

ISRAEL LEITE DE SOUZA NETO

**DEFINIÇÃO DE GRUPOS HETERÓTICOS EM MILHO SUPERDOCE POR MEIO
DA DISTÂNCIA GENÉTICA E DA CAPACIDADE COMBINATÓRIA**

Botucatu

2019

ISRAEL LEITE DE SOUZA NETO

**DEFINIÇÃO DE GRUPOS HETERÓTICOS EM MILHO SUPERDOCE POR MEIO
DA DISTÂNCIA GENÉTICA E DA CAPACIDADE COMBINATÓRIA**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Agricultura).

Orientador(a): Maurício Dutra Zanotto

Coorientador(a): Carlos Alberto Scapim

Botucatu

2019

S729d Souza Neto, Israel Leite de
Definição de grupos heteróticos em milho superdoce por meio da distância genética e da capacidade combinatória / Israel Leite de Souza Neto. -- Botucatu, 2019
97 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu
Orientador: Maurício Dutra Zanotto
Coorientador: Carlos Alberto Scapim

1. Shrunken. 2. Zea mays. 3. Dialelo. 4. CEC. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DEFINIÇÃO DE GRUPOS HETERÓTICOS EM MILHO SUPERDOCE POR MEIO DA DISTÂNCIA GENÉTICA E DA CAPACIDADE COMBINATÓRIA

AUTOR: ISRAEL LEITE DE SOUZA NETO

ORIENTADOR: MAURÍCIO DUTRA ZANOTTO


COORDENADOR: CARLOS ALBERTO SCAPIM

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MAURÍCIO DUTRA ZANOTTO
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Prof. Dr. MARCOS VENTURA FARIA
Agronomia / Universidade Estadual do Centro Oeste


Prof. Dr. NORBERTO DA SILVA
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP


Pesquisador Dr. SÉRGIO GONÇALVES DUTRA
/ Instituto Mato-Grossense do Algodão


Pesquisador Dr. JOÃO PAULO TEIXEIRA WHITAKER
Sementes, Mudas e Matrizes / Coordenadoria de Assistência Técnica Integral

Botucatu, 02 de agosto de 2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e constante anseio pelo aprendizado.

Aos meus queridos pais e esposa pelo apoio incondicional.

Aos professores Dr. Maurício Dutra Zanotto pela orientação e Dr. Carlos Alberto Scapim pela co-orientação, confiança, ensinamentos e apoio durante todo este período.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp Campus de Botucatu pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

Ao laboratório de cultura de tecidos e eletroforese da Universidade Estadual de Maringá pelo apoio na seleção dos primers.

À empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda. e ao diretor do departamento de pesquisa Romulo Fujito Kobori por propiciar infraestrutura, suporte e auxílio para a condução do meu projeto de pesquisa.

Ao meu mestre e tutor na vida e no trabalho Dr. Paulo Tarcísio Della Vecchia.

Aos grandes amigos Alex Sandro Torre Figueiredo e Jefferson Colombo pela ajuda na condução e avaliação dos experimentos.

Ao amigo Norberto da Silva pela troca de experiência e sugestões quanto ao desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas Olga Salatiel Suzuki, Fabio Barletta, Rodrigo Ivan Contreras Souto e Tereza Aparecida da Silva pela ajuda nas análises moleculares.

A toda equipe referente ao setor de melhoramento genético SMH01 da empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda.

Por final, gostaria de agradecer a todos que de uma forma ou outra não mediram esforços para que o meu trabalho chegasse ao final de mais esta etapa e que por ventura não me lembro neste momento.

RESUMO

O milho superdoce é classificado como milho especial e largamente consumido em sua forma *in natura* ou em processados. Dentre os alelos mutantes condicionadores do caráter doce o *Shrunken 2 (sh2)* é o mais utilizado por empresas de melhoramento genético. Ao contrário do milho comum, os programas de melhoramento de milho superdoce não possuem padrões heteróticos bem definidos a fim de direcionar os cruzamentos para o desenvolvimento de linhagens e híbridos. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi classificar em grupos heteróticos o painel de linhagens parcialmente endogâmicas (F_2S_5) pertencentes a empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda. por meio de estudos de divergência genética via marcadores moleculares SSR e pela capacidade combinatória obtida por meio da análise dialélica. Quarenta e nove linhagens foram avaliadas por meio de 20 marcadores SSR, e agrupadas de acordo com a análise discriminante de componentes principais. Doze linhagens foram selecionadas e cruzadas entre si de acordo com Griffing (1956). Os 81 tratamentos (linhagens progenitoras, seus respectivos híbridos simples e três testemunhas comerciais) foram avaliados em esquema de látice triplo (9 x 9) parcialmente balanceado durante a safra de 2016/2017 e safrinha de 2017. Foram estimados os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC). As estimativas de CEC foram utilizadas para proceder o agrupamento das linhagens progenitoras em grupos heteróticos. Os efeitos não aditivos foram predominantes no controle genético dos caracteres em milho superdoce estudados neste trabalho. Os caracteres produtividade comercial sem palha (PCSP) e comprimento de espiga (CE) foram os mais informativos para formação dos grupos heteróticos. Houve boa coincidência entre os métodos de agrupamento utilizados para definir os grupos heteróticos. O agrupamento das linhagens obtido por meio das estimativas de CEC se mostrou mais assertivo, classificando as linhagens em três grupos distintos: linhagens com plantas braquíticas (gene *br2*) provenientes da "PopTe2", linhagens provenientes das populações "PopTe1" e "PopTe2" sem o gene *br2*, e linhagens provenientes da população "PopTr".

Palavras-chave: Shrunken. *Zea mays*. Dialélico. CEC. SSR.

ABSTRACT

The super sweet corn is classified as a special type of corn and is largely consumed in fresh and processing ways. Among the alleles that confers its sweetness *Shrunken 2* (*sh2*) is the most common at the breeding programs. In contrast to the field corn, super sweet breeding programs do not have heterotic patterns well defined in order to guide the crosses with the aim to develop new inbred lines and hybrids. Taking this fact in account, the objective of this study was to set the partial endogamy inbred lines (F_2S_5) owned by Sakata Seed Sudamerica Ltda. into heterotic groups by genetic dissimilarity analysis using data from SSR molecular markers, and, through combining ability obtained from diallel analysis. Forty-nine inbred lines were evaluated using 20 SSR molecular markers, which were allocated into heterotic groups according to the discriminant principal component analysis. Twelve inbred lines were crossed in a complete diallel scheme according to Griffing (1956). The 81 entries (hybrids developed, parental lines and three commercial checks) were evaluated in a triple partial balanced lattice design (9 x 9) during the growing seasons of 2016/2017 and 2017. The general combine ability (GCA) and specific combine ability (SCA) were estimated. The SCA values were used to set the heterotic patterns of the parental lines as well. Non additive effects had greater contribution to genetic trait control than additive effects. Commercial yield without husk (CYWH) and ear length (EL) were more informative in order to set the heterotic groups. There was great coincidence between the two methods used to set the groups. SCA showed up to be more assertive in grouping the inbred lines into heterotic groups. It was possible to set the inbred lines into three heterotic groups: inbred lines with brachytic plants (gene *br2*) coming from "PopTe2", inbred lines coming from populations "PopTe1" and "PopTe2" without the *br2* gene, and inbred lines coming from population "PopTr".

Keywords: Shrunken. *Zea mays*. Diallel. SCA. SSR.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Composição de carboidratos nos endospermas mutantes aos 21 e 22 dias após a polinização (DAP).....24
- Tabela 2** – Marcadores moleculares SSR selecionados para o estudo da dissimilaridade genética entre as 49 linhagens de milho superdoce.....37
- Tabela 3** – Esquema básico da análise de variância molecular (AMOVA) contendo graus de liberdade (GL), soma de quadrados (SQ), quadrado médio (QM) e esperança de quadrado médio (EQM).....40
- Tabela 4** – Linhagens utilizadas para a obtenção das combinações híbridas.42
- Tabela 5** – Esquema básico da análise de variância individual para o delineamento em látice triplo parcialmente balanceado.46
- Tabela 6** – Desdobramento dos graus de liberdade da ANOVA individual.....47
- Tabela 7** – Esquema da tabela de dupla entrada das médias dos “v” tratamentos nos “s” ambientes avaliados utilizados na obtenção das somas de quadrado da análise conjunta do látice.48
- Tabela 8** – Esquema de análise de variância conjunta para o delineamento látice triplo parcialmente balanceado.49
- Tabela 9** – Desdobramento dos graus de liberdade da ANOVA conjunta49
- Tabela 10** – Esquema de análise de variância dialélica, Método 2, envolvendo progenitores e F₁, segundo Griffing (1956).50

Tabela 11 – Número de alelos por loco (Na) para os 20 marcadores moleculares SSR utilizados no estudo em comparação com resultados obtidos por outros autores.... 55

Tabela 12 – Parâmetros genéticos avaliados com 20 marcadores moleculares SSR em 49 linhagens de milho. Heterozigosidade média observada (Ho), heterozigosidade média esperada (He) e conteúdo de informação de polimorfismo (PIC). 56

Tabela 13 – Distribuição das 49 linhagens em seus respectivos grupos baseado na análise discriminante de componentes principais com 20 marcadores SSR..... 60

Tabela 14 – Resumo da análise de variância individual para os caracteres: altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP) e produtividade comercial sem palha (PCSP); avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017 em 81 genótipos de milho superdoce. 62

Tabela 15 – Resumo da análise de variância individual para os caracteres: comprimento de espiga (CE), altura de grãos (AG), número de fileira de grãos (FG) e sólidos solúveis (SS); avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017 em 81 genótipos de milho superdoce. 63

Tabela 16 – Resumo da análise de variância conjunta para os caracteres: altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP) e produtividade comercial sem palha (PCSP) em 81 genótipos de milho superdoce. 65

Tabela 17 – Resumo da análise de variância conjunta para os caracteres: comprimento de espiga (CE), altura de grãos (AG) e fileira de grãos (FG) em 81 genótipos de milho superdoce. 65

Tabela 18 – Resumo da análise de variância individual do dialelo completo contendo progenitores e F_{1s} para os caracteres: altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP) e produtividade comercial sem palha (PCSP) em 78 genótipos de milho superdoce. 66

Tabela 19 – Resumo da análise de variância individual do dialelo completo contendo progenitores e F_{1s} para os caracteres: comprimento de espiga (CE), altura de grãos (AG) e número de fileira de grãos (FG) em 78 genótipos de milho superdoce. 66

Tabela 20 – Resumo da análise de variância conjunta do dialelo completo contendo progenitores e F_{1s} para os caracteres: altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP) e produtividade comercial sem palha (PCSP) em 78 genótipos de milho superdoce..... 69

Tabela 21 – Resumo da análise de variância conjunta do dialelo completo contendo progenitores e F_{1s} para os caracteres: comprimento de espiga (CE), altura de grãos (AG) e número de fileira de grãos (FG) em 78 genótipos de milho superdoce. 69

Tabela 22 – Agrupamento de Tocher baseado nas estimativas de CEC para os caracteres altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP), produtividade comercial sem palha (PCSP), comprimento de espiga (CE) e fileira de grãos (FG)..... 83

Tabela 23 – Estimativas de correlação de Pearson para os caracteres altura de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP), altura de grãos (AG), altura de plantas, produtividade comercial sem palha (PCSP), comprimento de espiga (CE) e fileira de grãos (FG) demonstrados de acordo com a significância da interação entre tratamentos e CEC com ambientes para cada caractere 86

Tabela 24 – Comparação entre o agrupamento realizado com o método preditivo via dados de marcadores moleculares (DAPC) e o agrupamento realizado com o método quantitativo baseado nas estimativas de CEC obtidas do dialelo completo de Griffing (1956) método 2 88

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Análise de variância molecular (AMOVA) entre 49 linhagens de milho superdoce utilizando 20 marcadores moleculares SSR. 58
- Figura 2** – Scatterplots baseados na análise DAPC em linhagens de milho superdoce avaliados com 20 marcadores moleculares SSR. 61
- Figura 3** – Estimativas de CGC para AP dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa). 70
- Figura 4** – Estimativas de CGC para AE dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa). 70
- Figura 5** – Estimativas de CGC para PTCP dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa). 71
- Figura 6** – Estimativas de CGC para PCSP dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa). 72
- Figura 7** – Estimativas de CGC para CE dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa). 73
- Figura 8** – Estimativas de CGC para AG dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa). 73

Figura 9 – Estimativas de CGC para FG dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa).	74
Figura 10 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere altura de planta (AP).	75
Figura 11 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere altura de inserção de espiga (AE).	76
Figura 12 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere produtividade comercial sem palha (PCSP).	77
Figura 13 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere comprimento de espiga (CE).	78
Figura 14 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere fileira de grãos (FG).	79
Figura 15 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere produtividade total com palha (PTCP) avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017.	80
Figura 16 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere altura de grãos (AG) avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017.	81

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	Aspectos gerais da cultura do milho doce.....	21
2.2	Genes mutantes condicionadores do caráter doce em milho	22
2.3	Melhoramento genético do milho doce.....	24
2.4	Análise dialélica.....	28
2.5	Grupos heteróticos.....	30
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1	Material vegetal.....	35
3.2	Extração do DNA.....	35
3.3	Seleção de marcadores moleculares microsatélites.....	36
3.4	Amplificação do DNA.....	38
3.5	Eletroforese capilar e leitura dos dados.....	38
3.6	Análise de variância molecular (AMOVA).....	39
3.7	Parâmetros da diversidade genética.....	40
3.8	Análise discriminante baseada em componentes principais (DAPC).....	40
3.9	Cruzamentos dialélicos.....	42
3.10	Condução dos experimentos.....	43
3.11	Manejo e tratos culturais.....	43
3.12	Caracteres avaliados.....	44
3.13	Análise de variância.....	45
3.14	Análise de variância conjunta.....	47
3.15	Análise de variância do dialelo.....	50
3.16	Análise de variância conjunta do dialelo.....	50
3.17	Método de agrupamento baseado nas estimativas de CEC...	51
3.18	Correlação de Pearson.....	52
3.19	Programas estatísticos utilizados.....	52
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4.1	Parâmetros da diversidade genética.....	54

4.2	Análise de variância molecular (AMOVA).....	58
4.3	Agrupamento baseado na análise discriminante de componentes principais (DAPC).....	59
4.4	Análise de variância.....	61
4.5	Análise de variância conjunta.....	64
4.6	Análise de variância do dialelo.....	65
4.7	Análise de variância conjunta do dialelo.....	68
4.8	Estimativas da capacidade geral de combinação (CGC).....	69
4.9	Estimativas da capacidade específica de combinação (CEC).....	74
4.10	Agrupamento baseado nas estimativas de CEC.....	81
4.11	Análise de correlação.....	84
4.12	Comparação entre os dois métodos utilizados para determinação dos grupos heteróticos.....	86
5	CONCLUSÕES.....	89
	REFERÊNCIAS.....	91

1 INTRODUÇÃO

Devido a ocorrência de mutações espontâneas em alelos que alteram a rota metabólica para a síntese do amido, milhos tidos como doce e/ou superdoce são classificados como milhos especiais por apresentarem maior qualidade quando comparados ao milho normal, de endosperma amiláceo. Isto se deve ao maior acúmulo de açúcares no seu endosperma, e, em alguns casos, à menor resistência do pericarpo aliada à melhor textura dos grãos.

