB_t = \sqrt{PB} + 0,5$, onde PB_t é nota para o caráter transformada e PB é a nota observada.

As análises estatísticas iniciais indicaram baixa eficiência do látice para todos os caracteres, o que permitiu considerar o delineamento experimental como blocos ao acaso. A comparação entre médias foi feita por meio do teste de Scott-Knott, a 5% e 1% de significância. Foram estimadas as capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação de cada linhagem, por meio do método dos quadrados mínimos baseado no modelo:

$$Y_{ij} = m + g_i + g_j + s_{ij} + \bar{e}_{ij}$$

Onde:

- Y_{ij} é o rendimento médio do híbrido entre a linhagem i e a linhagem j ;
- m é a média geral dos híbridos envolvidos;
- g_i é a CGC da linhagem i ;
- g_j é a CGC da linhagem j ;
- s_{ij} é o efeito da CEC do híbrido ij ;
- e_{ij} é o erro experimental associado à média do híbrido ij .

Com os valores da CGC estimou-se a média dos 400 híbridos simples possíveis (MIRANDA FILHO; VENCOVSKY, 1999). Para tais procedimentos foi utilizado o *software* GENES, versão 2007.0.0 (CRUZ, 1997).

4.4 Genotipagem dos locos SSR

As análises moleculares foram conduzidas na Universidade Estadual Paulista (UNESP) no Laboratório de Diversidade Genética de Fitopatógenos (Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos) e no Laboratório de Genética de Populações e Silvicultura (Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia).

4.4.1 Extração do DNA

O DNA de cada uma das 40 linhagens foi extraído a partir de “bulks” de folhas de 10 plantas, utilizando-se procedimento proposto por Doyle e Doyle (1990). Dessa forma, os tecidos foliares foram macerados em nitrogênio líquido até formar um pó fino. Transferiu-se aproximadamente 150 mg do tecido macerado para tubo de volume de 2mL e acrescentaram-se 950 μ L de tampão de extração 2X CTAB (Tris-HCl pH 8,0 100mM; NaCl 1,4M; EDTA pH 8,0 20mM; CTAB 2% e β - mercaptoetanol 0,2%), sendo amostra aquecida a 65°C por 60 minutos, agitando-se ocasionalmente. Em seguida a amostra foi esfriada a temperatura ambiente por aproximadamente 10 minutos, e foram adicionados a cada tubo 600 μ L de CIA (clorofórmio/ álcool isoamílico) (24:1). A amostra foi agitada por inversão por um período de 8 minutos e o tubo centrifugado a 13000 xg, à 20° C, por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e transferido para um novo tubo. Adicionou-se um volume de 600ul de isopropanol gelado e misturou-se, cuidadosamente, para precipitar os ácidos nucléicos, e manter em freezer por 2 horas. Recuperou-se o DNA após a centrifugação da solução a 13.000 Xg por 20 minutos à 20°C. Se seguida, o “pellet” foi lavado com etanol 70% (v/v), por 4 minutos. Repetiu-se este procedimento por mais duas vezes, sendo que na última utilizou-se para lavagem etanol absoluto. Descartou-se o sobrenadante, cuidadosamente, e o “pellet” foi seco ao ar em temperatura ambiente por uma noite e, em seguida, foi ressuspensionado em 50 μ L de TE [Tris-HCl 10mM (pH 7,4), EDTA 1mM] contendo RNase (5,5 ng/uL) e incubou-se por 30 minutos, à 37°C. As amostras foram conservadas em freezer.

4.4.2 Quantificação do DNA

A quantificação do DNA foi realizada em Biofotômetro (Eppendorf) nos comprimentos de 260 nm, considerou-se 1 unidade de absorbância no comprimento de onda de 260 nm equivalente a 50 μ g DNA fita dupla/ml (SAMBROOK et al., 1989). A verificação de sua pureza foi avaliada por meio da relação de OD 260nm/280nm.

Para a verificação da qualidade e integridade do DNA genômico extraído, empregou-se a técnica de eletroforese em gel de agarose 0,8%, em TEB 1X (Tris 28 mM, ácido bórico 88 mM, EDTA 7 mM, pH 8,3), e posteriormente corado em 150 mL de TEB 1X contendo brometo de etídio (5 µg/ mL). No preparo das amostras de DNA para a eletroforese foram utilizados 5µl DNA e 5µl de tampão de carregamento de amostra (1g glicerol; 1,5ml água destilada, 230ul azul bromofenol). Em cada corrida de eletroforese foram utilizados 2µl de padrão de tamanho molecular 100 pb DNA leader em um dos poços do gel. A corrida foi realizada por 3 horas sob tensão constante de 100 V. Após a coloração, as bandas de DNA foram visualizadas sob luz ultravioleta e digitalizadas em equipamento fotodocumentador.

4.4.3 Amplificação dos locos SSR

A genotipagem foi realizada pelo emprego de iniciadores para locos SSR de milho cujas seqüências estão depositadas no Maize GDB (www.maizegdb.org). Foram escolhidos iniciadores com distribuição aleatória pelo genoma, de forma que cada um dos 10 grupos de ligação fosse representado em dois diferentes *bins*. Assim, inicialmente empregaram-se 20 pares de iniciadores SSR.

As reações de PCR para amplificação dos locos SSR foram conduzidas de acordo com Pinto et al. (2003) e tinham volume final de 15 µL, sendo constituídas de 0,2 µM de cada iniciador (*forward* e *reverse*), 0,1 mM de dNTPs, 2 mM de MgCl₂, 10 mM de Tris-HCl, 50 mM de KCl, and 0,5 U de Taq DNA polimerase. As reações foram submetidas a termociclagem em sistema de *touchdown*, nas seguintes condições:

- **Ciclo inicial:** 95° C por 5 minutos
- **Primeira etapa (5 ciclos):** 95° C por 45 segundos
68° C por 5 minutos (-2° C a cada ciclo)
72° C por 1 minuto
- **Segunda etapa (5 ciclos):** 95° C por 45 segundos
58° C por 5 minutos (-2° C a cada ciclo)
72° C por 1 minuto
- **Terceira etapa (25 ciclos):** 95° C por 45 segundos

50° C por 5 minutos

72° C por 1 minuto

- **Extensão:** 72° C por 5 minutos

Os produtos de amplificação foram separados em géis de agarose 3%, em corrida com TBE (1X) com tensão constante de 110 V, conforme procedimento já descrito. Na mesma corrida eletroforética foi utilizado um padrão de tamanho molecular 100 pb ladder (GE) que serviu de curva padrão na estimativa o tamanho de cada alelo amplificado em termos de pares de base. Para tanto, empregou-se o *software* DNAFrag (SCHAFER; SEDEROFF, 1981), o qual utiliza uma estimativa de tamanho de bandas por meio de uma equação exponencial derivada da interpolação logarítmica para cálculos de tamanho de bandas de ácidos nucléicos em géis de agarose ou poliacrilamida.

4.5 Análise da diversidade genética

A diversidade genética em cada população foi estimada agrupando todas as linhagens. Os seguintes parâmetros foram estimados: número total de alelos (k), frequência alélica (R) riqueza alélica (p_i), alelos privados, heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). Os desvios do EHW foram testados pelos valores individuais dos locos para o índice de fixação em cada grupo de linhagens utilizando-se um teste exato de Fisher e 10000 permutações com correção de *Bonferroni* (95%, $\alpha=0,05$) para evitar falsos positivos. O teste de desequilíbrio gamético entre os pares de locos de cada amostras foi calculado pelo teste G de máxima verossimilhança. As probabilidades de significância do teste foram obtidas por permutação (10000) e aplicando uma correção de *Bonferroni* (95%, $\alpha=0,05$). Para estas análises foram empregados os programa F_{STAT} , versão 2.9.3.2. (GOUDET, 2002) e GDA (LEWIS; ZAYKIN, 2001).

4.6 Análise da distância genética e correlação com o desempenho dos híbridos

As distâncias genéticas de Rogers (1972) (D_R) entre todos os possíveis pares de linhagens (Flintisa x Dentado) foram calculadas a partir das frequências alélicas dos locos SSR, empregando-se o software *Tools for Population Genetics Analyses* (TFPGA) versão 1.3 (MILLER, 1997), utilizando-se a fórmula:

$$D_R = \frac{1}{m} \sum_l \left[\frac{1}{2} \sum_u (\tilde{p}_{1lu} - \tilde{p}_{2lu})^2 \right]^{\frac{1}{2}}$$

Onde:

m : número de locos avaliados;

p_{1lu} : frequência do alelo u no loco l na população p_1 ;

p_{2lu} : frequência do alelo u no loco l na população p_2 .

A partir das distâncias genéticas estimadas procedeu-se o agrupamento das linhagens em grupos heteróticos pelo método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method, Arithimetical Means) empregando-se o software Mega 4 (TAMURA et al., 2007).

Com os resultados de caracterização molecular e de caracterização quantitativa, o coeficiente de correlação de Pearson foi calculado entre as distâncias genéticas das linhagens parentais e desempenhos preditos e observados de seus híbridos simples, conforme descrito por Benchimol et al. (2000).

Tabela 1 – Caracterização dos locos SSR avaliados em 40 linhagens de milho das populações Flintisa e Dentado.

Locos SSR	Motif	Bin*	Sequência***
phi064	ATCC	1.11	F - CCGAATTGAAATAGCTGCGAGAACCT R - ACAATGAACGGTGGTTATCAACACGC
umc1823	TG	2.02	F - AAAGCCTTACTGTTATTAGGCTAGGCA R - AGAAAACCAGCCCCAGATGTTC
bnlg1138	AG	2.06	F - TGCTCTAGCCGACCTCAATT R - ATGCCTGAACCGTGATTAGG
phi453121	ACC	3.00	F - ACCTTGCCGTGCTTCTTTCT R - CAAGCAAGACTTTTTGATCAGCC
bnlg1108	AG	3.08	F - GGATTCCTTTATGACGGGGT R - AGTAACAACCAAGGCATCGG
phi072	AAAC	4.01	F - ACCGTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT R - GACAGCGCGCAAATGGATTGAACT
bnlg2291	AG	4.07	F - CCTCTCGATGTTCTGAAGCC R - GTCATAACCTTGCCCTCCAA
bnlg105	N.E.**	5.03	F - GACCGCCCGGGACTGTAAGT R - AGGAAAGAAGGTGACGCGCTTTTC
bnlg1346	AG	5.07	F - CATCATGAAGCAATGAAGCC R - CCGCGCCATTATCTAGTTGT
phi126	AG	6.00	F - TCCTGCTTATTGCTTTCGTCAT R - GAGCTTGCATATTTCTTGTGGACA
phi299852	AGC	6.07	F - GATGTGGGTGCTACGAGCC R - AGATCTCGGAGCTCGGCTA
phi112	AG	7.01	F - TGCCCTGCAGGTTACATTGAGT R - AGGAGTACGCTTGGATGCTCTTC
phi082	AG	7.06	F - CACAGCACAGGCAGTTTCG R - CGCGGCAAAAGATCTTGAACACCT
bnlg669	N.E.	8.03	F - GCACGCACCAGCAGTCGGCAGT R - CGGCCTAGTGGGCATGGAGCCT
phi233376	CCG	8.09	F - CCGGCAGTCGATTACTCC R - CGAGACCAAGAGAACCCTCA
bnlg127	N.E.	9.02	F - CATGTATACGAGAAGCACCTAT R - ATCGTAACTCAGCGGTTTGTG
bnlg128	N.E.	9.07	F - CACCTGGAGGGACCCATTCC R - AGGACCACAGGATCCATCATCCT
phi059	ACC	10.02	F - AAGCTAATTAAGGCCGGTCATCCC R - TCCGTGTAICTCGGCGGACTC

* Bin- Localização genômica do marcador SSR nos 10 grupos de ligação gênica do milho, sendo cada grupo dividido em aproximadamente dez bins (www.maizegdb.org).

**Motif não especificado.

*** F – sequência forward, R – sequência reverse

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação dos híbridos no campo

Os resultados indicam que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre os híbridos simples para a maioria dos caracteres avaliados, exceto PR (Tabela 2). Em relação à comparação entre híbridos e testemunhas, as diferenças foram significativas apenas para FF, AP, AE, GA ($p < 0,01$) e RG ($p < 0,05$).

Para FF, destacou-se o híbrido D01xF01, com um florescimento após aproximadamente 54 dias da semeadura (ou emergência), sendo o mais precoce de todos, inclusive em relação à testemunha (55 dias). Segundo a comparação de médias pelo teste de Scott-Knott para este caráter (Tabela 3), formaram-se 4 grupos significativamente diferentes (a – mais tardios, d – mais precoces). Quatro híbridos se mostraram tão precoces quanto a testemunha (grupo d), sendo estes: D01xF01, já citado anteriormente, D16xF17 (55,5 dias), D18xF01 e D19xF01, ambos com 55 dias para florescimento. Nota-se que três híbridos são provenientes de cruzamentos com a linhagem F01, o que indica que esta linhagem pode ser vantajosa para a obtenção de híbridos precoces. A linhagem F17 também se destacou para este caráter, estando presente em híbridos mais precoces, nos grupos c e d (híbridos D14xF17, D15xF17 e D17xF17).

Para AP, formaram-se 5 grupos significativamente diferentes (a – mais altas, e – mais baixas). Para este caráter, os híbridos D17xF20 e D20xF01 foram os que apresentaram a menor média (1,71 m para ambos). Em comparação à testemunha (grupo d , média de 1,88m), 12 híbridos produziram plantas mais baixas, sendo que destes, sete não diferiram estatisticamente do híbrido comercial. Destacam-se aqui várias linhagens, cujos cruzamentos originaram híbridos com menor porte, como F01 e F20, presentes em quatro híbridos cada, e D19, D20 e F17, presentes em três híbridos cada. A altura da planta geralmente está correlacionada à altura da espiga (GALVÃO; PATERNIANI, 1975, FLINT-GARCIA et al., 2003, ANDRADE; MIRANDA FILHO, 2008). Para AE, o teste de médias diferenciou seis grupos significativamente diferentes (a – mais altas, f – mais baixas). Os grupos e e f englobam 10 híbridos e a testemunha (grupo e). Destes híbridos, cinco diferiram

significativamente da testemunha (média de 0,93 m), sendo eles D19xF01, D17xF20, D20xF20, D20xF01 e D18xF01. Todos os híbridos originados a partir das linhagens F01 e F20 apresentaram menor AE, bem como menor AP, como discutido anteriormente, reforçando o valor dessas linhagens para a obtenção de híbridos de porte mais baixo.

O desempenho dos híbridos em relação à susceptibilidade ao *corn stunt* (CS) revelou três grupos significativamente diferentes (*a* – mais suscetíveis, *c* – mais resistentes). A testemunha obteve uma média de aproximadamente 10,5% das plantas afetadas. Quarenta e oito híbridos (60%) não diferiram estatisticamente da testemunha. Deve-se considerar aqui que a significância estatística muitas vezes não retrata bem as significâncias biológica e econômica. As médias dos híbridos incluídos no grupo *c*, onde se encontra a testemunha, variaram de 3,77 a 18,04%. Embora estatisticamente essa variação não seja significativa, biológica e economicamente ela é. Oito híbridos apresentaram médias inferiores à da testemunha, destacando-se o híbrido D02xF04, com média de aproximadamente 3,8% de plantas afetadas pelo *corn stunt*.

Em relação à infecção por PB, a análise estatística revelou dois grupos de híbridos significativamente diferentes (*a* – mais suscetíveis e *b* – menos suscetíveis). O grupo *b* incluiu 57 híbridos e a testemunha. As médias de notas transformadas deste grupo variaram de 0,5 a 1,37. Dentre estes híbridos, 11 apresentaram médias de nota inferiores à da testemunha, mostrando-se menos suscetíveis à infecção por PB. O mesmo perfil estatístico (dois grupos) foi encontrado na comparação de médias para ND (*a* – menos suscetíveis, e *b* – mais suscetíveis). No grupo *a* foram incluídos 16 híbridos, com médias entre 3,75 e 5,0. A testemunha e os demais híbridos foram agrupados no grupo *b*, onde 16 híbridos atingiram valores maiores que o da testemunha. Estes dados demonstram que, de maneira geral, uma boa parte das linhagens produziu híbridos com boa resistência a doenças foliares, superando o híbrido comercial.

Para AC, foram formados três grupos significativamente diferentes (*a* – maior porcentagem, *c* – menor porcentagem de plantas acamadas). O grupo *c* apresentou médias que variaram de 0,52 a 16,14% de plantas acamadas, incluindo 69 híbridos (aproximadamente 86%) e a testemunha. Apenas um híbrido, D06xF06, apresentou média ligeiramente inferior à testemunha (0,52 e 0,53, respectivamente). Todos os demais foram superiores. Para este caráter, assim como para CS, as significâncias estatística, biológica e econômica não se correlacionaram. A variação entre as médias do grupo *c* foi grande, chegando a mais de 10%. Estas perdas, avaliando-se economicamente, são representativas. Esta discrepância ocorre nos

casos onde o erro experimental é grande, com coeficientes de variação experimental altos, como CS (45,31%), AC (113, 92%) e QB (100,72%) (Tabela 2).

Um perfil semelhante foi observado para QB, onde houve a separação em três grupos significativamente diferentes. O grupo *c*, com menor porcentagem de plantas quebradas, engloba 69 híbridos (aproximadamente 86%) e a testemunha. As médias de porcentagem neste grupo variaram de zero a 10,6%. A testemunha apresentou média de 0,63% de plantas acamadas. Quatro híbridos não apresentaram plantas acamadas, superando assim a testemunha. Foram estes: D15xF17, D15xF15, D09xF12 e D07xF08.

Considerando o caráter ED, o teste de médias identificou dois grupos distintos (*a* – maior porcentagem e *b* – menor porcentagem de espigas doentes. Foram consideradas espigas doentes quaisquer espigas que apresentassem sinais de infecção por microrganismos. O grupo *b* incluiu 35 híbridos, cujas médias variaram de 15,15 a 50,73% de espigas doentes. A testemunha, com média 66,93% de espigas doentes, foi agrupada aos híbridos do grupo *a*.

Em relação à PR, não foram observadas diferenças significativas em relação aos híbridos e à testemunha. Vinte e dois híbridos apresentaram PR superior a 1,0, porém a maior PR não se correlacionou com maiores rendimentos. Isto pode ser explicado por vários fatores, como espigas menores, menor número de fileiras por espigas, menor número de grãos por fileira e espigas mal granadas.

Para o caráter GA, foram identificados dois grupos distintos significativamente (*a* – mais sadios e *b* – menos sadios). O grupo *a* incluiu 66 híbridos, com médias de nota variando de 4,75 a 5,0. O grupo *b* englobou 14 híbridos e a testemunha (com média de 4,25). Destes híbridos, sete apresentaram médias superiores à testemunha. Estes resultados, juntamente com os de PB e NG indicam que a maioria das linhagens produziram híbridos com boa resistência a patógenos. Embora as médias de ED tenham sido altas, a maioria das espigas apresentou apenas pequenos pontos de infecção, o que explica o fato de GA ter melhores resultados.

O RG é o principal caráter de interesse no melhoramento genético. Para esse caráter, o teste de médias diferenciou quatro grupos (*a* – maiores rendimentos, *d* – menores rendimentos). A testemunha foi incluída no grupo *b*, com rendimento médio de 6.295,9 kg/ha. Treze híbridos foram incluídos no grupo *a*, com médias variando entre 6.370,3 a 7.784,1 kg/ha. O híbrido D02 x F05 teve o melhor rendimento (7,78 t/ha) e está no grupo dos mais precoces. Em relação aos demais caracteres, este híbrido também apresentou resultados satisfatórios. Destacam-se aqui as linhagens D02, cujos quatro híbridos apresentaram

rendimentos superiores, e F15, com três híbridos no grupo *a*.

Considerando os resultados obtidos para todos os caracteres avaliados, de maneira geral, as linhagens empregadas resultaram em bons híbridos, que em muitas vezes se equipararam ou até superaram a testemunha.

As correlações entre os híbridos observados e preditos foram altas, variando entre 0,70 (PB) e 0,97 (AP e AE), indicando que a predição de híbridos foi eficiente. Estes valores são semelhantes aos encontrados em outros estudos. Andrade (1995) encontrou coeficientes de correlação entre 0,82 a 0,96. Por outro lado, Araújo (2000) obteve correlação de 0,86 e Fuzzato (2003) observou correlações entre 0,685 e 0,925. Todos estes autores avaliaram o peso da espiga. Gonçalves (1987) encontrou correlações de 0,86 a 0,92 em relação a peso de grãos. Em todos estes experimentos, os parâmetros genéticos (CGC e CEC) foram estimados utilizando o método dos quadrados mínimos, assim como neste trabalho.

Tabela 2 – Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variância para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) dos 80 híbridos simples, coeficiente de variação experimental (CV) e médias geral, dos híbridos experimentais (HS) e da testemunha (T).

F.V.	G. L.	FF	AP	AE	CS	ND	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
Blocos	3	11,22	0,11	0,03	393,59	7,08	0,62	936,16	50,66	2834,01	0,50	0,004	589512,42
Tratamentos	80	12,51**	0,13**	0,09**	177,63**	1,31**	0,91**	304,54**	128,28**	1085,47**	0,11	0,29**	2937071,10**
Híbridos (H)	79	11,75**	0,13**	0,09**	177,41**	1,33**	0,91**	305,15**	128,26**	1090,01**	0,11	0,27**	2937071,28**
H vs test.	1	72,94**	0,18**	0,29**	195,43	0,02	0,52	256,60	129,94	726,11	0,02	1,38**	2865962,09*
Resíduo	240	1,34	0,01	0,004	62,46	0,49	0,53	93,60	40,18	583,06	0,09	0,12	510868,11
C.V. (%)		1,95	3,95	5,55	45,31	21,13	60,32	113,92	100,72	45,10	30,52	7,07	13,1
Média geral		59,49	2,09	1,20	17,44	3,31	1,21	8,49	6,29	53,54	0,95	4,70	5.454,67
Média HS		59,55	2,09	1,20	17,53	3,32	1,21	8,59	6,36	53,38	0,95	4,84	5.444,15
Média T		55,25	1,88	0,93	10,45	3,25	0,85	0,53	0,63	66,93	1,02	4,00	6.295,88

*, ** - Significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 3 – Valores médios dos híbridos observados para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) e correlação com os valores médios preditos (continua).

Híbridos	FF	AP	AE	CS	ND	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
D01 x F01	54,3 d*	1,76 e	0,94 e	20,28 b	3,50 b	1,99 a	3,01 c	7,41 c	70,25 a	0,88 a	5,00 a	5871,77 b
D01 x F02	58,8 b	1,94 c	1,12 d	16,03 c	3,50 b	1,64 a	1,62 c	3,09 c	36,32 b	0,84 a	5,00 a	6714,71 a
D01 x F03	60,0 b	2,03 c	1,21 c	19,52 b	3,25 b	1,21 b	11,65 c	9,10 c	53,93 a	1,12 a	5,00 a	6387,06 a
D01 x F04	57,5 c	2,17 b	1,22 c	11,62 c	3,00 b	1,58 a	7,09 c	5,66 c	46,78 b	1,15 a	4,50 b	6061,47 b
D02 x F02	59,3 b	1,99 c	1,08 d	7,42 c	3,00 b	1,91 a	24,47 b	2,92 c	48,12 b	0,86 a	5,00 a	6370,29 a
D02 x F03	59,0 b	2,14 b	1,23 c	12,96 c	3,75 a	0,50 b	4,89 c	15,13 b	28,95 b	1,04 a	5,00 a	6960,00 a
D02 x F04	57,0 c	2,19 b	1,22 c	3,77 c	2,75 b	1,21 b	9,21 c	5,56 c	78,30 a	0,92 a	4,75 a	6727,35 a
D02 x F05	56,8 c	2,23 b	1,18 c	11,82 c	4,50 a	2,49 a	5,40 c	2,41 c	74,81 a	0,97 a	5,00 a	7784,12 a
D03 x F03	59,8 b	2,01 c	1,19 c	24,52 b	3,50 b	1,99 a	2,13 c	3,67 c	52,79 a	0,94 a	5,00 a	5965,59 b
D03 x F04	59,8 b	2,14 b	1,27 c	7,99 c	3,50 b	1,64 a	6,70 c	2,73 c	32,22 b	1,03 a	4,75 a	5550,59 b
D03 x F05	60,3 a	2,05 c	1,12 d	12,78 c	5,00 a	2,79 a	3,10 c	1,22 c	55,89 a	0,91 a	5,00 a	5968,53 b
D03 x F06	59,8 b	1,93 c	1,10 d	11,03 c	3,50 b	2,22 a	4,17 c	8,24 c	47,75 b	0,96 a	5,00 a	5916,77 b
D04 x F04	60,3 a	2,31 a	1,31 b	17,12 c	3,00 b	0,85 b	12,97 c	8,22 c	79,10 a	0,99 a	4,00 b	6208,23 b
D04 x F05	61,0 a	2,34 a	1,32 b	23,74 b	4,50 a	2,43 a	6,52 c	3,04 c	86,23 a	0,74 a	4,25 b	4939,41 c
D04 x F06	62,0 a	2,00 c	1,15 d	20,42 b	3,25 b	1,58 a	1,16 c	5,84 c	34,63 b	0,82 a	5,00 a	5006,70 c
D04 x F07	60,5 a	2,19 b	1,27 c	20,18 b	3,25 b	0,85 b	1,85 c	5,49 c	56,61 a	0,90 a	5,00 a	5087,06 c
D05 x F05	60,0 b	2,10 b	1,12 d	16,60 c	3,50 b	2,30 a	7,01 c	3,17 c	62,44 a	0,85 a	4,75 a	5150,00 c
D05 x F06	61,3 a	1,98 c	1,09 d	20,15 b	3,50 b	1,29 b	4,37 c	1,23 c	50,73 b	0,80 a	5,00 a	3743,24 d
D05 x F07	58,3 b	2,22 b	1,23 c	22,85 b	4,00 a	0,50 b	2,43 c	12,24 b	83,40 a	0,77 a	4,75 a	5250,00 c
D05 x F08	60,5 a	2,32 a	1,32 b	14,84 c	2,75 b	0,50 b	14,02 c	3,75 c	45,33 b	0,95 a	5,00 a	5459,71 c
D06 x F06	60,3 a	1,98 c	1,22 c	21,06 b	3,00 b	0,85 b	0,52 c	5,18 c	62,09 a	0,86 a	4,25 b	4491,47 d
D06 x F07	59,5 b	2,06 c	1,26 c	21,27 b	3,25 b	0,85 b	4,19 c	12,84 b	48,40 b	0,89 a	5,00 a	5182,94 c
D06 x F08	59,3 b	2,37 a	1,46 a	10,71 c	2,25 b	1,58 a	20,36 b	1,91 c	62,30 a	0,96 a	4,50 b	6476,77 a
D06 x F09	60,3 a	2,14 b	1,29 c	29,38 a	2,75 b	1,91 a	12,29 c	9,35 c	88,36 a	1,97 a	4,25 b	5039,71 c
D07 x F07	58,5 b	2,00 c	1,19 c	39,23 a	5,00 a	1,64 a	6,46 c	12,79 b	63,17 a	0,92 a	4,50 b	4514,71 d
D07 x F08	59,5 b	2,37 a	1,41 a	17,19 c	3,50 b	2,14 a	13,14 c	0,00 c	43,97 b	1,02 a	5,00 a	4706,47 c

*Médias com a mesma letra não diferem pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$).

Tabela 3 – Valores médios dos híbridos observados para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) e correlação com os valores médios preditos (continuação).

Híbridos	FF	AP	AE	CS	ND	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
D07 x F09	59,3 b	2,21 b	1,28 c	20,93 b	4,25 a	2,30 a	4,45 c	2,44 c	81,92 a	0,89 a	4,75 a	4103,82 d
D07 x F10	60,8 a	2,01 c	1,15 d	22,72 b	4,50 a	2,37 a	2,92 c	5,40 c	61,98 a	0,66 a	5,00 a	3165,00 d
D08 x F10	61,0 a	1,93 c	1,07 d	17,85 c	3,50 b	0,85 b	6,52 c	3,44 c	46,04 b	0,94 a	5,00 a	4561,18 d
D08 x F11	60,8 a	2,29 a	1,38 b	6,65 c	2,25 b	0,50 b	5,53 c	3,79 c	30,97 b	0,96 a	5,00 a	6575,88 a
D09 x F09	59,8 b	2,28 a	1,22 c	16,83 c	3,50 b	1,78 a	2,52 c	5,80 c	67,00 a	0,92 a	4,25 b	4911,76 c
D09 x F10	60,3 a	2,17 b	1,28 c	13,14 c	3,25 b	0,93 b	7,02 c	2,44 c	41,67 b	0,87 a	5,00 a	4150,88 d
D09 x F11	61,8 a	2,23 b	1,34 b	18,63 b	3,50 b	0,85 b	12,46 c	9,57 c	50,35 b	0,89 a	5,00 a	4624,71 d
D09 x F12	60,5 a	2,19 b	1,19 c	13,45 c	2,50 b	0,50 b	5,33 c	0,00 c	63,00 a	0,89 a	4,75 a	4995,00 c
D10 x F10	59,8 b	2,01 c	1,07 d	7,64 c	2,75 b	2,07 a	6,61 c	6,61 c	55,78 a	0,92 a	4,75 a	5650,00 b
D10 x F11	60,8 a	2,30 a	1,39 b	9,32 c	2,75 b	0,85 b	6,83 c	2,24 c	42,71 b	0,98 a	5,00 a	7363,24 a
D10 x F12	60,5 a	2,17 b	1,19 c	14,31 c	2,75 b	0,50 b	5,03 c	7,02 c	54,73 a	0,87 a	5,00 a	5595,00 b
D10 x F13	60,0 b	2,35 a	1,45 a	16,36 c	3,00 b	1,21 b	4,26 c	2,86 c	57,45 a	0,97 a	5,00 a	5945,88 b
D11 x F11	61,3 a	2,30 a	1,44 a	24,44 b	3,25 b	0,50 b	9,35 c	5,65 c	24,55 b	0,75 a	5,00 a	5425,88 c
D11 x F12	61,3 a	2,09 b	1,24 c	39,95 a	4,50 a	0,85 b	2,88 c	10,57 c	47,88 b	0,81 a	4,75 a	4232,65 d
D11 x F13	62,5 a	2,20 b	1,33 b	16,02 c	3,25 b	0,50 b	36,15 a	14,15 b	34,13 b	0,74 a	5,00 a	4025,30 d
D11 x F14	59,5 b	2,27 a	1,33 b	18,04 c	3,25 b	0,50 b	4,13 c	5,80 c	59,88 a	0,87 a	4,25 b	5172,65 c
D12 x F12	58,8 b	2,00 c	1,11 d	21,70 b	3,25 b	1,21 b	3,28 c	2,24 c	30,94 b	0,92 a	5,00 a	5996,76 b
D12 x F13	60,3 a	2,09 b	1,26 c	14,85 c	3,00 b	1,21 b	31,84 a	2,53 c	42,04 b	1,09 a	5,00 a	5639,71 b
D12 x F14	60,0 b	2,07 c	1,19 c	21,94 b	3,50 b	1,91 a	10,56 c	12,94 b	61,27 a	0,95 a	4,75 a	5531,47 b
D12 x F15	59,0 b	2,15 b	1,25 c	15,14 c	2,75 b	1,21 b	1,67 c	2,72 c	39,33 b	0,95 a	5,00 a	6790,88 a
D13 x F13	61,8 a	2,24 a	1,40 b	15,98 c	3,00 b	0,50 b	32,41 a	6,94 c	47,41 b	0,71 a	5,00 a	5036,47 c
D13 x F14	59,8 b	2,22 b	1,26 c	15,87 c	3,25 b	0,85 b	12,17 c	10,15 c	58,37 a	0,93 a	4,50 b	5862,94 b
D13 x F15	58,8 b	2,16 b	1,20 c	20,31 b	3,50 b	0,85 b	1,63 c	0,50 c	86,38 a	1,01 a	5,00 a	6730,30 a
D13 x F16	60,0 b	2,19 b	1,26 c	19,13 b	3,00 b	0,50 b	9,30 c	32,31 a	32,16 b	1,38 a	5,00 a	6482,94 a
D14 x F14	59,5 b	2,31 a	1,36 b	16,21 c	3,25 b	1,91 a	3,22 c	11,58 b	65,93 a	0,90 a	4,00 b	4833,82 c
D14 x F15	61,0 a	2,33 a	1,39 b	15,93 c	3,25 b	1,29 b	1,35 c	3,16 c	68,56 a	0,87 a	5,00 a	4364,41 d

*Médias com a mesma letra não diferem pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$).

Tabela 3 – Valores médios dos híbridos observados para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) e correlação com os valores médios preditos (conclusão).