O milho doce é muito popular em países como Estados Unidos e Canadá, onde a maior parte produzida é consumida na forma *in natura* (Bordallo et al., 2005). Características relacionadas à qualidade dos grãos para consumo *in natura*, tais como, espessura do pericarpo e textura dos grãos, estão presentes em germoplasma proveniente de regiões de clima temperado, que por sua vez apresenta dificuldades para adaptação às condições tropicais. Isto pode ser uma das razões por não haver maior popularidade do milho doce para consumo *in natura* no Brasil.

Os programas de melhoramento genético geralmente adotam duas estratégias para o desenvolvimento de híbridos de milho doce: a primeira consiste em introduzir o gene que confere o caráter doce em linhagens elites de milho amiláceo, e, por meio de sucessivos retrocruzamentos, se recupera o genótipo recorrente contendo o gene de interesse (BREWBAKER, 2010; BREWBAKER; MARTIN, 2015). A segunda estratégia consiste em desenvolver linhagens a partir de germoplasma *per se* de milho doce. Este germoplasma caracteriza-se por possuir base genética estreita, alta depressão endogâmica e características agrônômicas indesejáveis, dificultando a extração de linhagens promissoras para o desenvolvimento de híbridos adaptados às condições tropicais (TREAT; TRACY, 1993).

Ao contrário do milho comum, os programas de melhoramento de milho doce não possuem padrões heteróticos bem definidos, a fim de direcionar os cruzamentos para o desenvolvimento de linhagens e híbridos (REVILLA; TRACY, 1997; TRACY, 2001). Apesar dos efeitos de heterose serem significativos e de alta magnitude para os principais caracteres relacionados à produtividade do milho doce (SRDIC et al., 2011; SOLOMON; ZEPPA, 2011; SOLOMOM et al., 2012; YUWONO et al., 2017), isto, por si só, não garante que combinações híbridas desenvolvidas para explorar os efeitos de dominância serão comercialmente bem sucedidas, uma vez que uma série

de caracteres qualitativos são essenciais para introdução de um híbrido no mercado. Este fato, contribui para dificultar a definição de padrões heteróticos, os quais devem ser definidos com base nas estimativas de heterose e/ou dissimilaridade genética, bem como na identificação das combinações híbridas que garantam reunir caracteres importantes para o mercado que se pretende promover o híbrido desenvolvido.

Deste modo, o presente trabalho teve como objetivo classificar em grupos heteróticos o painel de linhagens parcialmente endogâmicas pertencentes a empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda. por meio de estudos de divergência genética via marcadores moleculares SSR e pela capacidade combinatória obtida por meio da análise dialélica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da cultura do milho doce

O milho doce é a sexta hortaliça mais produzida no Brasil, sendo 864 milhões de toneladas produzidas anualmente. O valor de mercado com a venda de sementes híbridas é de aproximadamente R\$14,5 milhões, ocupando a nona posição entre as espécies hortícolas (ABCSEM, 2014). A produção de milho doce no Brasil se concentra nos estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Pernambuco e Goiás, sendo este último o maior produtor nacional. A produção, quase em sua totalidade, é destinada à indústria, comercializando-se os grãos em latas ou embalagens plásticas. O consumo limita-se à utilização dos grãos inteiros, não sendo possível a sua utilização na formulação de receitas, como bolo, pamonha, curau, etc, devido ao baixo teor de amido existente nos grãos, que não permite adequada consistência da massa preparada.

Apesar de haver em milho doce características semelhantes ao milho comum, utilizar as mesmas práticas de manejo e de tecnologia, há uma série de caracteres inerentes ao milho doce que devem ser considerados ao se fazer a escolha do híbrido a ser cultivado, e, que nem sempre possuem a mesma importância no milho comum. Dentre estes caracteres, destacam-se: uma alta porcentagem de germinação das sementes e alto vigor das plântulas, plantas de porte baixo, tolerância ao acamamento e às principais doenças e pragas, elevado número de fileiras de grãos, grãos altos e dentados, espiga cilíndrica, coloração dos grãos amarelo claro, pericarpo macio, textura cremosa dos grãos, adequada conservação pós-colheita e longo período de colheita, empalhamento que permita uma boa proteção dos grãos e que não dificulte o processo de despalhamento na indústria, e, que apresente elevado teor de açúcar no grão.

O milho doce deve apresentar uniformidade nos teores de umidade dos grãos (69 a 75%), o que garante maior palatabilidade e manutenção do sabor do produto (PEREIRA FILHO; CRUZ, 2003). O ciclo completo do genótipo deve variar entre 90 e 110 dias; e apresentar maior longevidade do período da colheita, de 5 a 8 dias (PEREIRA FILHO; CRUZ, 2003).

Recomenda-se a colheita dos milhos doce quando os grãos apresentarem de 72 a 78% de umidade (estádio leitoso), o que ocorre entre 20 a 28 dias após o florescimento. O avanço da maturação dos grãos faz com que a maioria do açúcar seja convertido em amido, reduzindo-se o sabor adocicado e a maciez dos mesmos (PARENTONI et al., 1990).

2.2 Genes mutantes condicionadores do caráter doce em milho

Existem vários genes recessivos que conferem a característica doce ao milho. Estes, são resultados de mutações espontâneas que ocorreram em milho comum e podem ser explorados isoladamente ou em conjunto com outros genes mutantes. Apesar do número de genes descritos na literatura ser elevado, aproximadamente quatorze, há relatos de que apenas oito destes foram ou estão sendo explorados comercialmente (TRACY, 2001).

Os genes mutantes mais utilizados comercialmente podem ser classificados em dois grupos: superdoce e doce. Entre os grupos, há diferenças quanto ao teor de açúcar, tipo de açúcar acumulado no endosperma, textura dos grãos, espessura do pericarpo, tempo de prateleira, janela de colheita, e, vigor e germinação das sementes. No primeiro grupo, milho superdoce, encontram-se os genes: *Shrunken 2* (*sh2*), *brittle 1* (*bt1*) e *brittle 2* (*bt2*); já no segundo grupo, milho doce, os alelos são: *sugary* (*su1*), *dull 1* (*du1*), *waxy 1* (*wx1*) e *amylose extender* (*ae1*) (TRACY, 2001).

O gene mais utilizado no grupo superdoce é o *Shrunken 2* (*sh2*). O uso deste gene resulta em um bloqueio na síntese do amido logo no início das reações de quebra da sacarose. O resultado é um alto acúmulo de sacarose nos grãos, podendo chegar ao dobro do conteúdo obtido nos milhos doce e cerca de quatro a oito vezes o teor de açúcar do milho comum (TRACY, 1997).

É importante mencionar algumas desvantagens de híbridos que apresentam o gene *sh2* quando comparado a híbridos de milho doce e milho comum. Devido ao baixo acúmulo de polissacarídeos solúveis em água, o grão não possui a textura cremosa como ocorre em genótipos de milho contendo o gene *sugary* (*su1*) e *sugary enhancer* (*se*) (KAUKIS; DAVIS, 1986). Os milhos pertencentes ao grupo superdoce são os que mais apresentam problemas de germinação de sementes e vigor das plântulas, devido ao maior acúmulo de açúcares em detrimento do teor de amido (TRACY, 1997). Na maioria das vezes o gene *sh2* é utilizado de forma isolada devido ao elevado teor de açúcar acumulado nos grãos, garantindo alta qualidade. Em países

como Estados Unidos e Canadá, o uso comercial do gene *sh2* revolucionou a industrialização e o comércio de milho doce, sendo inclusive o gene mais usado em genótipos destinados ao consumo *in natura* e o segundo mais usado em genótipos destinados à indústria (TRACY, 1997).

Quanto ao grupo classificado como doce, as reações que afetam a síntese de amido ocorrem em momento posterior às que ocorrem nos genótipos superdoce, afetando reações já dentro do amiloplasto, na fase de formação dos grânulos de amido. Tais eventos resultam em menores teores de açúcares quando comparado aos genótipos superdoce (NELSON; RINES, 1962; DENARDIN; SILVA, 2009).

Dentre os genes pertencentes ao grupo doce, *su1* é o mais utilizado comercialmente. O sabor adocicado inerente à sua presença deve-se ao aumento na concentração de polissacarídeos solúveis em água (PSA), que se caracterizam por carboidratos de cadeia ramificada. Isto, além de aumentar o teor de açúcar de 5 a 9% em relação ao milho comum, acarreta em uma textura cremosa dos grãos, o que é desejável pelo consumidor (ARAGÃO, 2002). O aumento nos níveis de polissacarídeos solúveis em água no endosperma é decorrente do fato de que o gene *su1* está ligado à síntese da isoamilase desramificadora, enzima que atua na rota metabólica para a síntese da amilopectina. Portanto, a inutilização do gene *su1* resulta no acúmulo de açúcares e fitoglicogênio altamente ramificado e solúvel em água no endosperma do grão (JAMES et al., 1995).

Há algumas desvantagens na utilização do gene *su1*, dentre elas destacam-se: baixa conservação pós-colheita, rápida diminuição no teor de açúcares após o ponto ideal de colheita, e ao limitado período de colheita. A causa da menor janela de colheita deve-se ao fato de que os açúcares são convertidos em fitoglicogênio tanto antes quanto após a colheita, acarretando na redução constante do teor de açúcar. Quando mantido a temperatura ambiente, o milho *su1* perde 50% do teor de açúcar após 24 horas após a colheita. A taxa de perda de açúcar pode ser reduzida pelo resfriamento das espigas, mas, mesmo assim, de um a dois terços da sacarose é perdida em 3 dias. Os mutantes referentes ao grupo superdoce mantem níveis mais altos de sacarose, mesmo aos 28 dias após o florescimento, apresentam duas vezes mais açúcar do que um milho *su1* aos 21 dias após o florescimento. Outros caracteres relacionados à qualidade culinária dos grãos também são continuamente perdidos na presença do *su1*, como a cremosidade do grão, por exemplo (TRACY, 2001).

Um outro gene comumente utilizado isoladamente ou em combinação, é o *sugary enhancer (se)*. Não se conhece exatamente o seu modo de ação bioquímica, portanto, milhos contendo este gene não se enquadram em nenhum dos dois grupos descritos anteriormente. Quando combinado em homozigose com *su1*, também resulta em teores de açúcares próximos dos obtidos no grupo superdoce e níveis de PSA similares ao *su1* não modificado (TRACY, 2001). O resultado é um endosperma doce e cremoso, conferindo alta qualidade. Características como: alto teor de açúcar e ampla janela de colheita foram associados à presença deste gene. Atualmente, encontram-se facilmente híbridos comerciais com o gene *se*. Porém, a sua utilização e incorporação em programas de melhoramento genético não ocorreu tão rápido quanto se esperava. O reconhecimento fenotípico do gene *se* está relacionada a uma coloração dos grãos amarela mais pálida, característica não desejável pelo mercado.

Na Tabela 1 encontram-se as principais diferenças quanto a composição de carboidratos em grãos de milho que apresentam genes mutantes distintos.

Tabela 1 - Composição de carboidratos nos endospermas mutantes aos 21 e 22 dias após a polinização (DAP).

Genótipo	Símbolo	Fenótipo	Amido (%)	Sacarose (%)	Açúcares redutores (%)	PSA* (%)
21 DAP						
Amiláceo	-	Amiláceo	80.0	2.9	4.8	-
<i>Brittle 1</i>	<i>bt1</i>	Superdoce	16.9	19.3	21.3	-
<i>Brittle 2</i>	<i>bt2</i>	Superdoce	7.4	17.6	41.6	-
<i>Shrunken 2</i>	<i>sh2</i>	Superdoce	21.0	22.5	26.3	-
22 DAP						
Amiláceo	-		48.9	7.3	3.9	0.2
<i>Amylose extender 1</i>	<i>ae1</i>	Doce	25.4	15.8	4.4	0.4
<i>Dull 1</i>	<i>du1</i>	Doce	42.1	11.8	4.3	0.3
<i>Shrunken 2</i>	<i>sh2</i>	Superdoce	17.4	24.6	8.3	0.3
<i>Sugary</i>	<i>su1</i>	Doce	20.6	11.6	4.3	27.7
<i>Waxy</i>	<i>wx</i>	Doce	52.6	7.5	2.9	0.2

*PSA: polissacarídeos solúveis em água. Fonte: Adaptado de Tracy (2001).

2.3 Melhoramento genético do milho doce

Os programas de melhoramento genético geralmente adotam duas estratégias para o desenvolvimento de híbridos de milho doce: a primeira consiste em introduzir o gene que confere o caráter doce em linhagens elites de milho amiláceo e, através de sucessivos retrocruzamentos, recupera-se o genótipo recorrente contendo o gene de interesse (BREWBAKER, 2010; BREWBAKER; MARTIN, 2015).

A segunda estratégia consiste em desenvolver linhagens a partir de germoplasma de milho doce *per se*. Este germoplasma caracteriza-se por possuir base genética estreita e características agronômicas indesejáveis, dificultando a extração de linhagens promissoras para o desenvolvimento de híbridos adaptados as condições tropicais (TREAT; TRACY, 1993).

Grandes avanços têm sido obtidos em programas de melhoramento genético provenientes de trabalhos destinados ao desenvolvimento de híbridos adaptados a regiões de clima temperado. Nos Estados Unidos, por exemplo, agricultores encontram uma vasta gama de híbridos como opção para semeadura, podendo optar pela utilização de genes como: *sugary 1*, *sugary enhancer*, *shrunk 2*, e, em alguns casos, combinações entre *sugary 1* com *sugary enhancer* e *shrunk 2* com *sugary enhancer*. Também há opções quanto a coloração dos grãos, pois há mercado para grãos amarelos, brancos e espigas bicolor, mesclando grãos amarelos e brancos. Estas combinações são possíveis pois a herança para coloração dos grãos é controlada por apenas um gene (*Y1*) dominante para a coloração amarela e aditivo quanto a sua intensidade (FORD, 2000). Desta forma, o híbrido heterozigoto para o gene em questão, apresenta 75% dos grãos de cor amarela e 25% de cor branca. Também é possível optar pela utilização de híbridos convencionais e versões transgênicas.

Dentre as empresas e instituições públicas que desenvolvem um significativo trabalho de melhoramento genético a fim de atender o mercado norte-americano, destacam-se: University of Wisconsin, Illinois Foundation Seeds Inc. (IFSI); Syngenta e Seminis. No Brasil, a empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda., em paralelo ao germoplasma referente a este trabalho, também possui um projeto de melhoramento a partir de acessos de milho superdoce provindos de regiões de clima temperado devido à grande contribuição deste germoplasma para qualidade de grãos. Porém, há uma enorme barreira quanto a sua adaptação em condições de clima tropical. Este germoplasma é extremamente sensível ao fotoperíodo, sendo muito precoce e de baixo vigor quanto utilizado em condições de baixa latitude. Aliado a esta dificuldade, não há uma aceitável tolerância às principais doenças que ocorrem nas regiões produtoras do Brasil.

Outro fator que limita a utilização de germoplasma temperado em condição tropical é a herança complexa da aparência e qualidade dos grãos do milho doce. Tal fato dificulta a seleção e introgressão de tais caracteres em germoplasma adaptado.

Tracy (2001), estudou a herança e o tipo de ação gênica predominante sobre os caracteres: peso da primeira espiga, número de fileiras de grãos e comprimento de espigas. Concluiu que a herança de tais caracteres é complexa devido a natureza poligênica, possui efeito recíproco e que tanto a capacidade geral de combinação (CGC) quanto a capacidade específica de combinação (CEC) são importantes na expressão destes caracteres e, que ambos devem ser levados em consideração no momento da definição das estratégias de melhoramento. Desta forma, apesar da alta herdabilidade dos alelos que condicionam o caráter doce e da sua fácil identificação, a qualidade da espiga advém do somatório de outros caracteres, que por sua vez, apresentam herança complexa, interação genótipo ambiente significativa e baixa herdabilidade (TRACY, 2001).

A espessura do pericarpo dos grãos é um dos caracteres que mais contribuem para a qualidade final do milho doce. Esta por sua vez, tem herança quantitativa com grande variabilidade genética disponível de ser explorada por meio de seleção via melhoramento de plantas (GARWOOD; CREECH, 1979). Segundo Ito e Brewbaker (1981), é possível de se obter ganhos de seleção satisfatórios para a maciez do pericarpo quando se aplica a seleção massal em populações de polinização aberta. Segundo esses autores, tal fato somente é possível pois ele observou alta herdabilidade para o caráter espessura de pericarpo (maior que 80%).

O mercado brasileiro não é maduro o suficiente para distinguir as diferenças existentes entre grãos de alta qualidade e grãos apenas contendo o caractere doce. Devido a isso, muitos programas de melhoramento vêm adotando a estratégia de introduzir o gene mutante em linhagens elites de milho comum adaptadas às condições tropicais e que muitas vezes já figuram como parentais de híbridos comerciais. O resultado da adoção desta estratégia é a obtenção de híbridos bem adaptados ao cultivo em regiões de clima tropical, boa tolerância as principais pragas e doenças, alta produtividade, porém, baixa qualidade dos grãos, pois estes, apesar de apresentarem o caractere doce, possuem pericarpo espesso e textura dos grãos de qualidade inferior.

Desta forma, retrocruzamentos sucessivos são realizados utilizando a linhagem elite como parental recorrente e o fenótipo doce é facilmente identificado em gerações pares de avanço, observando-se a aparência do grão enrugado devido ao baixo conteúdo de amido (PARENTONI et al., 1990). O número de retrocruzamentos pode ser menor, caso o pesquisador possa fazer uso de marcadores moleculares a fim de

identificar indivíduos da população de retrocruzamento que mais se assemelham geneticamente ao parental recorrente e que contenha o gene mutante de interesse.

De modo geral, a condução de um programa de melhoramento genético de milho doce se assemelha muito a um programa de milho comum, porém, algumas particularidades devem ser levadas em consideração. Uma delas trata-se da necessidade de realizar avaliações e seleções de caracteres sensoriais, onde, no momento ideal da colheita, parte da espiga é utilizada na avaliação sensorial e o restante da espiga permanece na planta a fim de se obter sementes para o próximo ciclo de melhoramento.

Outra particularidade trata-se da necessidade de manter o gene mutante sempre em homozigose, caso ocorra fecundação com grãos de pólen contendo qualquer alelo divergente ao alelo doce, observa-se já na planta mãe, o fenótipo do milho comum. E por último, devido ao baixo acúmulo de amido nos grãos de milho doce, suas sementes apresentam baixo vigor, baixa germinação e baixa viabilidade. Deste modo, o pesquisador deve se atentar quanto a manutenção de sementes viáveis no seu banco de germoplasma, principalmente quando se trata do milho superdoce (TRACY, 2001).

Com o intuito de contornar os problemas de baixa qualidade das sementes em milho superdoce, alguns programas de melhoramento têm realizado a modificação parcial do endosperma, em que alguns grãos da espiga apresentam apenas um fenótipo doce e o restante, a combinação de um gene doce com um gene superdoce. Isso é obtido por meio da manutenção de um dos genes em homozigose, e o outro em heterozigose. Deste modo, em um híbrido comercial, as espigas colhidas após fecundação cruzada apresentariam aproximadamente 75% de grãos com o fenótipo de apenas um gene homozigoto, ao passo que os 25% restantes possuiriam ambos genes em homozigose, obtendo a combinação das características organolépticas (TRACY, 2001).

A prática mencionada acima foi adotada principalmente para a combinação do gene doce *su1* (homozigoto) com o gene superdoce *sh2* (heterozigoto). Assim, três quartos de uma espiga colhida desta forma, teriam o fenótipo doce do gene *su1*, ao passo que o quarto restante teria fenótipo superdoce *sh2*. Com isso, aumenta-se a doçura geral de uma espiga *in natura*, uma vez que os grãos superdoce seriam perceptíveis ao paladar, sem a drástica redução do vigor germinativo das sementes com homozigose superdoce *sh2*, uma vez que grãos *su1su1Sh2sh2* apresentam

fenótipo doce *su1*. Porém, o contrário não é verdadeiro, usando o alelo *sh2* como homocigoto, e como heterocigoto o alelo *su1*, uma vez que este genótipo *Su1su1sh2sh2* apresentaria o fenótipo para germinação de sementes de uma planta superdoce *sh2* (GALLINAT, 1975; BOYER; SHANNON, 1984; MARSHALL, 1987; STORCK; LOVATO, 1991; TRACY, 1997).

2.4 Análise dialélica

Utilizado em larga escala por diversos melhoristas, o delineamento genético denominado de dialelo, permite obter informações sobre o controle genético de determinado caráter e aferir o quanto dado progenitor é eficiente em transmitir alelos favoráveis para suas progênies. Pois o fato do progenitor apresentar uma boa média para o caráter, muitas vezes tem baixa correlação com a transmissão de alelos favoráveis para o incremento na média aos seus descendentes. Segundo Cruz et al. (2004), as metodologias de análise dialélica têm por finalidade analisar o delineamento genético definido e prover estimativas de parâmetros genéticos úteis na seleção de progenitores para hibridação e no entendimento da natureza e magnitude dos efeitos genéticos envolvidos no controle dos caracteres.

Existem várias metodologias de análise dialélica. A metodologia proposta por Griffing (1956), visa avaliar a capacidade combinatória de um grupo de progenitores e, quando for o caso, estudar os efeitos recíprocos. A metodologia proposta por Gardner e Eberhart (1966) visa avaliar o potencial de variedades *per se* e em combinações híbridas, por meio de estimativas de efeitos varietais e da heterose manifestada no híbrido. Por último, a análise dialélica proposta por Hayman (1954) apud Cruz et al. (2004) permite avaliar o potencial de linhagens endogâmicas e estimar parâmetros genéticos úteis no entendimento do controle genético de caracteres e na avaliação da eficácia do emprego de estratégias de melhoramento. Em relação ao material genético avaliado, as diferentes metodologias de dialelo permitem ao melhorista fazer afirmações sobre a concentração de alelos favoráveis dominantes e recessivos importantes ao melhoramento de plantas

Griffing (1956) definiu cruzamentos dialélicos como o conjunto de n^2 possíveis genótipos obtidos a partir de n linhas puras. Nestas n^2 combinações, estariam contidas: a) as próprias linhas puras; b) os $n(n-1)/2$ híbridos F_1 e c) um conjunto de $n(n-1)/2$ híbridos F_1 recíprocos.

Conforme a metodologia proposta por Griffing (1956), os genótipos distribuídos em uma tabela dialélica permitem a classificação de quatro métodos experimentais, descritos a seguir:

Método 1: são incluídos os parentais, o grupo de híbridos F_1 e seus recíprocos (todas as p^2 combinações);

Método 2: são incluídos os parentais e o grupo de híbridos F_1 ; $p(p-1)/2$ combinações;

Método 3: são incluídos o grupo de híbridos F_1 e seus recíprocos; $p(p-1)$ combinações;

Método 4: é incluído apenas o grupo de híbridos F_1 ; $p(p-1)/2$ combinações.

Conforme descrito acima, o número de combinações híbridas aumenta exponencialmente a medida que se aumenta o número de parentais. Apesar das diversas vantagens em se utilizar este delineamento genético, a limitação quanto ao número de progenitores a serem estudados restringe o seu uso em programas de melhoramento que requerem o desenvolvimento de várias linhagens/populações concomitantemente. Outra limitação refere-se aos custos e espaço referente a avaliação das diversas combinações híbridas geradas. Esta metodologia é aplicável a maioria das espécies cultivadas, mas fica evidente que sua utilização é mais factível para espécies de plantas alógamas devido a facilidade de se realizar os cruzamentos.

Com base nessas metodologias, o comportamento dos genótipos é expresso na forma de capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação, diferenciadas de acordo com o modo de ação gênica envolvida no controle dos diversos caracteres estudados (CRUZ; REGAZZI, 1994). De acordo com Sprague e Tatum (1942) o termo CGC é utilizado para definir o comportamento médio de um progenitor em uma série de combinações híbridas. A CGC reflete o valor genético aditivo do progenitor, ou seja, reflete a porção de seu genótipo capaz de ser transferida a seus descendentes, não importando qual seja o outro progenitor que participe do cruzamento.

Se os valores estimados de CGC forem altos, positivos ou negativos, há indício de que o genótipo em questão é muito superior ou inferior aos demais genótipos do dialelo com relação ao desempenho médio dos cruzamentos. Esses valores são uma indicação de que os genes têm efeitos predominantemente aditivos. Assim, nos programas de melhoramento que visam a exploração de híbridos e seleção de

genótipos superiores, é mais indicado a seleção de genótipos com elevada CGC (SPTAGUE; TATUM, 1942).

Segundo Sprague e Tatum (1942) a CEC é aplicável a certas combinações híbridas que são relativamente superiores ou inferiores ao esperado com base na CGC. A CEC reflete o efeito de interação entre os alelos procedentes de cada parental (ação gênica de dominância) e o efeito das interações entre os alelos de diferentes locos envolvidos na transmissão do caráter (ação gênica de epistasia). Tais efeitos genéticos não aditivos não podem ser previstos com base na CGC, ou seja, antes de ser realizado o cruzamento.

Desta forma, a escolha dos melhores híbridos para o melhoramento deve ser feita com base nas maiores capacidades específicas de combinação, em que pelo menos um dos progenitores envolvidos no cruzamento apresente a maior CGC. Esse híbrido, portanto, deve ser resultado do cruzamento entre o progenitor selecionado com base na CGC e aquele cuja frequência de alelos favoráveis seja superior à frequência média da população e que apresente considerável divergência em relação ao progenitor com o qual está sendo cruzado (CRUZ; VENCOVSKY, 1989).