Híbridos	FF	AP	AE	CS	ND	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
D14 x F16	61,3 a	2,34 a	1,37 b	14,79 c	2,50 b	1,21 b	0,66 c	2,89 c	66,42 a	0,88 a	5,00 a	6087,06 b
D14 x F17	57,5 c	2,00 c	1,17 c	22,58 b	3,75 a	1,72 a	1,05 c	1,75 c	38,45 b	0,90 a	5,00 a	5145,88 c
D15 x F15	58,5 b	2,01 c	1,15 d	11,83 c	3,00 b	0,50 b	13,63 c	0,00 c	30,45 b	1,14 a	4,75 a	6613,24 a
D15 x F16	59,3 b	1,98 c	1,10 d	11,19 c	2,75 b	1,21 b	3,34 c	2,76 c	73,96 a	1,06 a	4,75 a	4994,71 c
D15 x F17	56,5 c	1,83 d	1,03 d	14,49 c	3,75 a	1,21 b	9,05 c	0,00 c	40,11 b	0,89 a	5,00 a	4992,65 c
D15 x F18	60,0 b	2,22 b	1,38 b	11,94 c	3,00 b	0,50 b	34,56 a	6,25 c	67,66 a	1,05 a	5,00 a	5927,35 b
D16 x F16	60,0 b	1,99 c	1,07 d	14,95 c	3,00 b	0,50 b	6,02 c	10,41 c	66,68 a	1,04 a	4,75 a	4964,71 c
D16 x F17	55,5 d	1,84 d	1,01 e	12,70 c	3,00 b	0,50 b	3,40 c	3,34 c	57,96 a	1,02 a	5,00 a	5079,71 c
D16 x F18	61,3 a	2,25 a	1,46 a	13,40 c	2,75 b	0,50 b	17,05 c	2,49 c	39,86 b	0,91 a	5,00 a	5175,30 c
D16 x F19	60,0 b	2,05 c	1,14 d	9,56 c	2,75 b	0,50 b	13,01 c	6,31 c	15,15 b	1,00 a	5,00 a	5274,71 c
D17 x F17	56,3 c	1,87 d	1,11 d	21,68 b	3,75 a	1,99 a	4,76 c	7,45 c	33,56 b	0,96 a	5,00 a	5744,12 b
D17 x F18	60,5 a	2,18 b	1,32 b	15,75 c	3,00 b	0,50 b	25,89 b	3,79 c	55,12 a	1,06 a	5,00 a	5678,53 b
D17 x F19	60,3 a	2,08 b	1,23 c	17,92 c	3,75 a	1,91 a	9,93 c	5,91 c	39,11 b	1,04 a	5,00 a	5850,88 b
D17 x F20	59,0 b	1,71 e	0,90 f	14,82 c	3,50 b	0,85 b	2,52 c	7,99 c	58,77 a	0,88 a	5,00 a	4902,36 c
D18 x F18	61,8 a	2,29 a	1,35 b	27,99 a	3,50 b	0,85 b	8,42 c	6,26 c	68,43 a	0,87 a	4,75 a	4125,29 d
D18 x F19	60,8 a	2,14 b	1,19 c	14,72 c	3,00 b	1,21 b	16,14 c	5,29 c	54,04 a	1,11 a	5,00 a	5347,64 c
D18 x F20	58,3 b	1,94 c	0,96 e	33,22 a	4,25 a	0,85 b	2,58 c	25,43 a	74,61 a	0,88 a	4,50 b	5403,24 c
D18 x F01	55,0 d	1,74 e	0,86 f	28,30 a	4,25 a	2,14 a	1,48 c	16,47 b	55,37 a	0,89 a	4,50 b	4883,82 c
D19 x F19	59,8 b	2,02 c	1,23 c	17,77 c	3,25 b	1,21 b	34,31 a	8,88 c	35,50 b	1,31 a	5,00 a	5353,53 c
D19 x F20	56,3 c	1,79 d	0,96 e	26,29 b	4,00 a	0,50 b	2,18 c	24,37 a	59,51 a	0,95 a	4,75 a	5586,77 b
D19 x F01	55,0 d	1,73 d	0,91 f	20,49 b	3,25 b	1,21 b	2,43 c	5,39 c	72,40 a	0,91 a	4,50 b	5900,88 b
D19 x F02	59,8 b	1,84 d	1,05 d	21,70 b	3,25 b	0,85 b	1,43 c	7,00 c	52,06 a	0,75 a	5,00 a	4245,00 d
D20 x F20	58,5 b	1,81 d	0,88 f	20,01 b	3,25 b	0,50 b	2,28 c	5,25 c	63,59 a	0,90 a	5,00 a	6241,77 b
D20 x F01	57,3 c	1,71 e	0,87 f	18,99 b	3,50 b	0,85 b	6,53 c	1,71 c	33,13 b	0,95 a	5,00 a	5459,41 c
D20 x F02	61,0 a	1,79 d	0,98 e	7,34 c	2,75 b	0,85 b	1,69 c	0,63 c	28,57 b	0,87 a	5,00 a	5549,71 b
D20 x F03	62,0 a	1,96 c	1,19 c	26,65 b	2,50 b	1,21 b	20,42 b	5,72 c	58,10 a	1,14 a	5,00 a	4328,83 d
DOW 2B710	55,3 d	1,88 d	0,93 e	10,50 c	3,25 b	1,29 b	0,53 c	0,63 c	66,93 a	1,02 a	4,25 b	6295,88 b
Média geral	59,55	2,09	1,20	17,53	3,32	1,22	8,59	9,24	53,38	0,95	4,84	5444,15
Correlação	0,95	0,97	0,97	0,85	0,87	0,70	0,84	0,78	0,77	0,76	0,85	0,88

*Médias com a mesma letra não diferem pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$).

5.2 Estimativa das capacidades geral e específica de combinação

Os resultados da análise de variância para CEC indicam que houve diferença significativa entre as linhagens Dentado (CGC I) e entre as linhagens Flintisa (CGC II) para a maioria dos caracteres avaliados (Tabela 4). Entre as linhagens Dentado, não houve diferença significativa para PB, QB, PR e GA. Entre as linhagens Flintisa, isso ocorreu para QB, PR e GA. Com relação à CEC, a diferença não foi significativa para ND, QB, PR e GA.

Os valores estimados de CGC para RG das linhagens Dentado (g_i) variaram entre 1.695,58 (D02) e -1.146,00 (D07) (Tabela 5). A linhagem D02 também apresentou maior destaque para FF (-2,02), CS (-9,55). Este resultado já era esperado, uma vez que todos os híbridos obtidos desta linhagem demonstraram rendimentos superiores. Para AP e AE, a linhagem D15 apresentou os menores valores de CGC (-0,15 e -0,09, respectivamente). Em relação AC, a linhagem D10 apresentou a menor CGC (-7,02).

Entre as linhagens Flintisa, os valores de CGC para RG variaram de 652,90 (F19) e -782,99 (F13) (Tabela 6). A linhagem F01 demonstrou melhor CGC para FF (-3,78), AP (-0,30) e AE (-0,26). Os híbridos obtidos a partir desta linhagem apresentaram resultados superiores para estes caracteres. Para AC, o menor valor de CGC foi obtido para a linhagem F15 (-7,23).

Vários pares de linhagem se destacaram para as estimativas de CEC (Tabela 7). O par de linhagens D04 e F04 apresentou o melhor valor de CEC para RG (844,16). Para FF, o maior destaque foi para o par D03 e F03 (-1,05) e, para AP, o melhor resultado foi do par D09 e F11 (-0,09). Em relação à altura de espigas, quatro pares e linhagens obtiveram o menor valor de CEC (-0,07), sendo estes D11 e F13, D10 e F10, D17 e F18, e D13 e F15. Para CS, o par D18 e F19 apresentou o melhor valor (-6,46). O par D10 x F13 se destacou para o caráter AC, com valor de CEC de -14,54.

Considerando os valores médios para os híbridos, as CGC e as CEC para os caracteres avaliados, as linhagens D02 e F15 se destacaram em relação às demais. Indicam-se linhagens D01, D02, D03, D04, D08, D10, D12, e D13 para avaliação em dialelo parcial com as linhagens F01, F08, F11, F15, F16, F17, F19 e F20. Os híbridos D02 x F05, D10 x F11 e D02 x F03 são indicados para novas avaliações (em vários ambientes), visando possível uso comercial.

Tabela 4 - Valores e significância dos quadrados médios das análises de variância para capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) das linhagens para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG).

F. V.	G.L.	FF	AP	AE	CS	ND	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
Híbridos	79	11,75**	0,13**	0,09**	177,41**	1,33**	0,91**	305,15**	128,26**	1090,01**	0,11	0,27**	2937071,28**
CGC I	19	11,93**	0,15**	0,08**	350,76**	1,89*	0,78	123,88**	3050,20	1116,16**	0,09	0,28	7278643,72**
CGC II	19	32,55**	0,35**	0,26**	179,30**	2,33**	1,07**	764,55**	2999,56	1553,90**	0,17	0,54	2188011,08**
CEC	41	2,02*	0,01**	0,11**	96,16**	0,60	0,91**	176,19**	2703,35	862,84**	0,09	0,14	1273982,78**
Resíduo	240	1,34	0,01	0,004	62,46	0,49	0,53	93,60	40,18	583,06	0,09	0,12	510868,11

*, ** - Significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5 – Estimativa das capacidades gerais de combinação (CGC) linhagens do Composto Dentado para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG).

Linhagens	FF	AP	AE	CS	NG	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
D01	-1,46	-0,01	0,004	-1,95	0,02	0,53	-0,73	-1,45	4,53	0,16	0,24	942,55
D02	-2,02	0,07	-0,01	-9,55	0,02	0,24	3,92	-0,35	8,02	0,10	0,32	1695,58
D03	-0,05	-0,03	-0,01	-5,01	0,33	0,59	-2,53	-3,33	-2,69	0,09	0,32	702,48
D04	1,57	0,14	0,09	2,12	-0,20	0,14	0,19	-1,73	13,84	0,02	-0,11	83,10
D05	0,47	0,05	-0,01	0,94	-0,23	0,32	-1,05	-1,05	14,71	-0,01	0,04	-527,64
D06	0,29	0,02	0,10	3,19	-0,59	-0,13	1,05	0,55	17,19	0,21	-0,36	-49,16
D07	-0,01	0,02	0,05	8,13	0,91	-0,18	-3,01	-1,11	11,39	-0,13	-0,08	-1146,00
D08	0,78	0,02	0,01	-3,08	-0,38	-0,45	-1,86	0,02	-9,41	-0,04	0,08	245,01
D09	0,44	0,12	0,05	-2,07	-0,09	-0,35	-1,04	-0,07	-0,75	-0,14	-0,16	-428,26
D10	-0,27	0,10	0,04	-4,59	-0,37	-0,30	-7,02	1,03	-0,35	-0,03	-0,04	1160,93
D11	0,83	0,05	0,06	8,38	0,46	-0,48	1,22	4,73	-17,35	-0,19	-0,07	-481,60
D12	-0,46	-0,08	-0,05	1,98	0,02	0,01	2,27	1,61	-21,36	-0,02	0,14	760,41
D13	0,11	0,02	0,02	2,57	0,19	-0,32	4,92	6,81	-10,78	-0,02	0,07	562,99
D14	1,01	0,12	0,12	0,44	0,05	-0,26	-1,63	-1,28	-4,71	-0,17	-0,08	-626,21
D15	-0,70	-0,15	-0,09	-5,40	0,02	0,02	7,29	-3,31	-7,70	-0,02	-0,13	-229,27
D16	-0,38	-0,12	-0,09	-4,48	-0,24	-0,18	-1,78	-1,07	-7,45	-0,07	-0,11	-759,98
D17	-0,05	-0,13	-0,07	-0,78	0,15	0,42	-0,84	-1,41	-4,08	0,0003	-0,02	-368,19
D18	0,07	-0,02	-0,07	7,79	0,38	0,01	-4,55	4,95	11,41	0,005	-0,24	-957,41
D19	-1,05	-0,10	-0,03	3,87	0,01	0,14	2,45	3,04	8,91	0,12	-0,05	-475,84
D20	0,87	-0,10	-0,03	-2,51	-0,47	0,22	2,74	-6,57	-3,37	0,15	0,23	-103,46

Tabela 6 – Estimativa das capacidades gerais de combinação (CGC) das linhagens do Composto Flintisa para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG).

Linhagens	FF	AP	AE	CS	ND	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
F01	-3,78	-0,30	-0,26	2,69	0,32	0,25	-5,21	1,39	-0,96	-0,15	-0,13	233,36
F02	1,05	-0,17	-0,11	-1,87	-0,09	-0,18	-3,39	-1,62	-16,63	-0,25	-0,03	-238,93
F03	1,31	-0,04	0,03	8,14	-0,04	-0,20	0,33	4,97	-6,55	-0,02	-0,12	-343,07
F04	-0,43	0,07	0,04	-3,81	-0,30	-0,52	0,19	0,90	-0,20	-0,02	-0,53	-163,17
F05	-0,04	0,03	-0,03	1,58	1,08	0,08	-3,22	-2,29	8,00	-0,13	-0,23	27,98
F06	0,70	-0,16	-0,10	0,33	0,17	-0,68	-5,45	0,15	-15,34	-0,17	-0,001	-706,78
F07	-0,94	-0,03	-0,02	4,76	0,59	-0,38	-4,15	5,32	-4,76	-0,10	0,10	-25,55
F08	0,20	0,24	0,15	-6,08	-0,43	0,24	10,50	-4,04	-18,33	0,03	0,11	641,26
F09	-0,05	0,06	0,00	0,54	0,04	0,31	-2,10	0,22	17,31	0,29	-0,15	-298,01
F10	0,66	-0,13	-0,09	-1,79	0,04	0,76	0,41	-1,85	-2,23	-0,02	0,15	-1020,31
F11	1,13	0,11	0,15	-2,43	-0,28	0,48	2,12	-2,48	-9,27	0,04	0,21	429,26
F12	0,57	-0,03	-0,04	3,90	-0,07	0,11	-3,32	-3,23	5,71	0,01	0,07	-492,17
F13	1,52	0,11	0,14	-3,81	-0,33	-0,05	17,23	-3,29	4,34	0,005	0,13	-782,99
F14	-0,23	0,10	0,05	-2,86	-0,18	0,01	-2,77	0,79	21,53	0,06	-0,48	-147,83
F15	-0,22	0,10	0,05	-1,63	-0,26	0,01	-7,23	-5,72	13,93	0,10	0,09	563,58
F16	0,57	0,07	0,01	-0,80	-0,51	-0,07	-6,03	5,45	14,09	0,21	0,09	451,32
F17	-3,08	-0,14	-0,09	2,88	0,25	0,18	-5,54	-1,46	-4,87	0,06	0,24	292,35
F18	1,59	0,25	0,26	0,46	-0,33	-0,27	12,86	-1,45	6,35	0,04	0,22	361,18
F19	0,99	0,08	0,06	-4,14	-0,20	0,28	10,94	-1,14	-19,63	0,15	0,26	652,90
F20	-1,51	-0,19	-0,21	3,96	0,41	-0,34	-6,15	9,39	7,52	-0,12	-0,01	565,61

Tabela 7 – Estimativa das capacidades específicas de combinação (CEC) dos pares de linhagens dos Compostos Dentado e Flintisa para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) (continua).