Paiva (2014) utilizando o dialelo parcial, avaliou a capacidade combinatória de onze linhagens tropicais de milho superdoce em cruzamento com dois testadores de germoplasma temperado e concluiu que a superioridade dos híbridos desenvolvidos em relação às testemunhas deveu-se à alta magnitude de efeitos de CGC das linhagens tropicais para caracteres relacionados a produtividade.

Solomon et al. (2012) estudaram o controle genético de caracteres agrônômicos e relacionados à qualidade de espiga e grãos. Os autores realizaram um dialelo parcial entre dez linhagens contrastantes de milho superdoce, todas contendo o gene *sh2*, sendo duas linhagens obtidas de populações de milho tropical e o restante oriundas de germoplasma temperado. Eles concluíram que a variância aditiva foi significativamente superior à variância de dominância para os caracteres de qualidade de espiga e grãos, enquanto que para caracteres agrônômicos a maior contribuição foi do componente de variância de dominância.

2.5 Grupos heteróticos

Grupo heterótico tem sido definido como uma coleção de germoplasma que, quando cruzada com germoplasma de outro grupo, tende a exibir maiores níveis de heterose que quando cruzada com membros de seu próprio grupo (LEE, 1995). Assim,

linhagens que apresentam elevada heterose em cruzamentos e/ou elevada capacidade específica de combinação são alocados em grupos heteróticos distintos, enquanto aqueles materiais que não apresentam estes resultados são alocados no mesmo grupo heterótico.

Esse conceito tem implicações diretas nos programas de melhoramento, que visam explorar combinações híbridas, uma vez que os cruzamentos entre linhagens são tecnicamente orientados e não feitos de forma aleatória. O sucesso de um programa de melhoramento de milho depende diretamente da eficiência da identificação das melhores linhagens a serem cruzadas para o desenvolvimento de híbridos superiores. Uma das principais dificuldades enfrentadas pelo melhorista é a escolha das linhagens a serem utilizadas para a síntese de híbridos. A escolha das linhagens deve-se fundamentar na capacidade de combinação das linhas parentais, e devido a isso deve-se separar os progenitores em grupos heteróticos de modo a maximizar o vigor híbrido (BALESTRE et al., 2008).

A alocação de populações-base e linhagens em seus respectivos grupos heteróticos evita o desenvolvimento e avaliação de híbridos que seriam descartados, contribuindo para aumentar a eficiência nos programas de melhoramento. Assim, linhagens obtidas de materiais alocados em um determinado grupo heterótico são avaliadas em cruzamentos com genótipos de forma que se saiba, a priori, que esses cruzamentos deverão apresentar médias superiores àqueles realizados dentro de um mesmo grupo heterótico. Dessa forma, os cruzamentos são dirigidos para explorar de forma eficiente a heterose e/ou a capacidade específica de combinação entre os genótipos de grupos heteróticos distintos (PINTO et al., 2001).

Supondo que l_1 seja uma linhagem pertencente ao grupo heterótico 1 e que l_2 seja uma linhagem proveniente do grupo heterótico 2, e, $l_1 \times l_2$ é um híbrido elite. Supondo também que l_w seja uma terceira linhagem a ser cruzada com l_1 ou com l_2 no intuito de desenvolver uma nova linhagem, l_{new} . Se a linhagem l_1 e l_w pertencerem ao mesmo grupo heterótico, estas devem ser cruzadas para formar a nova população-base para extração da linhagem l_{new} utilizando a linhagem l_2 como testadora para avaliação de suas progênies, sendo o oposto também verossímil (BERNARDO, 2010).

De acordo com Melchinger e Gumber (1998) os seguintes critérios são úteis para identificar os grupos heteróticos: 1) alto desempenho e variância genética nos cruzamentos entre grupos heteróticos distintos; 2) bom desempenho *per se* e boa adaptação dos grupos heteróticos. O ideal é que as linhagens produzam grande

quantidade de pólen e grãos a fim de viabilizar a produção de sementes F₁; e, 3) baixa depressão endogâmica entre cruzamentos provenientes de linhagens pertencentes ao mesmo grupo heterótico.

A definição dos grupos heteróticos pode ser realizada de várias maneiras. O mais comum baseia-se na informação da capacidade específica de combinação de linhagens ou mesmo de populações provenientes de cruzamentos bi parentais, como é o caso das “breeding populations”, ou populações derivadas dos cruzamentos de linhagens elites. Outra forma de estabelecer grupos heteróticos é por meio das distâncias genéticas entre os genótipos (linhagens e/ou populações) por meio de marcadores moleculares (VON PINHO et al., 2012). Melchinger e Gumber (1998) sugerem que, na ocorrência de poucas populações, é imprescindível a realização de cruzamentos dialélicos, mas considerando um grande número de populações e genitores, estes autores sugerem a utilização de cruzamentos do tipo topcrosses. Nos topcrosses realiza-se o cruzamento do germoplasma a ser classificado, com genótipos representativos de cada um dos grupos heteróticos já existentes e, posteriormente, alocá-los de acordo com o desempenho do híbrido topcross. No entanto, isso é possível apenas quando o programa já possui testadores representativos de cada um dos grupos heteróticos. No caso de programas nos quais o germoplasma ainda não está agrupado, uma alternativa é utilizar como testadores, genótipos que apresentem estimativas de alta magnitude da CEC (PINTO et al., 2001).

Existem duas maneiras de se inferir sobre a diversidade genética: de forma quantitativa e de forma preditiva. Entre as de natureza quantitativa, citam-se as análises dialélicas, nas quais são necessários os cruzamentos entre os progenitores, e sua posterior avaliação. As de natureza preditiva têm por base as diferenças morfológicas, de qualidade nutricional, fisiológicas ou moleculares, quantificadas em alguma medida de dissimilaridade que possa expressar o grau de diversidade genética entre os genitores (CRUZ; CARNEIRO, 2003). Nesse sentido, a avaliação do polimorfismo em nível de DNA, apresenta algumas vantagens em relação a outros métodos porque, além de identificar o alto polimorfismo, não apresenta interações com o ambiente (WILLIAMS et al., 1990). O uso de marcadores moleculares tem sido amplamente empregado como ferramenta para a avaliação da diversidade genética entre populações de milho doce, visando prever o desempenho dos híbridos (PINTO et al., 2016).

Em contrapartida, alguns autores contestam o uso de marcadores moleculares, pois marcadores identificam divergência em todo o genoma e muitas vezes, as regiões marcadas não estão relacionadas na expressão de genes relacionados a caracteres de interesse. Segundo Barrios et al. (2009), o uso de marcadores moleculares para a alocação de linhagens em grupos heteróticos tem demonstrado eficiência para populações de milho de germoplasma temperado, onde a genealogia das linhagens é bem conhecida e a base genética é estreita. Mas alguns trabalhos confirmam que os resultados de dialelos foram mais promissores para a formação de grupos heteróticos comparado aos marcadores moleculares (BALESTRE et al., 2008). Todavia, o uso dos dialelos aliado aos marcadores moleculares permite aumentar a eficiência na definição dos grupos heteróticos (BERNARDO, 2010).

O processo inicial de avaliação da diversidade genética visa a identificação de genitores adequados à obtenção de híbridos com maior efeito heterótico e que proporcionem maior segregação em recombinações, possibilitando o aparecimento de transgressivos. A importância dos estudos sobre a divergência genética para o melhoramento reside no fato de que cruzamentos envolvendo genitores geneticamente diferentes são os mais convenientes para produzir alto efeito heterótico (GUIMARÃES et al., 2007; PATERNIANI et al., 2008) e, também, maior variabilidade genética em gerações segregantes (RAO et al., 1981; BUZAR et al., 2007; CRUZ et al., 2011). Para isso, busca-se populações-base para seleção que alie ampla variabilidade genética com alta média para o caráter a ser selecionado.

Gonzalez et al. (1997), alocou dez linhagens de milho subtropical em dois grupos heteróticos, fazendo uso do delineamento dialélico em que empregou-se o método 4 de Griffing (1956). Neste estudo, os autores basearam-se nas estimativas de capacidade específica de combinação para alocar progenitores no mesmo grupo heterótico quando esta foi negativa e progenitores em grupos heteróticos distintos quando houve estimativa de CEC positiva. Ainda, fazendo uso de delineamento dialélico para formação de grupos heteróticos, Pinto et al. (2001), alocaram 18 linhagens provenientes de duas populações em quatro grupos heteróticos considerando a variável produção de grãos. Para tal, os autores consideraram as estimativas de CEC como medidas de distância genética entre os progenitores. Para gerar a matriz de dissimilaridade genética, foi adicionada uma constante à estimativa de CEC a fim de torná-las todas de sinal positivo. De posse da matriz de dissimilaridade foi obtido o dendrograma pelo método UPGMA e realizada a dispersão

gráfica dos dados pelo método de ordenação de coordenadas principais utilizando-se de um sistema de três coordenadas.

A expectativa de que progenitores divergentes proporcionem bons híbridos decorre do fato de que a heterose é função dos efeitos da dominância dos genes para o caráter em questão e do quadrado da diferença das frequências gênicas de seus progenitores, além de efeitos epistáticos, que geralmente são negligenciados (FALCONER, 1987).

Independentemente do método utilizado, quantitativo ou preditivo, a definição dos grupos heteróticos visa, primeiramente, escolher a medida de distância (dissimilaridade) a ser utilizada na formação da matriz de distância entre pares de indivíduos, para que, posteriormente, possam ser aplicados métodos multivariados capazes de produzir uma estrutura de grupos.

A análise de grupos implica avaliar a capacidade de alocação ou de discriminação de indivíduos, nos seus respectivos centros de referência (populações), com base nas variáveis avaliadas, bem como formular e testar hipóteses sobre as causas dessa aglomeração ou dispersão. A definição das medidas ou coeficientes de dissimilaridade a serem utilizadas é baseada no tipo de variável sob análise (CRUZ, et al., 2011).

Neste sentido, os microssatélites (SSRs), repetições em tandem de um a seis nucleotídeos, são ferramentas ideais por se distribuírem aleatoriamente no genoma da maioria dos organismos eucariotos, por apresentarem codominância, serem multialélicos, possuírem alto grau de polimorfismo e serem passíveis de detecção por PCR (BARBOSA NETO et al., 2005).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Foram utilizadas para este estudo 49 linhagens parcialmente endogâmicas (F₂S₅) de propriedade da empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda. Quinze destas linhagens foram extraídas de uma população de milho superdoce *sh2* aqui nomeada como PopTe1, cuja origem é Tailandesa e possui características inerentes de germoplasma temperado quanto à qualidade de grãos, com bom desempenho em condições tropicais; vinte e quatro linhagens foram extraídas de uma segunda população PopTe2, também de origem Tailandesa e com o gene *sh2*. Por fim, dez linhagens foram obtidas por meio da introgressão do gene *sh2* em germoplasma de milho comum com boa adaptação às condições tropicais, população esta nomeada como PopTr.

As linhagens provenientes das populações PopTe1 e PopTe2, apresentam boa qualidade de espiga, grãos de coloração amarelo claro, pericarpo fino, alto teor de açúcares e boa textura dos grãos. Observam-se diferenças quanto ao formato da espiga, comprimento de espiga, arquitetura foliar, vigor de planta, altura de planta e altura de inserção de espiga e há linhagens braquíticas. Apesar de serem linhagens com boa adaptação às condições tropicais de cultivo, estas linhagens apresentam-se mais suscetíveis a doenças, especialmente a *Exserohilum turcicum*.

As linhagens provenientes da PopTr, apesar de conterem o gene *sh2*, não apresentam boa qualidade de espiga, sendo os grãos de pericarpo espesso, coloração dos grãos mais intensa e porte de plantas mais alta. Porém, além de terem nível de resistência às doenças mais elevado do que o restante das linhagens em estudo, possuem espigas mais compridas e cilíndricas, caracteres importantes para o milho doce destinado à indústria.

3.2 Extração do DNA

Com o intuito de extrair o DNA para análise da dissimilaridade genética bem como realizar a multiplicação das sementes dos progenitores para a realização dos cruzamentos dialélicos, semearam-se as quarenta e nove linhagens de milho na safra 2014/2015 na Estação Experimental de Bragança Paulista (coordenadas geográficas: 23° S; 47 W), pertencente a empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda.

A parcela utilizada foi de cinco metros lineares, no espaçamento de 0,9 metros entre linhas e 0,2 metros entre plantas, com vinte e cinco plantas após o desbaste. Destas, utilizaram-se dez plantas para realizar a coleta do DNA após trinta dias do semeio, e com auxílio de uma pinça de metal coletaram-se cerca de 300mg de tecido fresco de cada planta, totalizando 490 amostras.

O DNA genômico foi isolado de acordo com a metodologia descrita por Hoisington et al. (1994), com pequenas modificações.

A extração foi realizada em microtubo de centrifugação com capacidade para 1,5 mL, contendo tecido vegetal macerado com nitrogênio líquido e 700 µL de tampão de extração CTAB (Tris-HCl 1M pH 7,5; NaCl 5M; EDTA 0,5M pH 8,0; CTAB 1% e 140 mM de β-mercaptoetanol), previamente preparado.

Os tubos foram agitados e incubados em banho-maria a 65°C, durante 1 hora, realizando-se agitações suaves a cada dez minutos. As amostras foram centrifugadas durante dez minutos a 13.000 rpm. Todo o sobrenadante foi colocado em um novo tubo com 600 µL de clorofórmio:álcool isoamílico, preparado na proporção 24:1, com inversão suave durante três minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas durante dez minutos a 10.000 rpm. A fase aquosa superior foi transferida para microtubos novos de 1,5 mL. Para precipitar o DNA, foram adicionados 0,6 volumes de isopropanol a 4°C por volume de sobrenadante recuperado, misturando-se levemente por inversão por um minuto.

As amostras foram mantidas overnight a -20°C. Em seguida, foram centrifugadas a 13.000 rpm por dez minutos. O sobrenadante foi descartado e foram adicionados 500 µL de etanol 70% gelado seguindo com uma nova centrifugação a 13.000 rpm por dez minutos. Após o descarte do sobrenadante, as amostras foram mantidas em estufa a 37°C para secar o pellet. Adicionaram-se 50 µL de TE com RNase a 40 mg/L. O DNA foi então armazenado a -20°C.

3.3 Seleção de marcadores moleculares microssatélites

Primeiramente, tomou-se uma amostra de nove linhagens, sendo três de cada população, para verificar o polimorfismo de marcadores moleculares microssatélites (SSR) no germoplasma de interesse. Esta etapa do estudo foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos e Eletroforese de Vegetais da Universidade Estadual de Maringá-PR. Todos os microssatélites utilizados foram obtidos a partir do site <http://www.maizegdb.org>.

Deste modo, selecionaram-se vinte marcadores microssatélites que proporcionaram um bom nível de polimorfismo e boa distribuição nos vinte cromossomos do milho. Na Tabela 2, é possível verificar os primers selecionados para este trabalho.

Tabela 2 - Marcadores moleculares SSR selecionados para o estudo da dissimilaridade genética entre as 49 linhagens de milho superdoce.

SSR	Sentido	Sequência de nucleotídeos (5' – 3')	Bin
<i>dupssr6</i>	Forward	GATCCTACCAAATCTTATAGGC	9.02
<i>dupssr6</i>	Reverse	ACAGCTAGCCAAGATCTGATT	
<i>mmc0001</i>	Forward	ATTGAGAAGATGAGAACCGTC	3.09
<i>mmc0001</i>	Reverse	CCTACAAATGCAACAAATGCT	
<i>mmc0501</i>	Forward	TGCTGAACACTCTAAGCAATAC	10.02
<i>mmc0501</i>	Reverse	ATTACTCTACTCGCTGCCTG	
<i>umc1066</i>	Forward	ATGGAGCACGTCATCTCAATGG	7.01
<i>umc1066</i>	Reverse	AGCAGCAGCAACGTCTATGACACT	
<i>umc1069</i>	Forward	AGAGAATCCCCAAGCAAACAAC	8.08
<i>umc1069</i>	Reverse	CTTCATCGGAGCCATGGTGT	
<i>umc1072</i>	Forward	GAGGAGACCGCCTCTGGTTC	5.07
<i>umc1072</i>	Reverse	CTTCGGGTTCTGGACCTTCT	
<i>umc1118</i>	Forward	GTAGTGAAATGAATCGTGAGAGCG	1.11
<i>umc1118</i>	Reverse	ATCAGATTCCGAAGGGTCCATAAT	
<i>umc1137</i>	Forward	ATCAGTCACTCTTCTGCCTCCACT	9.08
<i>umc1137</i>	Reverse	GGCTGGATAATGTTGTAGCTGGTC	
<i>umc1415</i>	Forward	GTGAGATATATCCCCGCCTTCC	8.03
<i>umc1415</i>	Reverse	AGACTTCCTGAAGCTCGGTCCTA	
<i>umc1506</i>	Forward	AAAAGAAACATGTTTCAGTCGAGCG	10.05
<i>umc1506</i>	Reverse	ATAAAGGTTGGAAAACGTAGCCT	
<i>umc1635</i>	Forward	GCTGAGCAGATCTTTCCTTGTTTC	2.05
<i>umc1635</i>	Reverse	AAGGAGCAGAACTCGGAGACG	
<i>umc1757</i>	Forward	TTTTCTGCAGGGATAACATTTGTG	4.01
<i>umc1757</i>	Reverse	ATAGGAGGTGAGGTGAGGAGGAAG	
<i>umc1847</i>	Forward	GCCCAAGGTAGATTTTTACTCTCCA	4.07
<i>umc1847</i>	Reverse	AAGTCGTAGAGCTCGTCGTGATG	
<i>umc1857</i>	Forward	TTCCTTGCCAACAATAACAAGGAT	6.04
<i>umc1857</i>	Reverse	GTTCATTGCTTCATCTTGGAACCT	
<i>umc2059</i>	Forward	GGAAAAGGAGGAACAGTGTAAGCA	6.08
<i>umc2059</i>	Reverse	AGCGTGATCAGACGTACAATGCTA	
<i>umc2164</i>	Forward	AGCACACAGACAAGAGAGACAACG	5.05
<i>umc2164</i>	Reverse	GACCGACAACAGAGATCGAGTACA	
<i>umc2165</i>	Forward	AGAACACCAAATGGTGACGTTATGT	6.07
<i>umc2165</i>	Reverse	CTAGCTCGTCTTCCCTGTGGTCT	
<i>umc2198</i>	Forward	AGCCAGAGAAGGGAAGCAG	5.07
<i>umc2198</i>	Reverse	CTCTTCACTCGCTTCTCCAGA	
<i>umc2246</i>	Forward	AGGCTCCAGCTCTAGGGGAGT	2
<i>umc2246</i>	Reverse	GTGAACTGTGTAGCGTGGAGTTGT	
<i>umc2308</i>	Forward	GTCTGATCCTGATCTTGCCGAGT	5.09
<i>umc2308</i>	Reverse	GGTCCGGAGAATTGATTGTTCTTT	

Dentre os marcadores moleculares selecionados, alguns já foram utilizados anteriormente em trabalhos de dissimilaridade em milho doce, como: *dupssr6*, *umc1066*, *umc1137*, *umc1415*, *umc1757*, *umc1857*, *umc2164*, *umc2198* (LOPES, 2012); *mmc0501*, *umc1072*, *umc1118*, *umc1137*, *umc1415*, *umc1635*, *umc1847*, *umc2059*, *umc2164*, *umc2165*, *umc2246* (SILVA, 2012); e, *umc1506* (LOPES, 2008; RUPP, 2009; LOPES, 2012).

3.4 Amplificação do DNA

As reações de PCR foram realizadas em microplacas de PCR de 96 amostras, usando um termociclador Mastercycler Nexus (Eppendorf). Foram utilizados: 2ng de DNA, 1,35 mL de tampão de reação 10X, 2,6 mM de MgCl₂, 0,8 µM de cada dNTP, 1 U de Taq-DNA Polimerase (Promega), e 0,4 µM de primers Forward e Reverse específicos para um volume final de 13,5 µl .

O programa utilizado foi o touchdown (DON et al, 1991). As condições das amplificações foram: desnaturação inicial de 1 minuto a 94 °C; 10 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 1 minuto de 65 °C com decréscimo de 1 °C a cada ciclo, 2 minutos de 72 °C; 17 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 1 minuto de 55 °C, 2 minutos de 72 °C; extensão final de 2 minutos a 72 °C.

3.5 Eletroforese capilar e leitura dos dados

Utilizando-se os vinte marcadores moleculares SSR selecionados, analisou-se o genótipo de oito indivíduos de cada uma das quarenta e nove linhagens presentes no estudo, totalizando 392 indivíduos.

Após amplificação dos primers SSR o material foi conduzido à eletroforese capilar utilizando o equipamento Fragment Analyzer (Advanced Analytical Technologies Inc.). Os picos foram analisados no software PROSize (Advanced Analytical Technologies Inc.).

Os números de bases nitrogenadas para cada fragmento de DNA foram convertidos em escala numérica, de acordo com o número de alelos por loco. Esta matriz numérica foi obtida atribuindo-se valores de 1 até o número máximo de alelos naquele loco. Assim, se o loco apresenta três alelos, tem-se a representação 11, 22 e 33 para as formas homozigotas e 12, 13 e 23 para as heterozigotas (CRUZ et al., 2011).

3.6 Análise de variância molecular (AMOVA)

Com o intuito de verificar a distribuição da variabilidade genética, bem como a presença de diferença significativa entre as linhagens, entre indivíduos dentro de linhagens e dentro de linhagens, de posse dos dados obtidos com os 20 marcadores moleculares SSR, procedeu-se à análise de variância molecular (AMOVA), descrita por Excoffier et al. (1992).

Para realizar a AMOVA, inicialmente, foi necessário calcular a distância genética entre pares de indivíduos. Para tal, utilizou-se o quadrado da distância euclidiana por meio da expressão abaixo:

$$d_{jk}^2 = (p_j - p_k)'W(p_j - p_k)$$

em que:

p_j e p_k = são os vetores contendo as informações dos marcadores SSR referente as linhagens j e k , respectivamente;

w = matriz de pesos atribuídos a cada informação molecular.

Considerando i indivíduos, j alelos e k linhagens adotou-se para a AMOVA o modelo abaixo:

$$Y_{ki(j)} = Y + a_k + b_{k(i)} + w_{ki(j)}$$

em que:

$Y_{ki(j)}$ = valor entre 0 e 1 referente ao j -ésimo alelo do i -ésimo indivíduo da k -ésima linhagem;

a_k = efeito da k -ésima linhagem, com variância σa^2 ;

$b_{k(i)}$ = efeito da i -ésimo indivíduo dentro da k -ésima linhagem, com variância σb^2 ;

$w_{ki(j)}$ = efeito do j -ésimo alelo do i -ésimo indivíduo da k -ésima linhagem, com variância σw^2 .

Na Tabela 3 pode ser visualizada a análise de variância molecular referente às 49 linhagens e 20 marcadores moleculares SSR.

Tabela 3 - Esquema básico da análise de variância molecular (AMOVA) contendo graus de liberdade (GL), soma de quadrados (SQ), quadrado médio (QM) e esperança de quadrado médio (EQM).

Fonte de variação*	GL	SQ	QM	EQM
Entre linhagens	(k-1)	$\sum x \dots \frac{k^2}{ij} - x \dots^2 /ijk$	QM _a	$\sigma_w^2 + 2\sigma_b^2 + 2n\sigma_a^2$
Entre indivíduos dentro de linhagens	k(i-1)	$\sum x_i \dots \frac{k^2}{j} - \sum \dots k^2 /ij$	QM _b	$\sigma_w^2 + 2\sigma_b^2$
Dentro de linhagens	ki(j-1)	$\sum x_{ijk}^2 - \sum x_i \dots k^2 /j$	QM _w	σ_w^2
Total	kij-1	$\sum x_{ijk}^2 - x \dots^2 /ijk$		-

*A significância referente as fontes de variação da AMOVA foram verificadas por meio do teste de permutação de Monte-Carlo.

3.7 Parâmetros da diversidade genética

A diversidade genética entre as 49 linhagens do estudo foi estimada por meio do programa estatístico GenAlex (PEKALL; SMOUSE, 2006). Os parâmetros da diversidade genética considerados foram: número total de alelos por loco (Na), heterozigose observada (Ho) e esperada (He), e o conteúdo médio de informação polimórfica (PIC).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi estimado de acordo com a equação proposta por Smith et al. (1997):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^N p_i^2$$

em que p_i é a frequência do i-ésimo alelo do loco estudado.

O valor de PIC fornece uma estimativa do poder discriminatório do marcador, por considerar não somente o número de alelos por loco, mas também a frequência relativa desses alelos (CRUZ et al., 2011). De acordo com Botstein et al. (1980), os valores de PIC são classificados em três níveis: a) altamente informativo (PIC>0,5); b) moderadamente informativo (0,5>PIC>0,25) e c) pouco informativo (PIC<0,25).

3.8 Análise discriminante baseada em componentes principais (DAPC)

Para realizar a análise da diversidade genética entre as 49 linhagens através dos dados obtidos dos 20 marcadores moleculares SSR, e, alocá-las em possíveis grupos heteróticos, realizou-se uma análise discriminante baseada em componentes principais (DAPC).

Para esta análise, consideraram-se as informações de um grupo de indivíduos pertencentes a diferentes linhagens, calculando-se uma matriz de variâncias e covariâncias entre as linhagens conforme proposto por Cruz (2008).

Com base na matriz estimada, foram obtidos os componentes principais, independentes entre si e capazes de reter, em ordem de estimação, o máximo da variância originalmente existente entre as linhagens. Esses componentes foram utilizados como funções para discriminar as linhagens avaliadas. Dessas funções, que melhor discriminam as linhagens, foram obtidos os escores a partir dos valores dos indivíduos que pertencem a cada linhagem, de forma que se possa, por meio de análise de dispersão gráfica, avaliar as diversidades entre essas linhagens e os grupos a que pertencem (Cruz, 2008).

Para análise discriminante baseada em componentes principais, considerou-se o seguinte modelo de acordo com (Cruz, 2008):

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + A_{ij}$$

em que:

Y_{ijk} : representa o valor do k-ésimo marcador SSR, do j-ésimo indivíduo, dentro da i-ésima linhagem; (k = 1, 2, ...20);

μ : média geral;

G_i : efeito da i-ésima linhagem (i = 1, 2, ...49);

A_{ij} : efeito do j-ésimo indivíduo, dentro da i-ésima linhagem (j = 1, 2, ...8).

A partir dessas informações, foram obtidas as médias dentro de cada linhagem, dadas por:

$$X_{ik} = \sum_{j=1}^{n_i} Y_{ijk}$$

Para realizar a separação das linhagens em grupos, de posse do arquivo de dados genotípicos obtidos pela análise dos 20 marcadores moleculares SSR, foi utilizada a análise discriminante pelo método K vizinho médio (LEGENDRE; LEGENDRE, 1998). Supôs-se que n_i seja o número de indivíduos da i-ésima linhagem estudada e a dissimilaridade média de um indivíduo a cada linhagem seja obtida pela equação:

$$\bar{D}_i = \sum_{j=1}^{n_i} d_{kj} / n_i$$

sendo d_{kj} a medida de dissimilaridade do indivíduo k , a ser classificado, em relação ao j -ésimo indivíduo da i -ésima linhagem.