Híbridos	FF	AP	AE	CS	ND	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
D01 x F01	-0,06	-0,02	0,0003	2,02	-0,16	-0,004	0,36	1,11	13,31	-0,08	0,06	-748,29
D01 x F02	-0,39	0,02	0,03	2,33	0,25	0,63	-2,86	-0,20	-4,95	-0,01	-0,05	566,94
D01 x F03	0,61	-0,02	-0,02	-4,19	-0,05	-0,33	3,46	-0,77	2,58	0,03	0,04	343,42
D01 x F04	-0,16	0,02	-0,01	-0,15	-0,04	-0,30	-0,96	-0,14	-10,93	0,06	-0,05	-162,07
D02 x F02	0,67	-0,01	-0,01	1,31	-0,25	0,02	15,34	-1,48	3,36	0,06	-0,14	-530,51
D02 x F03	0,17	0,02	0,003	-3,16	0,46	0,31	-7,95	4,15	-25,89	0,003	-0,05	163,33
D02 x F04	-0,10	-0,04	-0,01	-0,41	-0,29	-0,08	-3,49	-1,35	17,11	-0,11	0,12	-249,22
D02 x F05	-0,74	0,03	0,02	2,26	0,08	-0,25	-3,90	-1,32	5,42	0,05	0,07	616,40
D03 x F03	-1,05	-0,01	-0,03	3,86	-0,10	-0,31	-4,26	-4,33	8,66	-0,09	-0,04	162,03
D03 x F04	0,69	0,01	0,05	-0,72	0,15	0,36	0,45	-1,20	-18,26	0,01	0,12	-432,87
D03 x F05	0,80	-0,04	-0,04	-1,32	0,27	0,22	0,25	0,47	-2,79	-0,003	0,07	-206,08
D03 x F06	-0,44	0,03	0,02	-1,82	-0,32	-0,27	3,56	5,05	12,40	0,08	-0,16	476,92
D04 x F04	-0,44	0,01	-0,02	1,28	0,18	0,02	4,00	2,70	12,08	0,04	-0,20	844,16
D04 x F05	-0,08	0,07	0,06	2,51	0,31	-0,43	0,95	0,70	11,01	-0,10	-0,25	-615,82
D04 x F06	0,19	-0,07	-0,04	0,44	-0,04	0,54	-2,17	1,06	-17,25	0,02	0,27	186,30
D04 x F07	0,32	-0,01	-0,001	-4,23	-0,45	-0,12	-2,78	-4,45	-5,85	0,03	0,17	-414,64
D05 x F05	0,02	-0,07	-0,04	-3,44	-0,66	0,45	2,69	0,15	-13,64	0,05	0,10	205,51
D05 x F06	0,53	0,01	0,002	1,36	0,24	-0,35	2,28	-4,23	-2,01	0,03	0,12	-466,49
D05 x F07	-0,83	0,12	0,06	-0,37	0,33	-0,30	-0,96	1,61	20,08	-0,07	-0,23	359,04
D05 x F08	0,28	-0,05	-0,02	2,46	0,09	0,20	-4,02	2,48	-4,43	-0,01	0,01	-98,06
D06 x F06	-0,28	0,03	0,02	0,01	0,11	0,09	-3,67	-1,88	6,86	-0,13	-0,23	-196,74
D06 x F07	0,60	-0,02	-0,02	-4,21	-0,06	0,58	-1,30	0,62	-17,40	-0,17	0,42	-186,50
D06 x F08	-0,78	0,02	0,01	-3,93	-0,04	-0,12	0,22	-0,96	10,06	-0,22	-0,10	440,52
D06 x F09	0,46	-0,03	-0,01	8,12	-0,01	-0,55	4,75	2,22	0,48	0,52	-0,09	-57,28
D07 x F07	-0,09	-0,08	-0,01	8,81	0,19	-0,15	5,03	2,23	3,17	0,20	-0,36	242,11
D07 x F08	-0,23	0,02	0,01	-2,39	-0,29	-0,42	-2,94	-1,21	-2,47	0,17	0,13	-232,94
D07 x F09	-0,24	0,04	0,03	-5,27	-0,01	0,30	0,97	-3,02	-0,15	-0,22	0,14	103,68

Tabela 7 – Estimativa das capacidades específicas de combinação (CEC) dos pares de linhagens dos Compostos Dentado e Flintisa para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) (continuação).

Híbridos	FF	AP	AE	CS	ND	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
D07 x F10	0,56	0,02	-0,004	-1,15	0,11	0,27	-3,07	2,01	-0,55	-0,14	0,09	-112,84
D08 x F09	-0,03	-0,02	0,01	-3,68	-0,23	0,13	-2,78	1,51	2,60	-0,12	0,23	-240,27
D08 x F10	0,02	-0,06	-0,04	5,19	0,39	0,27	-0,62	-1,08	4,30	0,05	-0,07	-107,67
D08 x F11	-0,71	0,06	0,03	-5,37	-0,41	-0,74	-3,33	-0,11	-3,73	0,01	-0,13	457,47
D09 x F09	-0,19	0,01	-0,04	0,83	0,24	0,11	-2,93	-0,70	-2,93	-0,17	-0,28	193,87
D09 x F10	-0,39	0,08	0,12	-0,53	-0,14	-0,78	-0,94	-1,99	-8,72	0,08	0,17	155,29
D09 x F11	0,63	-0,10	-0,06	5,60	0,56	0,79	2,78	5,76	6,99	0,03	0,11	-820,44
D09 x F12	-0,05	0,003	-0,02	-5,91	-0,66	-0,13	1,10	-3,06	4,66	0,06	0,002	471,28
D10 x F10	-0,19	-0,05	-0,07	-3,51	-0,36	0,23	4,63	1,07	4,98	0,02	-0,20	65,22
D10 x F11	0,34	-0,01	0,01	-1,19	0,09	-0,05	3,13	-2,68	-1,05	0,01	-0,01	328,90
D10 x F12	0,65	0,01	-0,003	-2,53	-0,12	0,18	6,78	2,85	-4,01	-0,07	0,13	-517,91
D10 x F13	-0,80	0,05	0,07	7,23	0,39	-0,37	-14,54	-1,25	0,08	0,04	0,07	123,79
D11 x F11	-0,26	0,04	0,03	0,96	-0,25	-0,004	-2,59	-2,97	-2,21	-0,05	0,02	34,07
D11 x F12	0,31	-0,03	0,02	10,14	0,79	0,002	-3,61	2,71	6,14	0,03	-0,09	-237,73
D11 x F13	0,60	-0,05	-0,07	-6,08	-0,20	0,25	9,11	6,34	-6,24	-0,03	0,10	-154,26
D11 x F14	-0,65	0,03	0,02	-5,01	-0,35	-0,24	-2,92	-6,08	2,32	0,05	-0,04	357,92
D12 x F12	-0,91	0,02	0,001	-1,71	-0,02	-0,05	-4,26	-2,50	-6,79	-0,03	-0,05	284,37
D12 x F13	-0,37	-0,03	-0,04	-0,85	-0,01	-0,33	3,75	-2,15	5,69	0,15	-0,12	218,15
D12 x F14	1,14	-0,04	-0,01	5,29	0,35	0,41	2,47	4,18	7,72	-0,04	0,25	-525,26
D12 x F15	0,13	0,05	0,05	-2,74	-0,33	-0,03	-1,96	0,47	-6,62	-0,08	-0,08	22,74
D13 x F13	0,57	0,02	0,04	-0,30	-0,18	0,45	1,67	-2,94	0,47	-0,16	-0,05	-187,68
D13 x F14	0,33	0,01	-0,005	-1,37	-0,07	-0,05	1,43	-3,81	-5,76	-0,06	0,07	3,62
D13 x F15	-0,68	-0,04	-0,07	1,84	0,25	-0,06	-4,65	-6,95	29,81	-0,02	-0,01	159,58
D13 x F16	-0,22	0,01	0,03	-0,17	-0,0002	-0,33	1,55	13,70	-24,52	0,24	-0,01	24,47
D14 x F14	-0,82	0,00	-0,004	1,09	0,07	-0,11	-0,97	5,71	-4,27	0,06	-0,28	163,72
D14 x F15	0,67	0,02	0,02	-0,42	0,15	-0,46	1,62	3,80	5,96	-0,01	0,14	-1017,11
D14 x F16	0,13	0,06	0,04	-2,38	-0,35	0,33	-0,27	-7,64	3,66	-0,11	0,14	817,80

Tabela 7 – Estimativa das capacidades específicas de combinação (CEC) dos pares de linhagens dos Compostos Dentado e Flintisa para os caracteres florescimento feminino (FF), altura de plantas (AP), altura de espigas (AE), *corn stunt* (CS), nota geral para doenças (ND), pinta branca (PB), acamamento (AC), quebramento (QB), espigas doentes (ED), prolificidade (PR), grãos ardidos (GA) e rendimento de grãos (RG) (conclusão).

Híbridos	FF	AP	AE	CS	ND	PB	AC	QB	ED	PR	GA	RG
D14 x F17	0,03	-0,08	-0,06	1,71	0,14	0,24	-0,38	-1,87	-5,35	0,06	-0,01	35,59
D15 x F15	-0,12	-0,03	-0,01	1,32	-0,08	0,55	4,98	2,67	-29,15	0,11	-0,06	834,78
D15 x F16	-0,17	-0,03	-0,02	-0,14	-0,08	0,12	-6,51	-5,73	14,20	-0,08	-0,06	-671,49
D15 x F17	0,73	0,02	0,01	-0,53	0,16	-0,20	-4,29	-1,59	-0,69	-0,10	0,04	-514,58
D15 x F18	-0,44	0,03	0,01	-0,65	-0,005	-0,47	5,82	4,65	15,64	0,07	0,07	351,29
D16 x F16	0,26	-0,04	-0,05	2,70	0,43	-0,12	5,24	-0,33	6,66	-0,05	-0,08	-170,78
D16 x F17	-0,59	0,01	-0,01	-3,23	-0,33	-0,36	2,12	-0,49	16,90	0,09	0,02	103,19
D16 x F18	0,49	0,03	0,09	-0,11	0,01	-0,26	-2,62	-1,35	-12,41	-0,01	0,05	129,95
D16 x F19	-0,16	0,01	-0,03	0,65	-0,12	0,74	-4,74	2,16	-11,15	-0,03	0,004	-62,36
D17 x F17	-0,17	0,05	0,06	2,05	0,03	0,03	2,55	3,96	-10,87	-0,05	-0,06	375,80
D17 x F18	-0,59	-0,03	-0,07	-1,46	-0,14	-0,14	5,28	0,29	-0,52	0,07	-0,04	241,39
D17 x F19	-0,24	0,04	0,03	5,31	0,49	0,49	-8,75	2,10	9,44	-0,06	-0,08	122,02
D17 x F20	1,01	-0,06	-0,02	-5,90	-0,38	-0,38	0,92	-6,35	1,95	0,05	0,19	-739,21
D18 x F18	0,55	-0,03	-0,04	2,22	0,13	0,13	-8,49	-3,60	-2,71	-0,13	-0,07	-722,63
D18 x F19	0,14	-0,004	0,0001	-6,46	-0,50	-0,50	1,16	-4,88	8,87	0,003	0,13	208,01
D18 x F20	0,14	0,06	0,04	3,94	0,14	0,14	4,69	4,72	2,29	0,04	-0,09	350,89
D18 x F01	-0,83	-0,03	-0,01	0,30	0,23	0,23	2,64	3,76	-8,46	0,09	0,03	163,72
D19 x F19	0,26	-0,05	-0,002	0,50	0,13	0,13	12,33	0,62	-7,16	0,09	-0,05	-267,68
D19 x F20	-0,74	-0,01	0,003	0,93	0,26	0,26	-2,71	5,57	-10,31	-0,01	-0,03	52,85
D19 x F01	0,28	0,04	-0,001	-3,60	-0,40	-0,40	-3,40	-5,40	11,07	-0,01	-0,15	699,21
D19 x F02	0,20	0,02	0,001	2,17	0,01	0,01	-6,22	-0,78	6,40	-0,07	0,24	-484,38
D20 x F20	-0,41	0,01	-0,03	1,03	-0,01	-0,01	-2,90	-3,94	6,06	-0,08	-0,06	335,47
D20 x F01	0,61	0,02	0,01	1,28	0,33	0,33	0,40	0,53	-15,91	0,002	0,06	-114,64
D20 x F02	-0,47	-0,03	-0,03	-5,81	-0,01	-0,01	-6,26	2,46	-4,80	0,02	-0,05	447,96
D20 x F03	0,27	0,01	0,04	3,49	-0,31	-0,31	8,76	0,96	14,65	0,06	0,05	-668,79

5.3 Diversidade genética

A maioria dos pares de iniciadores (18/20) inicialmente selecionados resultou em adequada amplificação, exceto phi001 e bnlgl450 que falharam na amplificação de todas as linhagens, resultando em alelos nulos e, conseqüentemente, não foram empregados nas análises. A ocorrência de alelos nulos é amplamente conhecida e reportada nos estudos de genética, sendo decorrente de complementaridade insuficiente entre o iniciador e a molécula de DNA molde, pela presença de pontos de mutação, impossibilitando a amplificação daquele loco (WAGNER et al., 2006). Provavelmente ocorrem diferenças genômicas entre os sítios de pareamento desses iniciadores levando-se em consideração que eles foram desenhados para germoplasma temperado e não tropical como aqui estudado. Outros autores também já relataram alelos nulos em milho (SU-XIA et al., 2004, LABORDA et al., 2005, DANDOLINI et al., 2008).

Sobre a amostra total de linhagens (40 genótipos), todos os 18 locos SSR foram polimórficos, sendo observados um total de 117 alelos (Tabela 8), indicando alto nível de polimorfismo (Figura 1). O número de alelos por loco variou de 3 (phi059) a 13 alelos (phi299852), com média de 6,5. O menor fragmento alélico obtido foi de 66 pb (loco phi064) e o maior, com 240 pb, foi encontrado no loco phi453121. A riqueza alélica por loco foi inferior ao número de alelos por locos, variando de 2,92 (phi059) a 10,72 alelos (phi299852), com média de 5,74. Este menor número efetivo de alelos por loco indica que muitos dos alelos têm baixa freqüência ($p \leq 0,5$) ou são raros ($p \leq 0,05$) (Figuras 2 a 7).

Em todos os locos os valores de heterozigosidade observada (H_o) foram baixos e inferiores aos valores esperados (H_e) em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. A H_e variou de 0,51 (phi233376) a 0,85 (phi 126 e bnlgl2291), com média de 0,70, enquanto que a H_o variou de 0,00 (phi453121, phi233376, bnlgl127, bnlgl128 e phi 059) a 0,16 (bnlgl2291), com média de 0,06. Cerca de 28% dos locos (phi453121, phi233376, bnlgl127, bnlgl128 e phi 059) apresentaram-se fixados o que pode ser verificado pelos valores nulos de H_o e pelo valor unitário do índice de fixação (f) (Tabela 8). Os demais locos também apresentaram altos índices de fixação, variando entre 0,83 (umc1823) e 0,97 (phi072 e phi059), com média de 0,92. Todos os locos apresentaram desvios significativos ($p < 0,05$) do EHW, por excesso de homozigotos, confirmando o nível máximo de endogamia a que as populações foram

submetidas para a extração das linhagens. Entretanto para diversos locos ainda não foi atingido o estado absoluto de homozigose. Fenômeno semelhante foi observado por Laborda et al. (2005) para 50 locos SSR em 85 linhagens de milho tropical mantidas por autofecundações por várias gerações. Verificaram a presença de heterozigose em 96% desses locos, sendo que cinco apresentaram alta frequência de heterozigotos (>40%). Os autores sugerem que isso demonstra a eficiência da técnica molecular de SSR em detectar se os procedimentos de endogamia são efetivos no aumento da homozigosidade nas linhagens, e pode indicar também que alguns dos sítios SSR genotipados estão sob seleção. Entretanto não se deve descartar a possibilidade de ocorrência de contaminação de pólen durante as autofecundações.

Há que se considerar que os dois grupos de linhagens diferem não apenas pelas frequências alélicas em cada loco, mas também pela ocorrência de alelos privados, ou seja, exclusivos de uma dada população (Tabela 9 e Figuras 2 a 7). Foram identificados 59 alelos privados, correspondendo a 50,4% do total de alelos amostrados, sendo 31 ocorrentes no grupo Dentado e 28 no Flintisa. A variação de frequência desses alelos foi de 0,025 a 0,588. Dentre os alelos privados 64,5% são raros (frequência < 0,05) nas linhagens Dentado e 50% nas linhagens Flintisa. A presença de alelos privados indica o surgimento de novas variações genéticas dentro da população, além de ser uma característica de germoplasma tropical. A alta incidência de alelos raros nas duas populações é explicada pelo fato de serem originadas de muitos parentais. Além deste fator, como os locos SSR costumam apresentar alta quantidade de alelos, é de se esperar que quanto maior a amostragem, maior a quantidade de alelos raros identificados (AZEVEDO, 2007). Há também que se considerar que estes alelos podem ser resultantes da seleção que está ocorrendo nos materiais, o que pode levar à deriva. A existência de alelos privados torna possível a detecção de regiões genômicas de um tipo específico de milho (PINTO et al., 2003).

Em relação à diversidade intrapopulacional verificou-se que a média de alelos por loco foi de 4,89 (DP=1,75) e 4,78 (DP=2,13) respectivamente para Dentado e Flintisa, com valores de riqueza alélica de 4,78 (DP=1,67) e 4,76 (DP=2,12).

Tabela 8 – Índices de diversidade genética para a amostra total de linhagens de milho oriundas dos compostos Dentado e Flintisa. N é o número de linhagens amostradas; k é o número total de alelos; R é a riqueza alélica nos locos; H_e é a heterozigosidade esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg; H_o é a heterozigosidade observada; f é o índice de fixação.