Com base na média de todas as distâncias genéticas possíveis de serem estimadas entre os indivíduos, com exceção do indivíduo com ele mesmo, independente da linhagem à qual o indivíduo pertence, definiu-se a linhagem de que ele esteja mais próximo, alocando-a neste.

O número ideal de grupos foi obtido com base no menor valor do critério de informação bayesiano (BIC) (JOMBART, 2008).

3.9 Cruzamentos dialélicos

Com base no agrupamento das linhagens por meio dos marcadores moleculares e no desempenho *per se* para caracteres agronômicos e de qualidade do grão avaliados previamente, foram selecionadas doze linhagens para a realização do dialelo completo obedecendo ao método 2 proposto por Griffing (1956). Na Tabela 4, encontra-se a relação das linhagens selecionadas.

Tabela 4 - Linhagens utilizadas para a obtenção das combinações híbridas.

Linhagem	População de origem	Grupo (DAPC)	Planta braquítica	Espiga (Comprimento/Formato)
1	PopTe1	10	Não	Media/Cônica
2	PopTe1	15	Não	Media/Cônica
3	PopTe1	10	Não	Media/Cônica
4	PopTe1	4	Não	Media/Cônica
5	PopTe1	4	Não	Media/Cônica
6	PopTe2	6	Sim	Curta/Cônica
7	PopTe2	6	Sim	Curta/Cônica
8	PopTe2	2	Não	Media/Cônica
9	PopTe2	16	Não	Media/Cônica
10	PopTe2	13	Sim	Curta/Cônica
11	PopTr	8	Não	Comprida/Cilíndrica
12	PopTr	11	Não	Comprida/Cilíndrica

Os cruzamentos dialélicos foram realizados manualmente na safrinha de 2016 na Estação Experimental de Bragança Paulista, localizada numa latitude de 23° S; 47° W, a 850 metros de altitude, sobre solo classificado como Latossolo Vermelho Distrófico.

Para compor o campo de cruzamentos, as 12 linhagens foram semeadas aos pares, em todas as combinações possíveis, em parcelas de 2 linhas de 10m, em três

épocas, com intervalos de 8 dias para garantir a coincidência do florescimento para a produção dos híbridos. Também foram semeadas duas linhas de cada progenitor para a realização das autofecundações. Os cruzamentos direcionados foram realizados conforme descrito por Borém (1999). As espigas obtidas dos cruzamentos foram colhidas e debulhadas e as sementes selecionadas e identificadas.

3.10 Condução dos experimentos

Foram conduzidos dois experimentos na Estação Experimental de Bragança Paulista. O primeiro experimento foi realizado durante a safra de verão 2016/2017, enquanto o segundo experimento foi realizado na safrinha de 2017. As semeaduras ocorreram nos dias 12/09/2016 e 06/02/2017, respectivamente.

Foram avaliados um total de 81 tratamentos. Sendo: 66 combinações híbridas, provenientes dos cruzamentos dialélicos, segundo o método 2 de Griffing (1956); 12 linhagens progenitoras; e três testemunhas comerciais (AF428 pertencente a empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda, Tropical Plus e Thunder Attribute ambos pertencentes a empresa Syngenta Seeds).

As linhagens e os híbridos foram semeados em sistema de plantio direto, segundo delineamento experimental de látice triplo parcialmente balanceado (9 x 9) com três repetições. A unidade experimental foi constituída por três linhas contíguas, espaçadas de 0,9m entrelinhas, 0,2m entre plantas e com 5m de comprimento. Considerou-se como parcela útil a linha central (4,5m²). A semeadura foi realizada manualmente, depositando-se duas sementes por cova. Cerca de 25 dias após a semeadura foi realizado o desbaste das plantas ajustando-se a densidade final para aproximadamente 55 mil plantas por hectare.

A colheita foi iniciada aos 25 dias após o florescimento feminino de cada tratamento. Um dia anterior à colheita, as linhas de bordadura das parcelas foram avaliadas quanto ao ponto ideal de colheita. O padrão adotado para realizar a colheita dos tratamentos foi quando os grãos atingiram o estágio de grão leitoso, com aproximadamente 72 a 78% de umidade, corroborando com as recomendações de Parentoni et al. (1990).

3.11 Manejo e tratos culturais

A adubação de base e cobertura realizada nos dois experimentos foram idênticas. Foi utilizado como adubação de base, 400 kg ha⁻¹ do formulado NPK 08-20-

20. As quantidades de nitrogênio e potássio aplicadas em cobertura foram parceladas em dois momentos. A primeira adubação de cobertura foi realizada entre os estádios V4 e V5 sendo aplicados 90 kg ha^{-1} de N em forma de uréia (45% N), além de mais 45 kg ha^{-1} de K_2O em forma de cloreto de potássio (KCl). A segunda adubação de cobertura foi feita entre os estádios V7 e V8 aplicando-se os 90 kg ha^{-1} de N (uréia) restantes.

Realizou-se irrigação por aspersão na área experimental em ambos os experimentos conduzidos de acordo com o regime pluvial durante o período da experimentação, da disponibilidade de água no perfil do solo e de acordo com a demanda da cultura.

Foi realizado o mesmo controle de pragas, doenças e plantas daninhas em ambos experimentos. Foram realizadas aplicações dos inseticidas Tiametoxan + Lambdaialotrina, Metomil, Flubendiamida e Clorantraniliprole nas suas respectivas doses recomendadas. Para controle das doenças, foi realizada uma aplicação do fungicida Azoxistrobina + Ciproconazol ($0,3 \text{ l ha}^{-1}$) durante o estágio fenológico VT (pré-pendoamento). Já para controle de plantas daninhas, foram realizadas duas aplicações ao longo do ciclo da cultura, combinando os herbicidas Tembotriona + Atrazina nas suas respectivas doses recomendadas.

3.12 Caracteres avaliados

Avaliaram-se os seguintes caracteres nos dois experimentos realizados:

Altura de planta (AP): para tal, fez-se o uso de uma régua de madeira e tomou-se uma amostra de 10 plantas por parcela, sendo que, cada planta foi aferida do nível do solo até a inserção da folha bandeira;

Altura de inserção da espiga (AE): nas mesmas 10 plantas utilizadas para obtenção da AP, mediu-se do nível do solo até a inserção da espiga superior do colmo;

Produção total com palha (PTCP): massa total referente ao montante de espigas colhidas na parcela. Os dados foram convertidos para t ha^{-1} .

Produção comercial sem palha (PCSP): massa de todas as espigas classificadas como comerciais ($\geq 15\text{cm}$) colhidas na parcela. Os dados foram convertidos para t ha^{-1} . Não foi realizado o descarte das espigas menores que 15cm referente as parcelas onde estavam alocadas as linhagens.

Comprimento de espiga comercial sem palha (CE): comprimento médio de oito espigas sem palha, em cm;

Altura de grãos (AG): mediu-se o diâmetro, na posição mediana, de oito espigas comerciais sem palha, e, após a quebra das espigas, mediu-se o diâmetro do sabugo na mesma posição. A altura dos grãos foi obtida subtraindo-se do diâmetro médio da espiga o diâmetro médio do sabugo e o resultado desta operação foi dividido por dois. Assim obteve-se a altura de grãos, em cm;

Número de fileira de grãos em espigas comerciais (FG): média do número de fileira de grãos obtida da contagem de oito espigas comerciais.

3.13 Análise de variância

Dentre as possibilidades de análise de experimentos em látice, optou-se pela realização da análise de variância intrabloco com recuperação da informação interblocos para obtenção das médias ajustadas com base na variância efetiva média. O modelo matemático e estatístico que descreve o delineamento utilizado está representado abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + b(r)_{jk} + r_j + \varepsilon_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} = valor observado no i-ésimo tratamento presente no k-ésimo bloco alocado na j-ésima repetição.

μ : média geral.

t_i : efeito aleatório do i-ésimo tratamento [$i=1, 2, \dots, I$ ($v = 81$)].

r_j : efeito aleatório da j-ésima repetição [$j=1, 2, \dots, J$ ($r = 2$)].

$b(r)_{jk}$: efeito aleatório do k-ésimo bloco dentro da j-ésima repetição [$k=1, 2, \dots, K$ ($k=18$)].

ε_{ijk} : erro experimental $\varepsilon_{ijk} \sim \text{NID}(0, \sigma^2_{\text{comum}})$.

Após a realização da análise de variância do látice por meio da análise intrabloco e a recuperação da informação interblocos, as médias ajustadas foram utilizadas para estimar a soma de quadrado de tratamentos ajustada, conforme descrita por Silva et al. (1999) pela seguinte expressão:

$$SQ_{\text{Trat}}(ajust) = r \left[\sum_{i=1}^t \hat{m}_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^t \hat{m}_i \right)^2}{t} \right]$$

em que:

\hat{m}_i = média ajustada do i-ésimo tratamento, obtida por meio da análise de variância intrablocos do látice com recuperação da informação interblocos.

t = número de tratamentos.

Utilizou-se como variância residual para compor o teste de F da análise de variância o quadrado médio do erro efetivo médio (variância efetiva) da análise de variância intrablocos conforme indicado por Cochran e Cox (1957), cuja expressão é:

$$V_r' = \left[1 + \left[\frac{r}{(r-1)(k+1)} * \frac{(V_b - V_r)}{V_b} \right] \right] * V_r$$

em que:

r = número de repetições dos tratamentos.

k = número de tratamentos por bloco.

V_r = quadrado médio do resíduo da análise de variância intrablocos

V_b = quadrado médio de blocos dentro de repetições ajustado.

A Tabela da análise de variância individual para o delineamento látice triplo parcialmente balanceado com recuperação da informação interblocos, a partir da análise intrablocos pode ser visualizada na Tabela 5.

Tabela 5 - Esquema básico da análise de variância individual para o delineamento em látice triplo parcialmente balanceado.

Fontes de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Repetição	r-1	SQR	QMR	-
Blocos/Repetição (aj.)	r(k-1)	SQBdR	QMBdR	-
Tratamentos (aj.)	k-1	SQT	QMT	QMT/QME
Erro Efetivo	(k-1)(rk-k-1)	SQE	QME	
Total	rv-1	SQ total	QM total	

Os graus de liberdade dos tratamentos foram desdobrados em: híbridos (F_1), progenitores (P), testemunhas (T), contraste 1 (F_1 vs T), e, contraste 2 [P vs ($F_1 + T$)]. Deste modo, a distribuição dos graus de liberdade está representada na Tabela 6.

Tabela 6 – Desdobramento dos graus de liberdade da ANOVA individual.

Fonte de Variação	GL
Repetições	2
Bloco/Rep. (aj.)	24
Tratamentos (aj.)	(80)
<i>Híbridos (F₁)</i>	65
<i>Progenitores (P)</i>	11
<i>Testemunhas (T)</i>	2
<i>F₁ vs T</i>	1
<i>P vs (F₁ + T)</i>	1
Erro efetivo	136

3.14 Análise de variância conjunta

Antes de proceder com a análise de variância conjunta para os caracteres AP, AE, PTCP, PCSP, CE, AG e FG avaliados nos dois experimentos, procedeu-se com a verificação da existência de homogeneidade entre os quadrados médios do erro efetivo médio das análises de variância individuais. Como critério para realização da análise conjunta, adotou-se um valor de relação entre variâncias residuais menores ou iguais que 4:1 de acordo com Pimentel Gomes (2000).

Após verificar a possibilidade de análise conjunta, realizaram-se análise de variância conjunta do látice como blocos completos com tratamentos ao acaso, utilizando-se as médias ajustadas dos tratamentos da análise de recuperação da informação interblocos e tendo como quadrado médio do resíduo, a variância efetiva média das análises individuais conforme sugerido por Regazzi et al. (1999), seguindo modelo matemático e estatístico descrito abaixo:

$$Y_{il} = \mu + r(p)_{jp} + T_i + E_l + Tx E_{il} + \varepsilon_{il}$$

em que:

Y_{ik} = valor médio ajustado do tratamento i , no ambiente k ;

μ = média geral do experimento;

$r(p)_{jp}$ = efeito da j -ésima repetição dentro do p -ésimo ambiente.

T_i = efeito aleatório do i -ésimo tratamento [$i=1, 2, \dots, I$ ($v = 81$)]

E_l = efeito aleatório do l -ésimo ambiente [$l=1, 2$]

TxE_{il} = efeito aleatório da interação entre o i -ésimo tratamento com o l -ésimo ambiente;

ε_{il} = erro experimental médio.

Para a realização da análise de variância conjunta, utilizou-se as médias ajustadas das análises de variância individuais do látice com uso da informação intrabloco e recuperação da informação interbloco. Para isso, foi montada uma Tabela que reuniu as médias ajustadas dos $v=k^2$ tratamentos nos “s” ambientes (Tabela 7).

Tabela 7 – Esquema da tabela de dupla entrada das médias dos “v” tratamentos nos “s” ambientes avaliados utilizados na obtenção das somas de quadrado da análise conjunta do látice.

Trat\Amb.	1	2	...	P	Total
1	\hat{m}_{11}	\hat{m}_{12}	...	\hat{m}_{1p}	$\hat{m}_{1.}$
2	\hat{m}_{21}	\hat{m}_{22}	...	\hat{m}_{2p}	$\hat{m}_{2.}$
...
T	$\hat{m}_{.1}$	$\hat{m}_{.2}$...	$\hat{m}_{.p}$	$\hat{m}_{..}$
Total	$\hat{m}_{.1}$	$\hat{m}_{.2}$...	$\hat{m}_{.s}$	$\hat{m}_{..}$

Fonte: adaptado de Regazzi et al. (1999).