Locos	Amplitude alélica (pb)	N	k	R	H_e	H_o	f
phi064	66-100	38,0	6,0	5,65	0,76	0,03	0,97
umc1823	80-124	37,0	7,0	6,48	0,79	0,14	0,83
bnlg1138	154-198	38,0	4,0	3,67	0,55	0,05	0,91
phi453121	204-240	37,0	4,0	3,36	0,56	0,00	1,00
bnlg1108	110-138	40,0	4,0	3,19	0,55	0,08	0,86
phi072	112-142	40,0	5,0	4,96	0,76	0,03	0,97
bnlg2291	126-220	38,0	9,0	8,18	0,85	0,16	0,82
bnlg105	80-102	34,0	6,0	5,71	0,74	0,06	0,92
bnlg1346	128-188	37,0	9,0	7,34	0,81	0,11	0,87
phi126	108-188	37,0	9,0	8,02	0,85	0,14	0,84
phi299852	108-140	33,0	13,0	10,72	0,82	0,12	0,85
phi112	116-164	36,0	8,0	6,63	0,66	0,03	0,96
phi082	102-124	37,0	6,0	5,36	0,76	0,03	0,96
bnlg669	104-128	39,0	6,0	5,72	0,66	0,05	0,92
phi233376	130-148	39,0	5,0	3,97	0,51	0,00	1,00
bnlg127	176-200	37,0	5,0	4,36	0,54	0,00	1,00
bnlg128	146-190	36,0	8,0	7,05	0,81	0,00	1,00
phi059	122-136	35,0	3,0	2,92	0,56	0,00	1,00
Médias		37,1	6,5	5,74	0,70	0,06	0,92

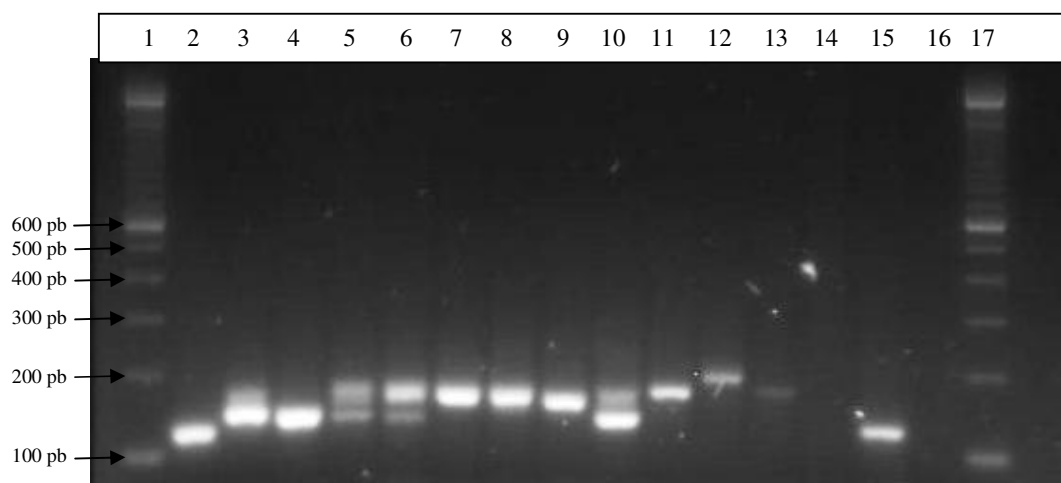


Figura 1 – Eletroferograma dos alelos microssatélites amplificados nas linhagens Dentado e Flintisa utilizando-se o iniciador phi299852. 1 – Marcador de tamanho molecular 100 pb; 2 – F16; 3 – D05; 4 – F10; 5 – F03; 6 – D03; 7 – D14; 8 – D16; 9 – D09; 10 – D13; 11 – D02; 12 – F01; 13 – F04; 14 – F13; 15 – F18; 16 – controle negativo; 17 – marcador 100 pb.

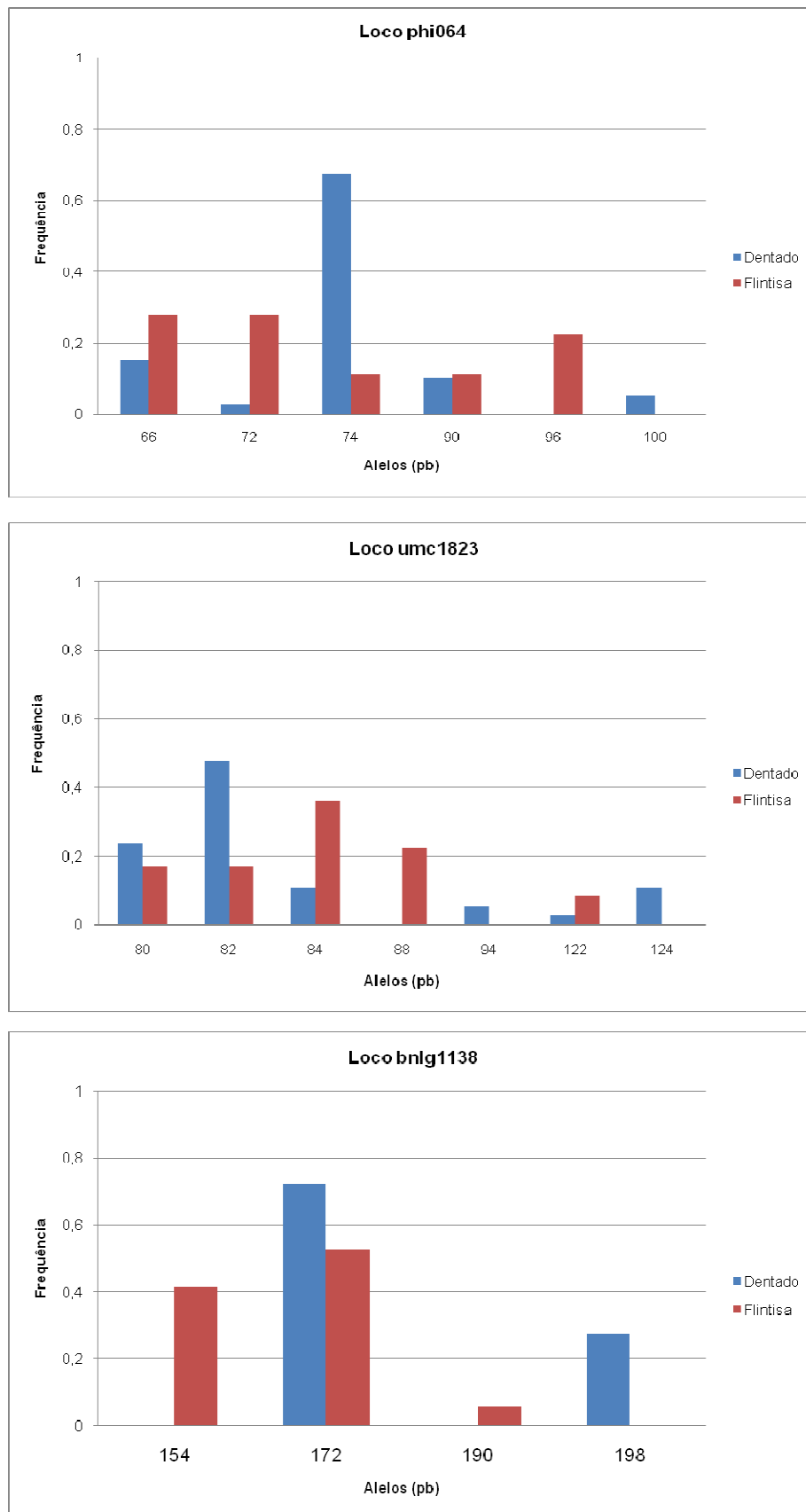


Figura 2 – Distribuição das frequências alélicas para os locos phi064, umc1823 e bnlg1138, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.

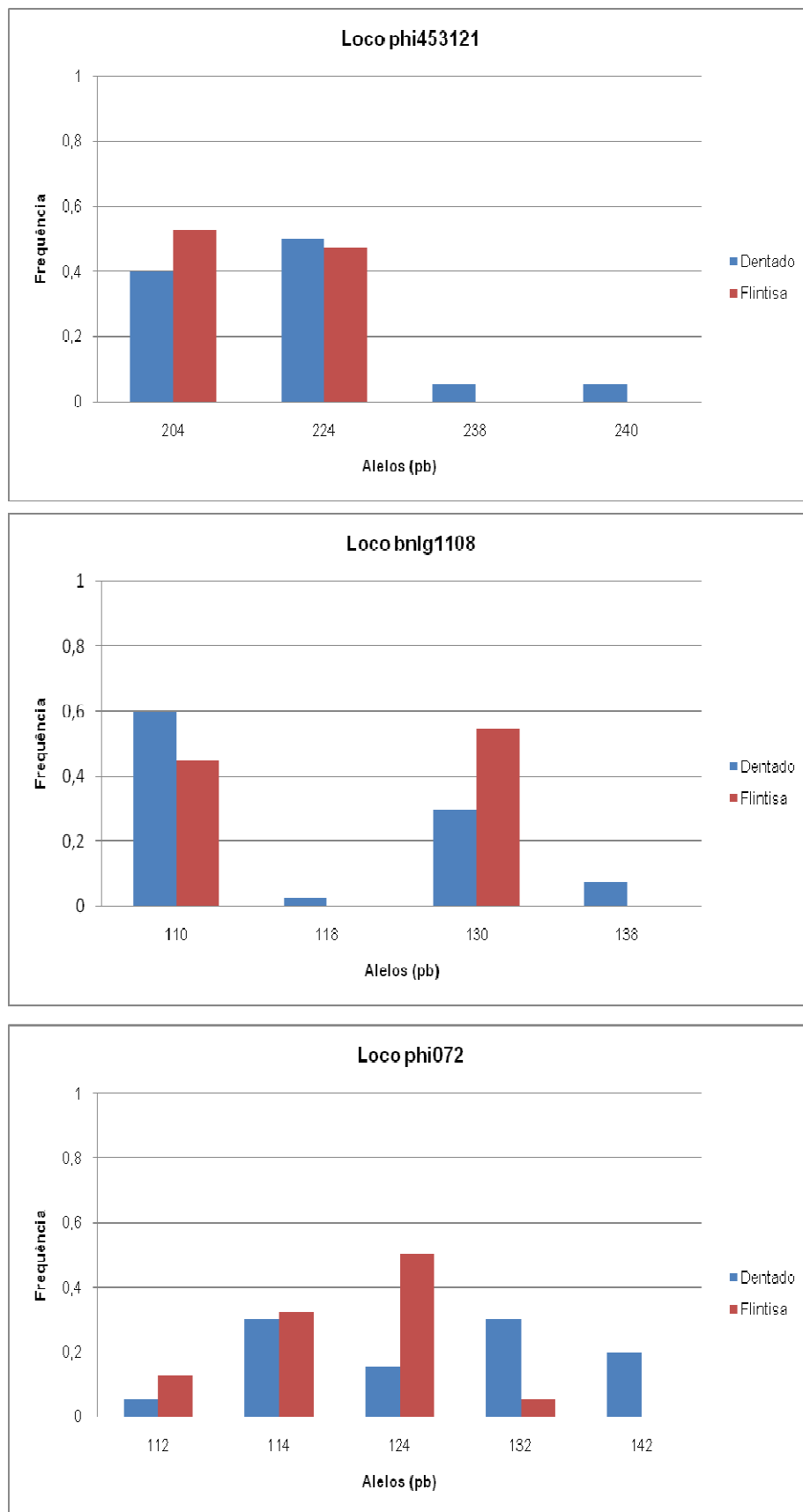


Figura 3 – Distribuição das frequências alélicas para os locos phi453121, bnlg1108 e phi072, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.

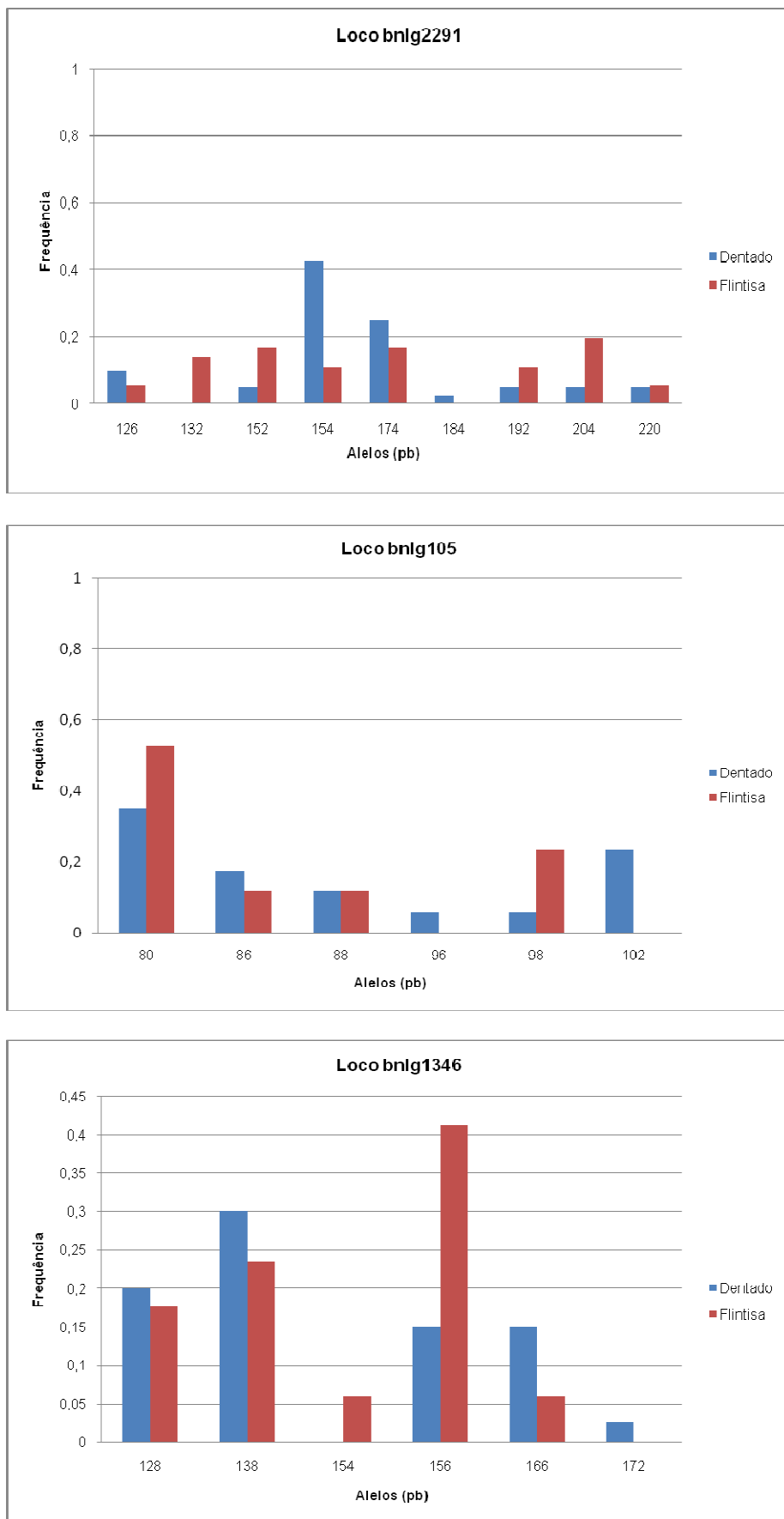


Figura 4 – Distribuição das frequências alélicas para os locos bnlg2291, bnlg105 e bnlg1346, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.