Tomando como base os valores observados na Tabela 7, e por meio das expressões matemáticas, foram obtidas as somas de quadrado que compõem a Tabela de análise de variância conjunta para o delineamento em látice. O erro efetivo médio da análise de variância conjunta (V_r') é composto pela média dos resíduos das análises individuais. Com posse de tais informações, pode-se visualizar na Tabela 8 o esquema de análise de variância conjunta adotado neste trabalho.

$$SQAmb = r \left[\frac{1}{v} \sum_{i=1}^a \hat{m}_{ip}^2 - \frac{\hat{m}_{..}^2}{ip} \right]$$

$$SQTrat_{(ajustado)} = r \left[\frac{1}{s} \sum_{i=1}^t \hat{m}_i^2 - \frac{\hat{m}_{..}^2}{ip} \right]$$

$$SQTrat, Amb = r \left[\sum \hat{m}_{ip}^2 - \frac{\hat{m}_{..}^2}{vp} \right]$$

$$SQTrat * amb = SQT, E - SQTrat_{(ajust.)} - SQAmb$$

$$V_r' = \left\{ 1 + \left[\frac{r}{(r-1)(k+1)} * \frac{(V_b - V_r)}{V_b} \right] \right\} * V_r$$

em que:

r = número de repetições;

t = número de tratamentos;

a = número de safras;

V_b = quadrado médio da análise intrabloco, correspondente a fonte de variação bloco dentro de repetições (ajustado)

V_r = quadrado médio do resíduo intrablocos.

Tabela 8 – Esquema de análise de variância conjunta para o delineamento látice triplo parcialmente balanceado.

Fonte de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos (aj.)	$k2 - 1$	SQTrat(aj.)	QMTrat(aj.)	QMT/QME'
Ambientes	$a - 1$	SQAmb.	QMAmb.	QMAmb/QME'
Tratamentos x Amb.	$(k2-1)(a-1)$	SQTratxAmb	QMTratxAmb	QMTxAmb/QME'
Erro efetivo médio	$a(k-1)(rk-k-1)$	SQME'	V_r'	

Da mesma maneira como foi feito na análise de variância individual, os graus de liberdade dos tratamentos para a análise conjunta também foram desdobrados em: híbridos (F_1), progenitores (P), testemunhas (T), contraste 1 (F_1 vs T), e, contraste 2 [P vs ($F_1 + T$)]. Deste modo, a distribuição dos graus de liberdade está representada na Tabela 9.

Tabela 9 – Desdobramento dos graus de liberdade da ANOVA conjunta.

Fonte de Variação	GL
Tratamentos	(80)
Híbridos (F_1)	65
Progenitores (P)	11
Testemunhas (T)	2
F_1 vs T	1
P vs (F_1+T)	1
Ambientes (A)	1
Tratamentos x A	(80)
F_1 x A	65
P x A	11
T x A	2
(F_1 vs T) x A	1
((P vs (F_1+T)) x A	1
Erro efetivo médio	272

3.15 Análise de variância do dialelo

A análise dialélica foi realizada de acordo com o método 2 de Griffing (1956), considerado um dialelo balanceado com seus híbridos F₁ e seus progenitores. Os graus de liberdade da análise de variância dos efeitos de tratamentos foram decompostos segundo o modelo:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

em que:

μ = o efeito fixo da média;

g_i e g_j = efeito da capacidade geral de combinação dos genótipos de ordem i e j , respectivamente;

s_{ij} = efeito da capacidade específica de combinação do cruzamento ij ;

ε_{ij} = erro experimental médio associado às médias da tabela dialélica.

O esquema da análise de variância dialélica está representada na Tabela 10.

Tabela 10 - Esquema de análise de variância dialélica, Método 2, envolvendo progenitores e F₁, segundo Griffing (1956).

FV	GL	SQ	QM	F(fixo)	F(aleatório)
CGC	p-1	SQCGC	QMG	QMG/QMR	QMG/QMS
CEC	p(p-1)/2	SQCEC	QMS	QMS/QMR	QMS/QMR
Resíduo	m		QMR		

Para a obtenção das estimativas dos efeitos de g_i ; g_j ; s_{ij} e r_{ij} serão adotadas as seguintes restrições: $\sum g_i = 0$; $\sum g_j = 0$; $\sum s_{ij} = 0$ ($i = 1, 2, \dots, p$).

3.16 Análise de variância conjunta do dialelo

A análise dialélica conjunta foi realizada para os caracteres AP, AE, PTCP, PCSP, CE, AG e FG avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017.

O modelo utilizado para realizar a análise conjunta foi o de Griffing (1956) na qual se considerou as combinações híbridas F₁'s e seus progenitores, avaliando a interação entre as fontes de variação capacidade geral e específica de combinação com os ambientes, seguindo o seguinte modelo matemático e estatístico:

$$Y_{ijk} = u + g_i + g_j + s_{ij} + E_k + GE_{ik} + GE_{jk} + SE_{ijk} + \bar{e}_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} = média ajustada associada ao i-ésimo progenitor e o j-ésimo progenitor no k-ésimo ambiente;

μ = média geral do dialelo;

g_i e g_j = efeito da capacidade geral de combinação dos genótipos de ordem i e j, respectivamente;

s_{ij} = efeito da capacidade específica de combinação entre o i-ésimo genitor e o j-ésimo genitor;

E_k = efeito do k-ésimo ambiente;

GE_{ik} = efeito da interação entre a capacidade geral de combinação do i-ésimo genitor com o k-ésimo ambiente.

GE_{jk} = efeito da interação entre a capacidade geral de combinação do j-ésimo genitor com o k-ésimo ambiente.

SE_{ijk} = efeito da interação entre a capacidade específica de combinação híbrida obtida entre o i-ésimo genitor com o j-ésimo genitor avaliado no k-ésimo ambiente.

\bar{e}_{ijk} : erro experimental médio combinado

Para a realização da análise do dialelo conjunta, utilizou-se como grau de liberdade do resíduo combinado, a soma dos graus de liberdade das análises dialélicas individuais. Neste mesmo sentido, como quadrado médio do erro efetivo médio para a análise dialélica foram utilizados os erros associados a cada característica avaliada nas safras de verão 2016/2017 e na safrinha de 2017, sendo posteriormente feita uma média aritmética dos erros.

3.17 Método de agrupamento baseado nas estimativas de CEC

A fim de obter outro método de agrupamento das linhagens como opção para validar e verificar a coincidência na formação dos grupos através dos dados moleculares, considerou-se as estimativas de CEC como medidas de distância genética entre os 12 progenitores utilizados nos cruzamentos dialélicos. Para gerar a matriz de dissimilaridade genética, foi adicionado uma constante à estimativa de CEC a fim de torná-las todas de sinal positivo, corroborando com o trabalho realizado por Pinto et al. (2001).

De posse da matriz de dissimilaridade, utilizou-se o método de agrupamento de otimização de Tocher.

3.18 Correlação de Pearson

Antes de proceder com a análise de correlação entre os caracteres de interesse, obteve-se estimativas de dissimilaridade genética baseada nos dados obtidos com o uso dos 20 marcadores SSR. Foi utilizada a distância genética de Rogers a fim de obter correlação desta estimativa principalmente com as estimativas de CEC, com o objetivo de validar e comparar os dois métodos de agrupamento, baseado nos dados moleculares e nas estimativas de CEC, respectivamente.

Com o intuito de verificar o grau de associação e a medida da intensidade entre a distância genética de Rogers, CEC e as médias obtidas; fez-se o estudo de correlação para os caracteres: AP, AE, PTCP, PCSP, CE, AG e FG. Além de verificar qual parâmetro foi mais eficiente na determinação dos grupos heteróticos, objetivou-se também identificar qual caractere foi mais relevante para distinção dos grupos.

O método matemático para cálculo do coeficiente de correlação foi estabelecido por Karl Pearson, em 1896. Por essa razão é denominado Coeficiente de Correlação de Pearson.

A correlação é dada pela equação abaixo:

$$r = \frac{(\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}))}{(\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \sum_i (y_i - \bar{y})^2})}$$

em que:

r = correlação entre os dois caracteres analisados;

x e y = caracteres entre os quais se deseja obter correlação;

A média aritmética dos caracteres é dada por:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \left(\sum x_i \right)$$

$$\bar{y} = \frac{1}{n} \left(\sum y_i \right)$$

3.19 Programas estatísticos utilizados

Para a realização das análises de variância dos experimentos, análise de variância dos dialelos, obtenção das distâncias genéticas de Rogers, agrupamento pelo método de Tocher e análise de correlação de Pearson, utilizou-se o software estatístico Genes (CRUZ, 2013).

A análise de variância molecular (AMOVA) foi realizada utilizando o programa estatístico R através do pacote “poppr” nele instalado. Para verificar se houve

diferença significativa entre as linhagens do estudo, realizou-se um teste de permutação de Monte-Carlo utilizando a função “randtest” do pacote “ade4”. Para realizar a análise discriminante baseada em componentes principais, utilizou-se o pacote “Adegenet” instalado no programa R, e, o número de grupos foi definido utilizando-se a função “find.clusters”. O programa estatístico R está disponível para utilização no endereço eletrônico (<http://www.r-project.org/>).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros da diversidade genética

Com base nos vinte primers SSR utilizados no estudo da diversidade genética de 49 linhagens de milho superdoce (*sh2*), observou-se um total de setenta e sete alelos, variando de dois a seis alelos por loco, e, com número médio de alelos por loco de 3,85. Os primers *umc1069* e *umc2308*, com seis alelos cada, foram os que apresentaram maior número de alelos por loco; seguidos de *dupssr6* e *umc1066* com cinco alelos; *mmc001*, *mmc0501*, *umc1118*, *umc1137*, *umc1415*, *umc1506*, *umc1757*, *umc1857*, *umc2164* e *umc2165* com quatro alelos; *umc1072*, *umc1635* e *umc2198* com três alelos; e; *umc1847*, *umc2059* e *umc2246* com dois alelos por loco.

Alguns marcadores moleculares utilizados neste estudo também fizeram parte de estudos de diversidade genética por outros autores (LOPES, 2012; SILVA, 2012). Os referidos autores também usaram marcadores moleculares descritos em milho comum para estudo em germoplasma de milho especial, doce e pipoca. Na Tabela 11, é possível verificar o número de alelos por loco para cada primer SSR utilizado no estudo, bem como compará-los com resultados obtidos em milho pipoca (Silva, 2012) e em milho doce (LOPES, 2012).

O número menor de alelos por loco nos marcadores moleculares *umc1072*, *umc1118*, *umc1635*, *umc2059* e *umc2246*, quando comparado ao trabalho de Silva (2012), pode ser explicado pelo menor número de plantas amostradas por tratamento, sendo esta diferença de sete plantas.

Na Tabela 12 é possível observar que a heterozigosidade média observada foi menor que a heterozigosidade média esperada para a maioria dos primers utilizados, corroborando com os dados obtidos em milho pipoca por Silva (2012). Outro dado comum nos dois trabalhos foi o fato do primer *umc1072* ser o de maior valor para H_o e H_e . Heterozigosidade média observada inferior à heterozigosidade média esperada também foi observada em trabalhos de diversidade genética em milho doce de Lopes (2008), Rupp (2009) e Lopes (2012).

Tabela 11 – Número de alelos por loco (Na) para os 20 marcadores moleculares SR utilizados no estudo em comparação com resultados obtidos por outros autores.

SSR	Presente estudo	Lopes (2012)	Silva (2012)
<i>dupssr6</i>	5	2	
<i>mmc0001</i>	4		
<i>mmc0501</i>	4		4
<i>umc1066</i>	5	4	
<i>umc1069</i>	6		
<i>umc1072</i>	3		4
<i>umc1118</i>	4		5
<i>umc1137</i>	4	3	4
<i>umc1415</i>	4	3	4
<i>umc1506</i>	4	3	
<i>umc1635</i>	3		5
<i>umc1757</i>	4	3	
<i>umc1847</i>	2		2
<i>umc1857</i>	4	4	
<i>umc2059</i>	2		3
<i>umc2164</i>	4	4	4
<i>umc2165</i>	4		3
<i>umc2198</i>	3	2	
<i>umc2246</i>	2		5
<i>umc2308</i>	6		
Média	3,85	3,11	3,66

No presente trabalho os valores de heterozigosidade média observada e esperada são inferiores aos obtidos por Lopes (2008), Rupp (2009), Silva (2012) e Lopes (2012), cujos valores para H_o são de 0,17, 0,16, 0,22 e 0,16, respectivamente, e; para H_e são de 0,51, 0,32, 0,36 e 0,32, respectivamente. Destaca-se que nos referidos trabalhos utilizaram-se para estudo da diversidade genética linhagens S_4 extraídas de uma população denominada BRS401 (Rupp, 2009); linhagens S_5 (Lopes, 2008); híbridos e variedades de polinização aberta (Silva, 2012; Lopes, 2012); ao passo que neste trabalho realizou-se o estudo de linhagens mais avançadas F_2S_5 e que sofreram forte pressão de seleção durante os ciclos de incremento da endogamia.

Segundo Morales et al. (2010), as diferenças entre estudos de diversidade genética podem ser atribuídas, principalmente, às diferenças no tamanho da amostra e à base genética das populações analisadas. As populações de milho doce são originadas por mutações naturais, fato que pode acarretar redução na variabilidade, principalmente devido ao efeito fundador, o que resultaria em uma baixa variabilidade genética (ALMEIDA et al., 2011). Ainda, segundo Lopes (2012), genótipos com

heterozigosidade alta podem ser considerados, a médio e longo prazo, como promissores para o processo de seleção, geração de linhagens e futura produção de novas cultivares.