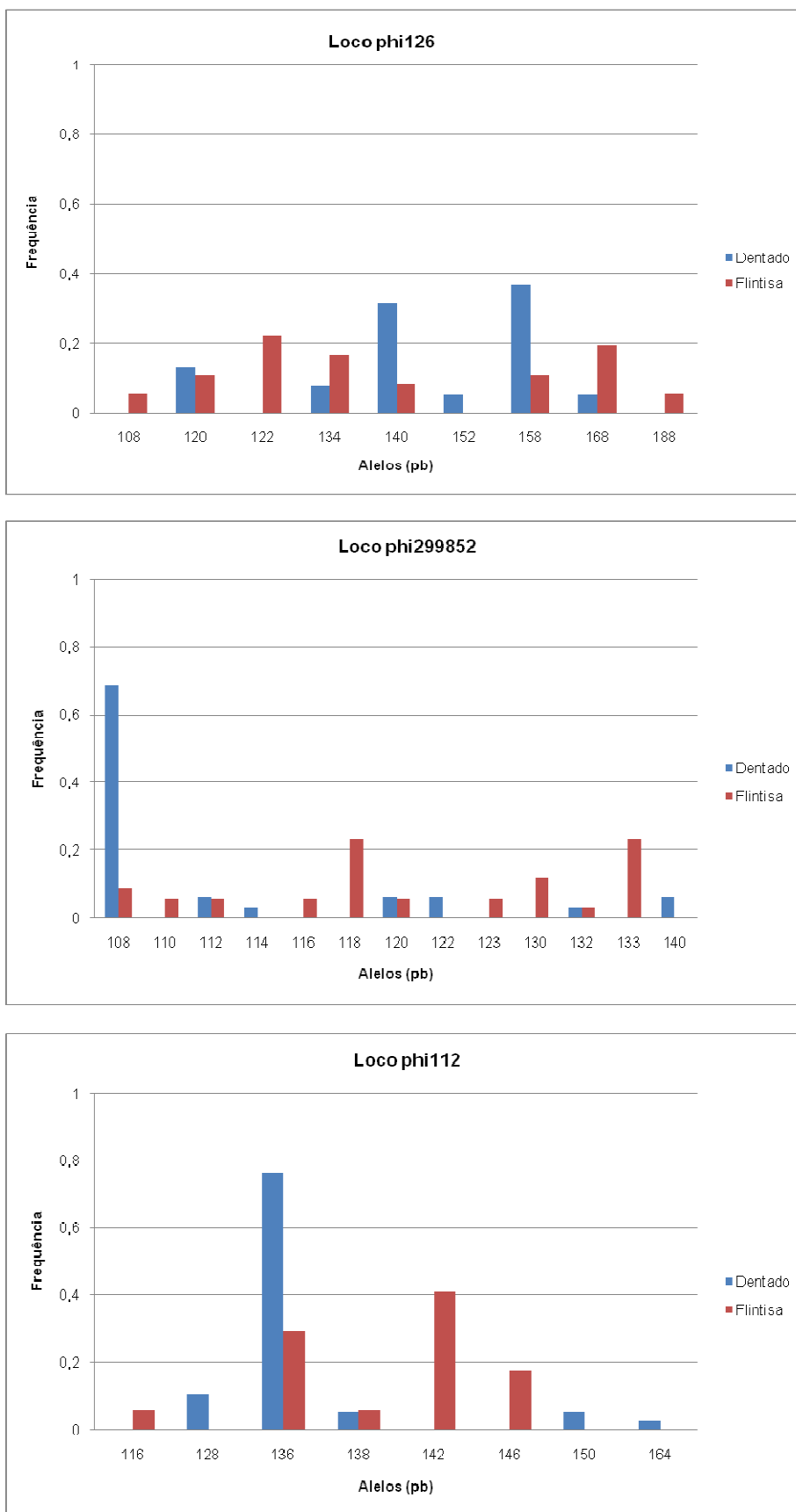


Figura 5 – Distribuição das frequências alélicas para os locos phi126, phi299852 e phi112, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.

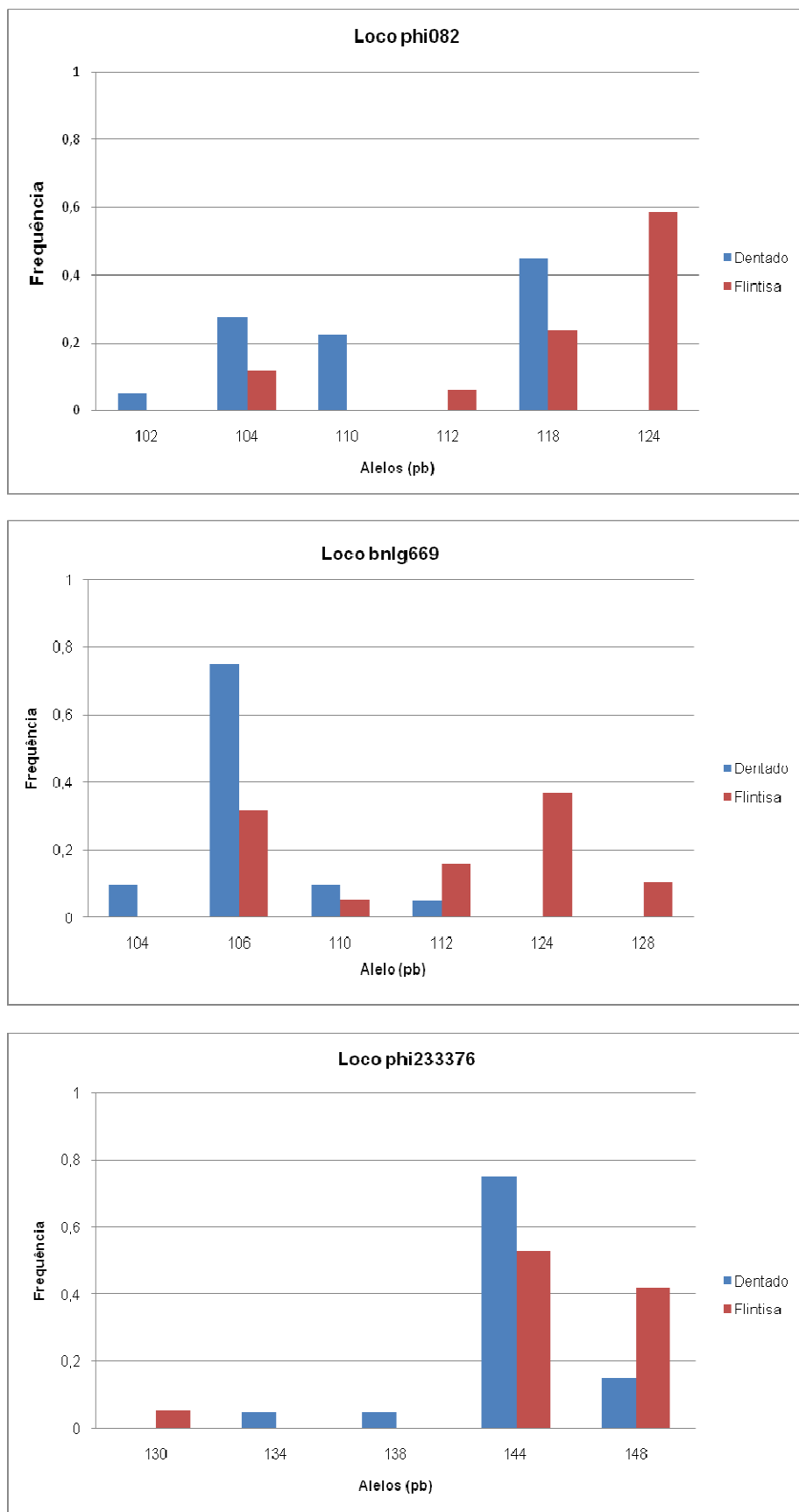


Figura 6 – Distribuição das frequências alélicas para os locos phi082, bnlg669 e phi233376, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.

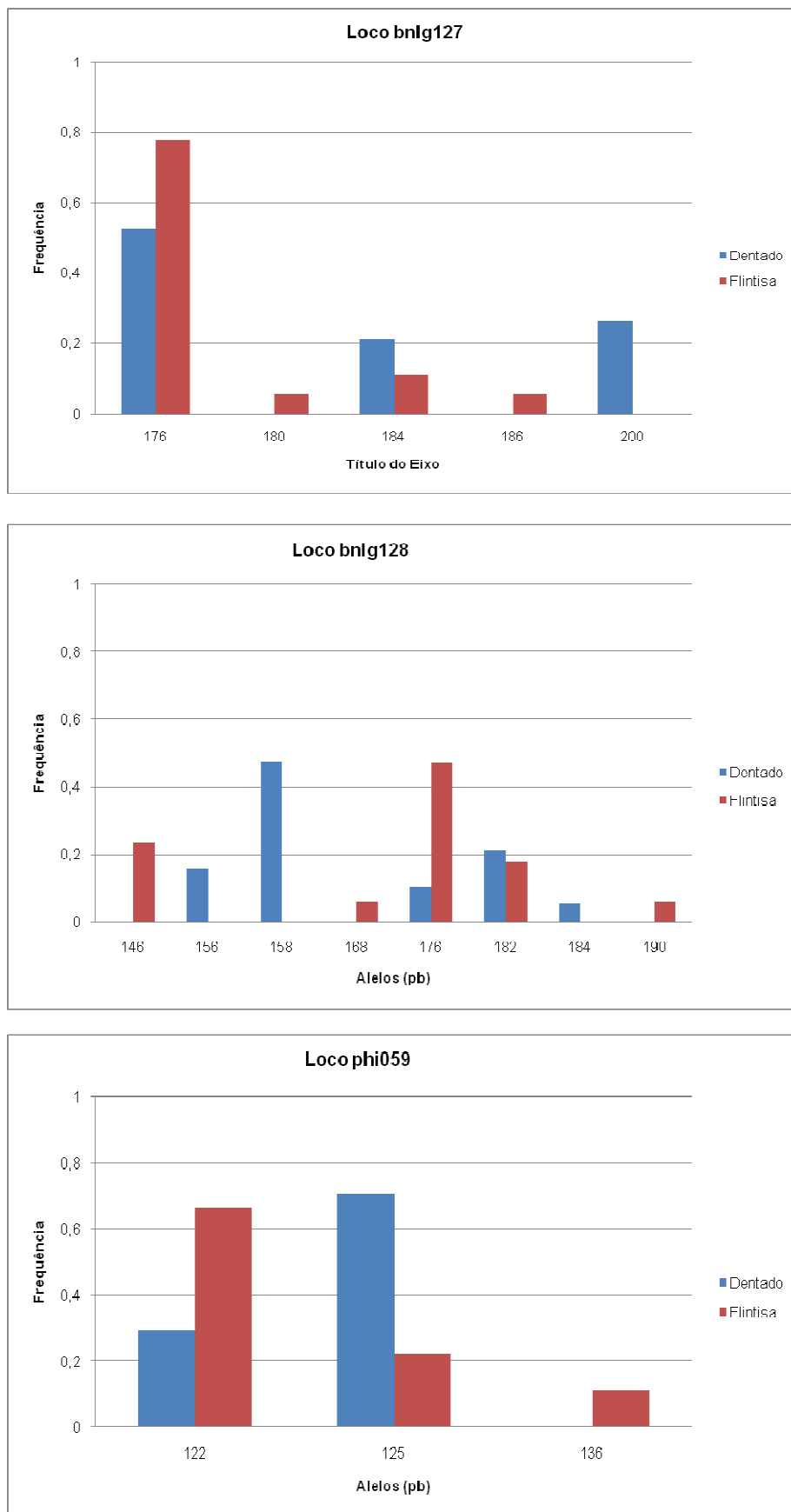


Figura 7 – Distribuição das frequências alélicas para os locos bnlG127, bnlG128 e phi059, analisados nas linhagens dos grupos Dentado e Flintisa.

Tabela 9 – Alelos privados nas linhagens Dentado e Flintisa e suas frequências (continua)

Locus SSR	Alelo (pb)	Frequência	População
phi064	96	0,222	Flintisa
	100	0,050	Dentado
umc1823	88	0,222	Flintisa
	94	0,053	Dentado
	124	0,105	Dentado
bnlg1138	154	0,417	Flintisa
	190	0,056	Flintisa
	198	0,275	Dentado
phi453121	238	0,050	Dentado
	240	0,050	Dentado
bnlg1108	118	0,025	Dentado
	138	0,075	Dentado
phi072	142	0,200	Dentado
bnlg2291	132	0,139	Flintisa
	184	0,025	Dentado
bnlg105	96	0,059	Dentado
	102	0,235	Dentado
bnlg1346	154	0,059	Flintisa
	172	0,025	Dentado
	178	0,025	Dentado
phi126	188	0,100	Dentado
	108	0,056	Flintisa
	122	0,222	Flintisa
	152	0,053	Dentado
phi299852	188	0,056	Flintisa
	114	0,031	Dentado
	110	0,059	Flintisa
	116	0,059	Flintisa
	118	0,235	Flintisa
	122	0,063	Dentado
	123	0,059	Flintisa
	130	0,118	Flintisa
phi112	133	0,235	Flintisa
	140	0,063	Dentado
	116	0,059	Flintisa
	128	0,105	Dentado
	142	0,412	Flintisa
	146	0,176	Flintisa
	150	0,053	Dentado
phi082	164	0,026	Dentado
	102	0,050	Dentado
phi082	110	0,225	Dentado
	112	0,059	Flintisa
	124	0,588	Flintisa

Tabela 9 – Alelos privados nas linhagens Dentado e Flintisa e suas frequências (conclusão).

Locus SSR	Alelo (pb)	Frequência	População
bnlg669	104	0,100	Dentado
	124	0,368	Flintisa
phi233376	128	0,105	Flintisa
	134	0,050	Dentado
	130	0,053	Flintisa
bnlg127	138	0,050	Dentado
	180	0,059	Flintisa
	186	0,056	Flintisa
bnlg128	200	0,263	Dentado
	156	0,158	Dentado
	158	0,474	Dentado
	168	0,059	Flintisa
phi059	184	0,053	Dentado
	190	0,059	Flintisa
	136	0,111	Flintisa

5.4 Distância genética e alocação em grupos heteróticos

As distâncias genéticas (DG) entre as linhagens Dentado e Flintisa estão expressas na Tabela 10. A amplitude de variação de DG esteve entre 0,4 e 1,0. Destaca-se o fato de que estes valores foram encontrados apenas para as linhagens F02 e F06, em relação às linhagens do Dentado. Estas linhagens apresentaram alguns locos com alelos nulos, o que pode ter influenciado as estimativas de DG. Alelos nulos podem afetar as análises de estrutura e diversidade genética, caso a frequência dos mesmos seja alta. Isso não ocorreu nas populações estudadas, de forma que pode-se esperar poucos efeitos sobre estimativas de diversidade.

O dendrograma (Figura 8) gerado pela análise de agrupamento das linhagens em função de suas distâncias genéticas, evidenciou a formação de quatro grupos heteróticos nomeados de GI, GII, GIII e GIV. Os grupos GI e GII abrigaram o maior número de linhagens (14 em cada um) seguidos pelo GIII com 8 linhagens e GIV com 4 linhagens. O grupo heterótico GI abrigou quase que exclusivamente linhagens oriundas do composto Dentado (93% - 13/14). As linhagens Flintisa ficaram alocadas com maior predominância nos grupos GII, GIII e GIV nas proporções de 57% (8/14), 100% (8/8) e 75% (3/4), respectivamente.

A menor distância genética entre linhagens dentro do mesmo grupo foi observada para o GII (Figura 8), que é o grupo heterótico com presença quase equifrequente de linhagens Dentado e Flintisa. Esses resultados indicam que, nos diferentes locos estudados, há um compartilhamento de alelos entre os dois grupos de linhagens e, como consequência, há a probabilidade de que ao se cruzar linhagens interpopulacionais Flintisa x Dentado, sejam produzidos híbridos que apresentem um número de locos heterozigóticos inferior ao que se esperaria nos cruzamentos de linhagens altamente contrastantes. Consequentemente o desempenho desses híbridos pode ficar aquém do desejado, pois a heterose poderá ser menor.

O germoplasma brasileiro teve origem de uma ampla base genética, o que pode explicar a presença de um grupo contendo linhagens das duas populações. Este fator pode ocasionar a falta de correlação entre os dados moleculares e de *pedigree*. Marcadores moleculares capazes de identificar níveis maiores de polimorfismos, como os SSR, são mais eficientes no estudo da real variabilidade genética entre genótipos e também na distinção destes para fins de melhoramento. O alto nível de polimorfismos não é ideal na análise de

pedigree, uma vez que alelos múltiplos podem ser gerados devido a eventos de *slipage* (LIMA et al. 2002, LABORDA et al. 2005). Esta divergência entre o dendrograma e os dados de pedigree indica a possibilidade de o germoplasma tropical não se comportar como o temperado e a necessidade de aprofundamento dos conhecimentos a respeito do germoplasma brasileiro.

5.5 Correlação do desempenho dos híbridos com distância genética das linhagens parentais

Os resultados obtidos na avaliação dos híbridos observados e preditos e a correlação entre a distância genética e a média destes híbridos estão expressos na Tabela 11. Para FF, CS, AC, QB, ED, PR e GA a correlação foi negativa, enquanto que para AP, AE, NG, PB e RG esta correlação foi positiva. Paiva (2002) também encontrou correlação negativa entre DG dos progenitores e desempenho de híbridos de melão para os caracteres número de frutos por planta e a densidade do fruto. O autor sugere que a ineficiência da predição do caráter pode ser atribuída aos efeitos genéticos não aditivos. Parentoni et al. (2001), ao realizarem um dialelo envolvendo 28 populações de polinização aberta, obtiveram baixa correlação, porém positiva (0,16), entre as divergências por marcadores e as CEC.

As correlações foram significativas para os caracteres AP, AC, ED, PR e GA, porém de baixa magnitude, o que indica a ineficiência da identificação de bons híbridos pela distância genética baseada nos marcadores SSR. Paterniani et al. (2008), Barbosa et al. (2003) consideram que a predição do desempenho de híbridos tem maior sucesso quando se empregam cruzamentos intrapopulacionais. A baixa correlação da distância genética (DG) das linhagens com o desempenho dos híbridos interpopulacionais pode ser decorrente da menor variação da distância genética (PATERNIANI et al., 2008). Altas estimativas para a divergência genética entre os genitores não implica necessariamente na expressão de altos valores para a CEC ou para a heterose. Assim, não é possível fazer inferências sobre a heterose a partir da divergência genética entre os genitores envolvidos (MELO et al., 2001). Resultados semelhantes foram obtidos por Guimarães et al. (2007), que correlacionaram a distância genética entre linhagens com a heterose de híbridos de milho. O estudo mostrou que

a correlação entre rendimento de grãos e distância genética foi positiva, porém não significativa. Lorencetti et al. (2006) também não encontraram correlação significativa entre dissimilaridade genética, obtida por marcadores AFLP, e desempenho de híbridos de aveia.

A principal justificativa para correlações reduzidas entre as distâncias medidas com auxílio de marcadores e o desempenho dos híbridos, tem sido a provável utilização de marcadores não associados geneticamente com regiões cromossômicas responsáveis pela manifestação da heterose (CHARCOSSET et al. 1991). Dessa forma, a escolha dos marcadores adequados é uma etapa de extrema importância nestes estudos. Segundo Bernardo (1992), para uma efetiva predição do desempenho de híbridos, utilizando marcadores moleculares, deve-se respeitar as condições de forte efeito de dominância, alta herdabilidade e ligação entre os marcadores moleculares e QTLs.

Conforme exposto anteriormente, os marcadores moleculares têm maior acurácia em prever o desempenho (heterose e capacidade específica de combinação) dos híbridos e das divergências entre cruzamentos de linhagens do mesmo grupo heterótico do que entre cruzamentos de linhagens de grupos opostos. Como relatado por Moll et al. (1965), avaliando a heterose em relação à diversidade dos parentais, a heterose foi máxima até um determinado nível de diversidade, a partir do qual ocorreu uma queda na sua expressão.

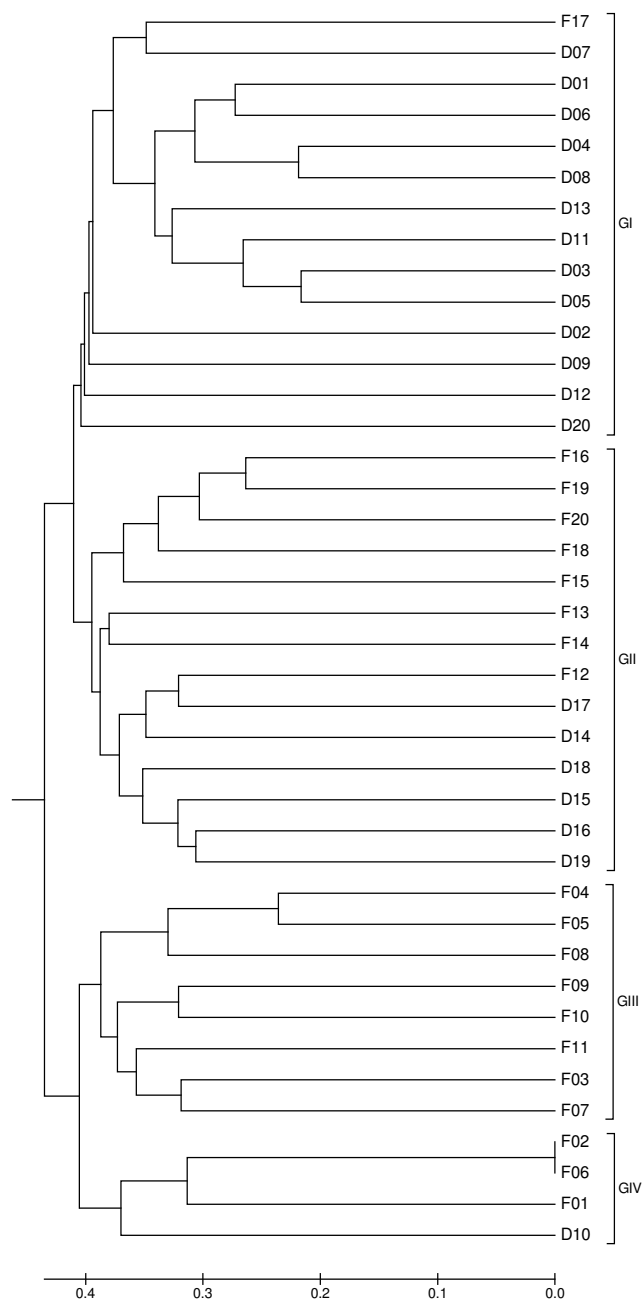
Charcosset e Essioux (1994) relataram que a condição necessária para haver correlação entre heterozigidade e heterose é o desequilíbrio de ligação entre os marcadores e os locos relacionados à heterose. Os autores relatam ainda que dentro dos grupos heteróticos, correlações significativas surgem em função do desequilíbrio de ligação gerado por deriva genética. Entre grupos heteróticos, não são esperadas correlações significativas sem a ocorrência de desequilíbrio de ligação entre os genitores.

Mohammadi et al. (2002) relatam que a maioria dos QTLs para rendimento e seus componentes tem efeito sobredominante. Guimarães et al. (2007) reportam que a baixa correlação encontrada em seu estudo se deve aos fatos de os marcadores utilizados não estarem associados a QTLs e o rendimento de grãos ser um caráter de baixa herdabilidade.

A literatura traz enorme quantidade de análises sobre o milho de clima temperado, as quais praticamente saturam questões sobre a diversidade dessa classe de germoplasma (SIBOV et al. 2003). Todavia, o milho tropical, dispersor originário da variabilidade em todo o mundo, ainda não tem consolidada a classificação de suas reservas genéticas.

Tabela 10 – Distâncias genéticas entre as linhagens das populações Dentado e Flintisa, computadas a partir de dados SSR.

Linhagens	D01	D02	D03	D04	D05	D06	D07	D08	D09	D10	D11	D12	D13	D14	D15	D16	D17	D18	D19	D20
F01	0.86	0.72	0.70	0.70	0.68	0.61	0.62	0.81	0.82	0.54	0.67	0.85	0.65	0.75	0.80	0.75	0.72	0.88	0.87	0.64
F02	0.97	0.60	0.80	0.80	0.80	0.60	0.60	1.00	0.80	0.40	0.60	0.80	0.60	1.00	0.80	0.80	0.60	0.80	0.75	0.60
F03	0.68	0.74	0.78	0.91	0.74	0.82	0.77	0.86	0.82	0.81	0.87	0.78	0.83	0.72	0.81	0.81	0.72	0.78	0.81	0.68
F04	0.86	0.74	0.71	0.87	0.78	0.79	0.83	0.88	0.75	0.73	0.91	0.88	0.87	0.94	0.87	0.89	0.78	0.88	0.69	0.71
F05	0.92	0.80	0.84	0.93	0.78	0.81	0.79	0.99	0.81	0.73	0.87	0.88	0.81	0.89	0.87	0.83	0.73	0.82	0.75	0.71
F06	0.79	0.80	0.77	1.00	0.83	0.67	0.67	1.00	0.80	0.75	1.00	0.98	0.81	1.00	0.98	0.67	0.62	0.83	0.67	0.81
F07	0.85	0.85	0.85	0.96	0.81	0.92	0.70	0.87	0.93	0.77	0.90	0.75	0.80	0.75	0.86	0.81	0.64	0.87	0.79	0.59
F08	0.88	0.57	0.77	0.72	0.69	0.86	0.86	0.87	0.79	0.79	0.80	0.80	0.61	0.75	0.80	0.88	0.84	0.93	1.00	0.67
F09	0.78	0.91	0.86	0.87	0.78	0.96	0.92	0.94	0.94	0.93	0.87	0.71	0.74	0.72	0.80	0.83	0.76	0.71	0.81	0.80
F10	0.64	0.84	0.67	0.71	0.65	0.77	0.68	0.79	0.75	0.80	0.74	0.70	0.62	0.59	0.82	0.71	0.54	0.50	0.67	0.68
F11	0.78	0.78	0.73	0.71	0.61	0.71	0.87	0.83	0.75	0.73	0.76	0.71	0.62	0.67	0.74	0.83	0.74	0.76	0.75	0.63
F12	0.60	0.83	0.72	0.77	0.71	0.65	0.60	0.82	0.93	0.57	0.80	0.76	0.72	0.53	0.79	0.53	0.45	0.69	0.53	0.79
F13	0.59	0.82	0.64	0.58	0.58	0.70	0.77	0.63	0.86	0.85	0.59	0.69	0.54	0.58	0.60	0.62	0.67	0.59	0.66	0.78
F14	0.68	0.84	0.73	0.71	0.65	0.65	0.68	0.79	0.69	0.80	0.78	0.76	0.74	0.71	0.70	0.59	0.54	0.56	0.53	0.76
F15	0.64	0.92	0.72	0.73	0.82	0.71	0.67	0.76	0.94	0.79	0.78	0.93	0.68	0.71	0.75	0.53	0.59	0.75	0.60	0.79
F16	0.66	0.93	0.61	0.71	0.61	0.73	0.57	0.66	0.88	0.80	0.64	0.77	0.64	0.61	0.63	0.56	0.64	0.53	0.56	0.71
F17	0.64	0.79	0.62	0.56	0.65	0.56	0.52	0.58	0.73	0.86	0.87	0.79	0.66	0.76	0.85	0.65	0.67	0.81	0.53	0.75
F18	0.68	0.99	0.67	0.73	0.61	0.67	0.76	0.77	0.81	0.80	0.64	0.81	0.68	0.78	0.71	0.67	0.69	0.53	0.63	0.71
F19	0.60	0.87	0.55	0.59	0.61	0.65	0.55	0.60	0.81	0.93	0.64	0.71	0.59	0.61	0.65	0.50	0.64	0.53	0.50	0.71
F20	0.59	0.85	0.68	0.68	0.68	0.68	0.63	0.79	0.90	0.89	0.84	0.76	0.63	0.68	0.72	0.56	0.59	0.66	0.59	0.72



	GI	GII	GIII	GIV
GI	0,739			
GII	0,820	0,579		
GIII	0,877	0,871	0,756	
GIV	0,843	0,880	0,811	0,735

Figura 8 - Dendrograma das linhagens de milho das populações Dentado e Flintisa, gerado a partir da distância de Rogers (1972), pelo método de UPGMA. (GI, GII, GIII e GIV – grupos heteróticos e as distâncias genéticas médias entre e dentro dos grupos).

Tabela 11 – Intervalo de variação entre os híbridos, médias e correlação com distâncias genéticas (DG) de 400 híbridos de milho (observados e preditos), para 12 caracteres.

Caracteres	Intervalo de variação	Média	Correlação com DG	Probabilidade >P (teste F)
Florescimento feminino (dias)	53,7 – 62,7	59,5	-0,0127	0,8
Altura de planta (m)	1,64 – 2,49	2,09	0,14067	0,0045
Altura de espiga (m)	0,85 – 1,56	1,20	0,057573	0,2322
Corn stunt (%)	2,0 – 40,0	17,5	-0,07613	0,1285
Nota geral doenças foliares	2,2 – 5,0	3,3	0,067351	0,1788
Nota pinta branca	2,0 – 5,0	3,3	0,067351	0,1788
Acamamento (%)	0 – 36,15	8,6	-0,12045	0,0159
Quebra (%)	0 – 32,31	6,4	-0,00303	0,9518
Espigas doentes (%)	12,4 – 92,1	53,4	-0,09859	0,0488
Prolificidade	0,5 – 1,97	0,95	-0,14508	0,0036
Nota grãos ardidos	3,9- 5,0	4,8	-0,14286	0,0042
Rendimento (t/ha)	3,17 – 7,79	5,45	0,088639	0,0574

6 CONCLUSÕES

Existe diversidade genética nos dois grupos de linhagens, Dentado e Flintisa, o que as qualifica para emprego na obtenção de híbridos. Houve a produção de híbridos com desempenhos superiores ao da testemunha, tornando-os candidatos a avaliações em diversos ambientes, visando possível uso comercial.

A separação das linhagens em grupos heteróticos, indicou uma divergência entre os grupos obtidos por meio de marcadores moleculares, mas nem sempre concordantes com os dados de *pedigree*. A alocação de linhagens de diferentes origens (Dentado ou Flintisa) em um mesmo grupo heterótico é um indicativo do compartilhamento de alelos entre essas populações. Entretanto, a alta incidência de alelos privados indica que as populações também possuem pools gênicos exclusivos.

As correlações entre o desempenho de híbridos e a distância genética de linhagens não foram altas, indicando que altos níveis de DG entre linhagens parentais é condição necessária, mas não suficiente para que seus híbridos exibam as melhores desempenhos. Os baixos valores de correlações encontrados podem ser explicados pelo fato da maioria dos caracteres ser de baixa herdabilidade (exceto AP e AE) e a possível ausência de ligação entre os marcadores e os locos que controlam esses caracteres. Embora tenham sido baixas, essas correlações foram significativas para AP, AC, ED, PR e GA.

Estes resultados indicam a necessidade de mais estudos a respeito do germoplasmas brasileiro e tropical, que têm demonstrado comportamento diferente do germoplasma temperado.

7 REFERÊNCIAS

AJMONE-MARSAN, P.; CASTIGLIONI, P.; FUSARI, P.; 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, 1998.

ANDRADE, J. A. C. **Formação de um composto de milho (*Zea mays* L.)**. Ilha Solteira: Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, 1992. p. 15 (Relatório de Pesquisa FEIS/UNESP).

ANDRADE, J. A. C. **Dialelo parcial circulante interpopulacional em milho (*Zea mays* L.) com dois níveis de endogamia dos parentais**. 1995. 134 f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

ANDRADE, J. A. C.; MIRANDA FILHO, J. B. Quantitative variation in the tropical maize population, ESALQ-PB1. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 2, p. 174-182, 2008.

ANUÁRIO brasileiro do milho 2008. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2008. 128 p. Disponível em: <<http://www.anuarios.com.br>>. Acesso em: 21 jul. 2009.

ARAÚJO, P. M; PATERNIANI, E. Aspectos gerais de plantas alógamas. In: DESTRO, D.; MONTALVÁN, R. (Org.). **Melhoramento genético de plantas**. Londrina: UEL, 1999. 820p.

ARAÚJO, P. M. **Dialelo parcial circulante interpopulacional e cruzamentos “top-crosses” na avaliação de linhagens parcialmente endogâmicas de milho (*Zea mays* L.)**. 2000. 170 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

AZEVEDO, V. C. R. **Desenvolvimento e aplicações de microssatélites, análise de cpDNA**

e modelagem computacional para estudos da estrutura e dinâmica genética de maçaranduba – *Manilkara huberi* (Ducke) Chev. Sapotaceae. 2007. 202 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

BARATA, C.; CARENA, M. J. Classification of North Dakota maize inbred lines into heterotic groups based on molecular and testcross data. **Euphytica**, Wageningen, v. 151, n. 3, p. 339-349, 2006.

BARBOSA, A. M. M.; GERALDI, I. O.; BENCHIMOL, L. L.; GARCIA, A. A. F.; SOUZA JÚNIOR, 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. 130, n. 1, p. 87-99, 2003.

BENCHIMOL, L. L.; SOUZA JÚNIOR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; KONO, P. M. S.; MANGOLIN, C. A.; BARBOSA, A. M. M.; COELHO, A. S. G.; SOUSA, 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, 2000.

BERNARDO, R. Relationship between single-cross performance and molecular marker heterozygosity. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 83, n. 5, p. 628-634, 1992.

BERNARDO, R.; ROMERO-SEVERSON, J.; ZIEGLE, J.; HAUSER, J.; JOE, L.; HOOKSTRA, G.; DOERGE, R. W. Parental contribution and coefficient of coancestry among maize inbreds: pedigree, RFLP, and SSR data. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 3-4, p. 552-556, 2000.

BETRÁN, F. J.; RIBAUTB, J. M.; BECKB, 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, 2003.

BOPPENMAIER, J.; MELCHINGER, A. E.; BRUNKLAUS-JUNG, E.; GEIGER, H. H.; HERRMANN, R. G. Genetic diversity for RFLP in european maize inbreds: relation to performance of flint x dent crosses for forage traits. **Crop Science**, Madison, v. 32, n. 4, p. 895-902, 1992.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. Marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2005. p. 441-463.

BURSTIN, J.; VIENNE, D.; DUBREUIL, P.; DAMERVAL, C. Molecular markers and protein quantities as genetic descriptors in maize. I. Genetic diversity among 21 inbred lines. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 89, n. 7-8, p. 943-950, 1994.

BURSTIN, J.; CHARCOSSET, A.; BARRIERE, Y.; HERBERT, Y.; VIENNE, D.; DAMERVAL, C. Molecular markers and protein quantities as genetic descriptors in maize. II. Prediction of performance of hybrids for forage traits. **Plant Breeding**, Berlin, v. 114, n. 5, p. 427-433, 1995.

BUSO, G. S. C.; CIAMPI, A. Y.; MORETZSOHN, M. C.; AMARAL, Z. P. S.; BRONDANI, R. V. Marcadores microssatélites em espécies vegetais. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 46-50, 2003.

CHARCOSSET, A.; LEFORT-BUSON, M.; GALLAIS, A. Relationship between heterosis and heterozygosity at marker loci: a theoretical computation. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 81, n. 5, p. 571-575, 1991.

CHARCOSSET, A.; ESSIUX, L. The effect of population-structure on the relationship between heterosis and heterozygosity at marker loci. **Theoretical and Applied Biotechnology**, Berlin, v. 89, n. 2-3, p. 336-343, 1994.

CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA- CIB. **Guia do milho 2009:**

tecnologia do campo à mesa. [S.l.: s.n.], 2009. Disponível em: <<http://www.cib.org.br>>. Acesso em: 21 jul. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos, sexto levantamento, março/2009. Brasília: CONAB, 2009. 39p. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/6graos_08.09.pdf> Acesso em: 16 mar. 2009.

CRUZ, C. D. **Programa GENES**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 1997. 442p.

DANDOLINI, T. S.; SCAPIM, C. A.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; MANGOLIN, C. A.; MACHADO, M. F. P. S.; MOTT, A. S.; LOPES, A. D. Genetic divergence in popcorn lines detected by microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 8, n. 4, p. 313-320, 2008.

DAVIS, R. L. Report of the plant breeder. **Report Puerto Rico Agricultural Experiment Station**, Mayaguez, v. 3, n. 1, p. 14-15, 1927.

DEMATTE, J. L. I. **Levantamento detalhado dos solos do Campus experimental de Ilha Solteira**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1980. 114p. (mimeografado).

DIAS, L. A. dos S.; PICOLI, E. A. T.; ROCHA, R. B.; ALFENAS, A. C. A priori choice of hybrid parents in plants. **Genetic and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 3, n. 3, p. 356-368, 2004.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, New York, v. 12, n. 3, p. 13-15, 1990.

DRINIC, S. M.; TRIFUNOVIC, S.; DRINIC, G.; KONSTANTINOV, K. Genetic divergence

and its correlation with heterosis in maize as revealed by SSR-based markers. **Maydica**, Bergamo, v. 47, n. 1, p. 1-8, 2002.

DUDLEY, J. W.; SAGHAI MAROOF, M. A.; RUFENER, G. K. Molecular marker information and selection of parents in corn breeding programs. **Crop Science**, Madison, v. 32, n. 2, p. 301-304, 1992.

EAST, E. M. The distinction between development and heredity in inbreeding. **American Naturalist**, Lancaster, v. 43, n. 1, p. 173-181, 1909.

ELLEGREN, H. Microsatellites: Simple sequences with complex evolution. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 5, n. 6, p. 435-445, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CNPQ, 1999. 412p.

FALCONER, D. S. **Introduction to quantitative genetics**. 2.ed. London: Longman, 1981. 365 p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. p. 97-146.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2. ed. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1996. 220 p.

FLINT-GARCIA, S. A.; McMULLEN, M. D.; DARRAH, L. L. Genetic relationship of stalk strength and ear height in maize. **Crop Science**, Madison, v. 43, n. 1, p. 23-31, 2003.

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, 1986.

FUZZATO, S. R. **Dialelo parcial circulante interpopulacional em milho (*Zea mays* L.): Efeito do número (s) de cruzamentos**. 2003. 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

GALVÃO, J. D.; PATERNIANI, E. Comportamento do milho Piranão (braquítico-2) e de milhos de porte normal em diferentes níveis de nitrogênio e populações de plantas. **Experientiae**, Viçosa, v. 20, n. 3, p. 17-52, 1975.

GARCIA, A. A. F.; BENCHIMOL, L. L.; BARBOSA, A. M. M.; GERALDI, I. O.; SOUZA JÚNIOR, C. L.; SOUZA, A. P. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 27, n. 4, p. 579-588, 2004.

GOLDSTEIN, B. D.; SCHLOTTERER, C. **Microsatellites: evolution and applications**. Oxford: Oxford University Press, 2001. 352 p.

GONÇALVES, P. S. **Esquema circulante de cruzamentos para avaliação de linhagens de milho (*Zea mays* L.) ao nível interpopulacional**. 1987. 140 f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.

GOUDET, J. **F_{STAT}**: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. [S.l.: s.n.], 2002. Disponível em: <<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>>. Acesso em: 27 ago. 2008.

GUIMARÃES, P. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; LÜDERS, R. R.; SOUZA, A. P.; LABORDA, P. R.; OLIVEIRA, K. M. Correlação de heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Piracicaba, v. 42, n. 6, p. 811-816, 2007.

GUPTA, P. K.; BALYAN, H. S.; SHARMA, P. C.; RAMESH, B. Microsatellites in plants: a new class of molecular markers. **Current Science**, Bangalore, v. 70, n. 1, p. 45-54, 1996.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2.ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468p.

HALLAUER, A. R. Methods used in developing maize inbreds. **Maydica**, Bergamo, v. 35, n. 3, p. 1-16, 1990.

HEDRICK, P. W. Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. **Evolution**, Berkeley, v. 53, n. 2, p. 313-318, 1999.

JENKINS, M. T.; BRUNSON, A. M. Methods of testing inbred lines of maize in crossbred combinations. **Journal of American Society of Agronomy**, Madison, v. 24, n. 2, p. 523-530, 1932.

JENKINS, M. T. Methods of estimating the performance of double crosses in corn. **Journal of American Society of Agronomy**, Madison, v. 26, n. 1, p. 199-204, 1934.

JONES, D. F. The effects of inbreeding and cross breeding upon development. **Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin**, New Haven, v. 207, n. 4, p. 5-100, 1918.

JONES, D. F. The productiveness of single and double-cross first generation hybrid. **Journal of American Society of Agronomy**, Madison, v. 14, n. 3, p. 241-252, 1922.

KASHI, Y.; KING, D.; SOLLER, M. Simple Sequence Repeats as a source of quantitative genetic variation. **Trends in Genetics**, London, v. 13, n. 2, p. 74-78, 1997.

KEMPTHORNE, O.; CURNOW, R. N. The partial diallel crosses. **Biometrics**, Raleigh, v. 17, n. 2, p. 229-250, 1961.

LABORDA, P. R.; OLIVEIRA, K. M.; GARCIA, A. A. F.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; SOUZA, A. P. Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 111, n. 7, p. 1288-1299, 2005.

LANZA, L. L.; SOUZA JÚNIOR, 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, 1997.

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. 1607-1071, 1989.

LEGESSE, B. W.; MYBURG, A. A.; PIXLEY, K. V., TWUMASI-AFRIYIE, S., BOTHA, A. M. Relationship between hybrid performance and AFLP based genetic distance in highland maize inbred lines. **Euphytica**, Wageningen, v. 162, n. 3, p. 313-323, 2007.

LEVINSON, G.; GUTMAN, G. A. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 4, n. 3, p. 203-221, 1987.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic data analysis**: computer program for the analysis of allelic data. [S.l.: s.n.], 2001. (Free program distributed by the authors over the internet from). Disponível em: <<http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>>. Acesso em: 27 ago. 2008

LIMA, M. L. A.; GARCIA, A. A. F.; OLIVEIRA, K. M.; MATSUOKA, S.; ARIZONO, H.; SOUZA JR, C. L.; SOUZA, A. P. Analysis of genetic similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugar cane (*Saccharum* spp.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 140, n. 1, p. 30-38, 2002.

LIU, K.; GOODMAN, M.; MUSE, S.; SMITH, J. S.; BUCKLER, E.; DOEBLEY, J. Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellite. **Genetics**, Baltimore, v. 165, n. 4, p. 2117-2128, 2003.

LIVINI, C.; AJMONE-MARSAN, P.; MELCHINGER, A. E.; MESSMER, M. M.; MOTTO, M. Genetic diversity of maize inbred lines within and among heterotic groups revealed by RFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 84, n. 1-2, p. 17-25, 1992.

LORENCETTI, C.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; VALÉRIO, I. P.; BENIN, G.; ZIMMER, P. D.; VIEIRA, E. A. Distância genética e sua associação com heterose e desempenho de híbridos em aveia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Piracicaba, v. 41, n. 4, p. 591-598, 2006.

MELO, W. M. C.; PINHO, R. G. V.; FERREIRA, D. F. Capacidade combinatória e divergência genética em híbridos comerciais de milho. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 821-830, 2001.

MILLER, M. **Tools for population genetic analysis - TFPGA**. Northern Arizona: Northern Arizona University, 1997. 127 p.

MIRANDA FILHO, J. B.; VENCOVSKY, R. The partial circulant diallel cross at interpopulation level. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 2, p. 249-55, 1999.

MOHAMMADI, S. A.; PRASANNA, B. M.; CHARU, S.; SINGH, N. N. A microsatellite marker based study of chromosomal regions and gene effects on yield and yield components in maize. **Cellular & Molecular Biology Letters**, London, v. 7, n. 2A, p. 599-606, 2002.

MOHAN, M.; NAIR, S.; BHAGWAT, A.; KRISHNA, T. G.; YANO, M.; BHATIA, C. R.; SASAKI, T. Genome mapping, molecular markers and marked-assisted selection in crop plants. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 3, n. 2, p. 87-103, 1997.

MOLL, R. H.; LONNQUIST, J.; VÉLEZ, F.; JOHNSON, E. C. The relationship of heterosis and genetic distance in maize. **Genetics**, Baltimore, v. 52, n. 1, p. 139-144, 1965.

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

MUNN, R.H.; DUDLEY, J.W. A classification of 148 US maize inbreds: cluster analysis of RFLPs. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 4, p. 842-851, 1994.

OLIVEIRA, K. M.; LABORDA, P. R.; GARCIA, A. A. F.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; SOUZA, A. P. Evaluating genetic relationships between tropical maize inbred lines by means of AFLP profiling. **Hereditas**, Lund, v. 140, n. 1, p. 24-33, 2004.

PAIVA, W. O. Divergência genética entre linhagens de melão e a heterose de seus híbridos. **Horticultura brasileira**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 34-37, 2002.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M. S. Melhoramento do milho. In: BORÉM, A. (Ed.) **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Viçosa- MG: UFV, 2005. 969 p.

PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; GUIMARÃES, O. S.; LÜDERS, R. R.; GALLO, P. B.; SOUZA, A. P.; LABORDA, P. R.; OLIVEIRA, K. M. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 639-648, 2008.

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 combining 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, 1998.

PINTO, L. R.; VIEIRA, M. L. C.; SOUZA, A. P.; SOUZA JÚNIOR, C. L. Isoenzimas e microssatélites em plantas. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 20, p.16-19, 2001.

PINTO, L. R.; VIEIRA, M. L. C.; SOUZA JÚNIOR, C. L.; SOUZA, A. P. Genetic-diversity assessed by microsatellites in tropical maize populations submitted to a high-intensity reciprocal recurrent selection. **Euphytica**, Wageningen, v. 134, n. 2, p. 277-286, 2003.

PINTO, R. M. C.; SOUZA JÚNIOR, C. L.; CARLINI-GARCIA, L. A.; GARCIA, A. A. F.; et al. 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.

RAFALSKY, J. A.; VOGEL, J. M.; MORGANTE, M.; POWELL, W.; ANDRE, C.; TINGEY, S. V. Generating and using DNA markers in plants. In: BIRREN, B.; LAI, E. (Ed.) **Nonmammalian genomic analysis: a practical guide**. Orlando: Academic Press, 1996. p. 75-134.

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, 2003.

ROGERS JR., J. S. Measures of genetic similarity and genetic distance. **Studies in Genetics**, v. 7, p. 145-153, 1972.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: laboratory manual**. 2.ed. Cold Spring Harbor: CSHL, 1989. p.

SCHAFFER, H. E.; SEDEROFF, R. R. Improved estimation of DNA fragment lengths from agarose gels. **Analytical Biochemistry**, London, v. 115, n. 1, p. 113-122, 1981.

SHAROPOVA, N.; MCMULLEN, M. D.; SCHULTZ, L.; SCHROEDER, S.; SANCHEZ-VILLEDA, H.; GARDINER, J.; BERGSTROM, D.; HOUCHINS, K.; MELIA-HANCOCK, S.; MUSKET, T.; DURU, N.; POLACCO, M.; EDWARDS, K.; RUFF, T.; REGISTER, J. C.; BROUWER, C.; THOMPSON, R.; VELASCO, R.; CHIN, E.; LEE, M.; WOODMAN-CLIKEMAN, W.; LONG, M. J.; LISCUM, E.; CONE, K.; DAVIS, G.; COE JR., E. H. Development and mapping of SSR markers for maize. **Plant Molecular Biology**, Zurich, v. 48, n. 5-6, p. 463-481, 2002.

SHULL, G. H. The composition of a field of maize. **Report American Breeders Association**, Washington, v. 4, n. 2, p. 296-301, 1908.

SHULL, G. H. A pure line method of corn breeding. **Report American Breeders Association**, Washington, v. 5, n. 1, p. 51-59, 1909.

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 microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain

yield, plant height, ear height and grain moisture. **Hereditas**, Lund, v. 139, n. 2, p. 107-115, 2003.

SMITH, O. S.; SMITH, J. S. C.; BOWEN, S. L.; TENBORG, R. A.; WALL, S. J. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F1 grain yield, grain yield, heterosis and RFLP's. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 80, n. 6, p. 833-840, 1990.

SMITH, J. S. C.; CHIN, E. C. L.; SHU, H.; SMITH, O. S.; WALL, S. J.; SENIOR, M. L.; MITCHELL, S. E.; KRESOVICH, S.; ZIEGLE, J. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 1-2, p. 163-173, 1997.

SOUZA, A. P. Biologia molecular aplicada ao melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.) **Recursos genéticos e melhoramento**: plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 939-966.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of American Society of Agronomy**, Madison, v. 34, n. 10, p. 923-32, 1942.

SPRAGUE, G. F.; EBERHART, S. A. Corn breeding. In: SPRAGUE, G. F. (Ed.) **Corn and corn improvement**. 2. ed. Madison: American Society of Agronomy, 1977. p. 305-362.

SU-XIA, X.; LIU, J.; LIU, G-S. The use of SSRs for predicting the hybrid yield and yield heterosis in 15 key inbred lines of Chinese maize. **Hereditas**, Lund, v. 141, n. 3, p. 207-215, 2004.

TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 24, n. 8, p. 1596-1599, 2007.

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

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

VUYLSTEKE, M.; KUIPER, STAM, P. Chromosomal regions involved in hybrid performance and heterosis: their AFLP (R)-based identification and practical use in prediction models. **Heredity**, Sheffield, v. 85, n. 3, p. 208-218, 2004.

WAGNER, A. P.; CREEL, S.; KALINOWSKI, S. T. Estimating relatedness and relationships using microsatellite loci with null alleles. **Heredity**, Sheffield, v. 97, n. 5, p. 336-45, 2006.

WARBURTON, M. L.; RIBAUT, J. M.; FRANCO, J.; CROSSA, J.; DUBREUIL, P.; BETRÁN, F. J. Genetic characterization of 218 elite CIMMYT maize inbred lines using RFLP markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 142, n. 1-2, p. 97-106, 2005.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data**. Sunderland: North Carolina State University, 1996. 445 p.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, Berkeley, v. 19, p. 395-420, 1965.

WU, M. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in maize as revealed by AFLPs and RAPDs. **Maize Genetics Cooperation Newsletter**, Columbia, v. 74, p. 62-63, 2000.

XU, S. X.; LIU, J.; LIU, G. S. The use of SSRs for predicting the hybrid yield and yield heterosis in 15 key inbred lines of Chinese maize. **Hereditas**, Lund, v. 141, n. 3, p. 207-215, 2004.