Mesmo pertencendo à mesma espécie que o milho comum, em estudos que comparam a diversidade genética nos locos microssatélites de linhagens e populações de polinização aberta de milho comum, de outras espécies do gênero *Zea*, e de milhos com características especiais, tais como o milho pipoca e o milho doce, o milho doce tem apresentado um número de alelos por loco menor e valores de heterozigosidade média também menores que os verificados para o milho comum (Liu et al., 2003). Esta baixa variação alélica em milho doce pode ser explicada pelo fato deste germoplasma apresentar menor número de acessos, menor entrada de materiais coletados com produtores e maior quantidade de acessos provenientes de melhoramento. Portanto, é esperada menor variação genética em relação ao milho comum.

Outro parâmetro para análise da diversidade genética é o conteúdo de informação de polimorfismo (PIC), o qual fornece uma estimativa do poder discriminatório do marcador e reflete o grau de polimorfismo detectado a partir de um determinado par de primer, que está diretamente relacionado com a variabilidade da região nos genótipos avaliados (WIETHOLTER, 2005). De acordo com Botstein et al. (1980), os valores de PIC são classificados em três níveis: a) altamente informativo ($PIC > 0,5$); b) moderadamente informativo ($0,5 > PIC > 0,25$) e c) pouco informativo ($PIC < 0,25$).

Tabela 12 – Parâmetros genéticos avaliados com 20 marcadores moleculares SSR em 49 linhagens de milho. Heterozigosidade média observada (Ho), heterozigosidade média esperada (He) e conteúdo de informação de polimorfismo (PIC).

SSR	Parâmetro genético		
	Ho	He	PIC
<i>dupssr6</i>	0.07	0.07	0.47
<i>mmc0001</i>	0.08	0.07	0.50
<i>mmc0501</i>	0	0.04	0.52
<i>umc1066</i>	0.04	0.05	0.59
<i>umc1069</i>	0.11	0.12	0.79
<i>umc1072</i>	0.16	0.14	0.52
<i>umc1118</i>	0.06	0.09	0.58
<i>umc1137</i>	0.09	0.09	0.53
<i>umc1415</i>	0.05	0.04	0.26

(Continuação Tabela 12)

SSR	Parâmetro genético		
	Ho	He	PIC
<i>umc1506</i>	0.09	0.09	0.62
<i>umc1635</i>	0.06	0.07	0.60
<i>umc1757</i>	0.05	0.07	0.61
<i>umc1847</i>	0.05	0.05	0.48
<i>umc1857</i>	0.08	0.07	0.46
<i>umc2059</i>	0.03	0.03	0.13
<i>umc2164</i>	0.12	0.11	0.59
<i>umc2165</i>	0.01	0.05	0.24
<i>umc2198</i>	0.03	0.04	0.11
<i>umc2246</i>	0.04	0.03	0.48
<i>umc2308</i>	0.11	0.15	0.54
Média	0.066	0.073	0.48
DP	0.006	0.005	0.001

Desta forma, os marcadores moleculares *mmc0501*, *umc1066*, *umc1069*, *umc1072*, *umc1118*, *umc1137*, *umc1506*, *umc1635*, *umc1757*, *umc2164* e *umc2308* seriam classificados como altamente informativos; *dupssr6*, *mmc001*, *umc1415*, *umc1847*, *umc1857* e *umc2246* como moderadamente informativos, e; *umc2059*, *umc2165* e *umc2198* como pouco informativos. Segundo Terra et al. (2011), os baixos valores de PIC, como por exemplo os valores obtidos para os marcadores moleculares *umc2059*, *umc2165* e *umc2198*, indicam que a região é conservada para o grupo de genótipos estudados. Sendo assim, a substituição destes marcadores moleculares seria recomendada para estudos de diversidade genética futuros.

O fato de haver três marcadores moleculares considerados como pouco informativos para o presente estudo, não prejudica a análise de diversidade genética e formação dos grupos heteróticos entre as 49 linhagens de milho superdoce. Rupp et al. (2009), trabalhando com 13 marcadores SSRs polimórficos para 15 progênies de milho doce (*su1*), estudaram a diversidade genética dos genótipos em questão bem como a utilização destes marcadores moleculares. O estudo sugere que 6 (46%) dos 13 marcadores SSRs utilizados já seriam suficientes para o estudo da diversidade genética das progênies estudadas e também sugere que a alta diversidade genética observada entre as 15 progênies tornaria viável a formação de grupos heteróticos.

O valor médio de PIC de 0,48 encontra-se bem próximo dos valores médios obtidos por outros autores que realizaram trabalhos semelhantes com a cultura do milho. Bered et al. (2005) obtiveram valor médio de PIC de 0,57 trabalhando com populações de milho doce, Almeida et al. (2011) valor de 0,5 em populações de milho

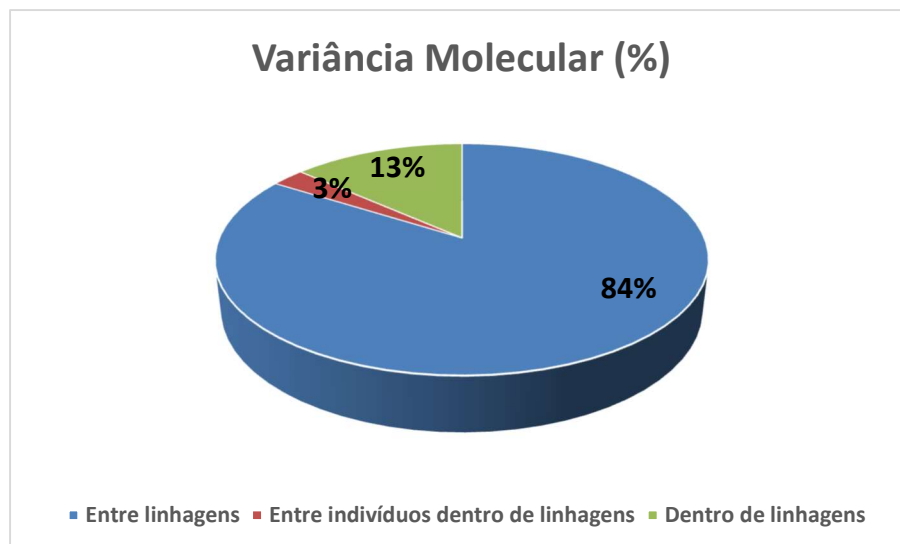
comum e teosinte, Silva (2012) valor de 0,53 em milho pipoca e Lopes (2012) valor de 0,41 trabalhando com híbridos e variedades de polinização aberta de milho doce.

4.2 Análise de variância molecular (AMOVA)

A análise de variância molecular (AMOVA), Figura 1, revelou que a maior parte da variabilidade existente se dá devido a fonte de variação entre as linhagens avaliadas. Uma pequena parte da variação foi observada entre indivíduos dentro de linhagens. Almeida (2003) observou a mesma tendência quanto à distribuição da variância molecular. Tais valores indicam que o ganho de seleção executando seleção dentro de linhagens seria baixo, porém, o fato da variação entre as linhagens ser superior, sugere que cruzamentos entre as linhagens poderão ter maior progresso genético, pelo fato destas terem frequências alélicas distintas. Tal afirmação, justifica a importância de se definir grupos heteróticos em programas de melhoramento de milho.

Trabalhando com linhagens de milho e marcadores SSR, Gethi et al. (2002) também constataram que a maior parte da variação alélica estava entre as linhagens (87,5%), ao passo que 7,6% entre indivíduos dentro de linhagens, e, 4,6% dentro de linhagens. Os autores reafirmam que este comportamento é inerente de trabalhos realizados com linhagens, o que diminui a heterozigosidade e a variação entre indivíduos devido a autofecundação, conseqüentemente a variação tende a ser entre as linhagens (ALMEIDA, 2003).

Figura 1 – Análise de variância molecular (AMOVA) entre 49 linhagens de milho superdoce utilizando 20 marcadores moleculares SSR.



4.3 Agrupamento baseado na análise discriminante de componentes principais (DAPC)

As 49 linhagens foram distribuídas em dezesseis grupos conforme, análise discriminante de componentes principais com vinte marcadores SSR conforme apresentado na Figura 2.

As linhagens extraídas das populações “PopTe1” e “PopTe2” foram distribuídas em cinco grupos cada. Já as linhagens provenientes da população “PopTr” foram alocadas em seis grupos. Na Tabela 13 encontra-se a distribuição das 49 linhagens em seus respectivos grupos.

Não houve aglomeração de linhagens provenientes de populações distintas para todos os dezesseis grupos formados. As linhagens de planta braquítica provenientes da população “PopTe2” foram reunidas em dois principais grupos: grupo seis com cinco linhagens braquíticas em um total de oito linhagens e grupo treze com três linhagens braquíticas em um total de quatro linhagens.

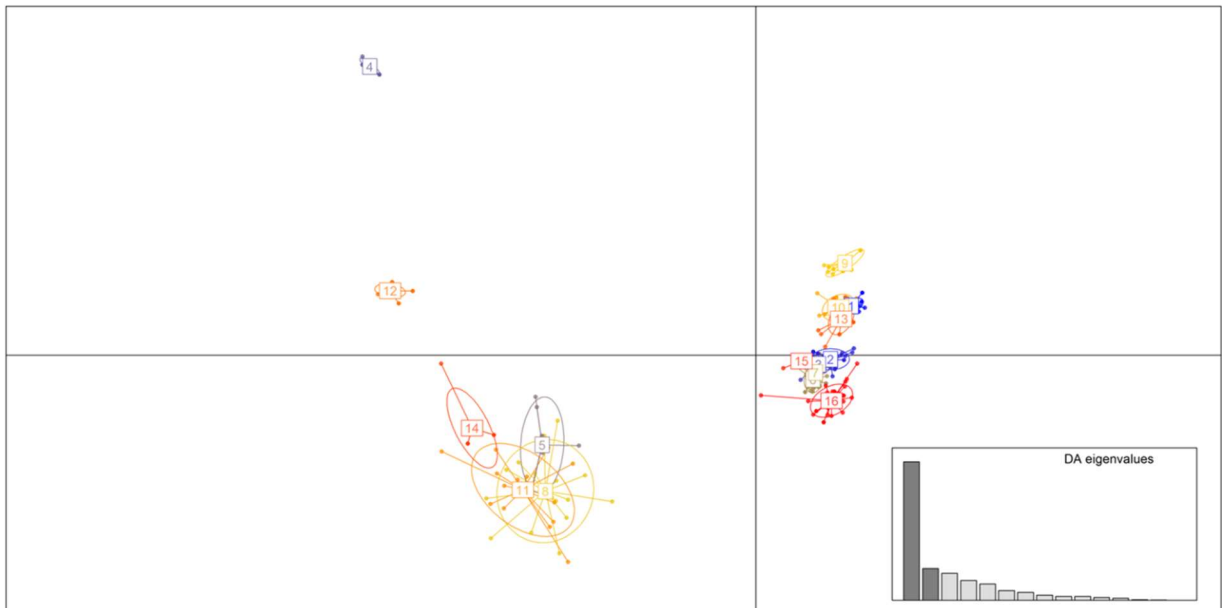
De acordo com a Figura 2 é possível identificar três grandes aglomerados. O primeiro situado na parte superior direita da figura, encontra-se a maioria das linhagens provenientes da população “PopTe1” que foram reunidas nos grupos 1, 9 e 10. O grupo 13 foi uma exceção por conter linhagens provenientes da população “PopTe2” e que na sua maioria são de plantas braquíticas. O segundo grande aglomerado está localizado na parte inferior direita da figura, com a maioria das linhagens provenientes da população “PopTe2” representadas pelos grupos 2, 6, 7 e 16, sendo os grupos 3 e 15 as exceções pois se tratam de linhagens provenientes da população “PopTe1”. O terceiro aglomerado alocado na parte inferior esquerda da figura, trata-se do aglomerado com maior distância quando comparado aos dois primeiros. No terceiro aglomerado, estão as linhagens provenientes da população “PopTr”. Tal fato era esperado, pois a população “PopTr” possui origem e características morfológicas totalmente distintas das outras duas populações estudadas no presente trabalho.

Tabela 13 – Distribuição das 49 linhagens em seus respectivos grupos baseado na análise discriminante de componentes principais com 20 marcadores SSR.

Grupos	População de origem	Número de linhagens
G1	PopTe1	3
G2	PopTe2	3
G3	PopTe1	3
G4	PopTr	1
G5	PopTr	1
G6	PopTe2	8
G7	PopTe2	4
G8	PopTr	2
G9	PopTe1	3
G10	PopTe1	4
G11	PopTr	2
G12	PopTr	3
G13	PopTe2	4
G14	PopTr	1
G15	PopTe1	2
G16	PopTe2	5

De posse de tais resultados, há um grande indício de que o estudo levará à formação de grupos heteróticos eficientes e condizentes com as características morfológicas e com a origem das diferentes populações estudadas. Solomon et al. (2011), trabalhando com 10 progenitores de milho superdoce (*sh2*) e utilizando 20 marcadores SSR, dividiram os 10 progenitores do estudo em 3 grupos os quais também corroboraram com sua genealogia, alocando-se progenitores que se originaram da mesma população no mesmo grupo.

Figura 2 - Scatterplots baseados na análise DAPC em linhagens de milho superdoce avaliadas com 20 marcadores moleculares SSR.



4.4 Análise de variância

De acordo com os critérios de classificação de coeficiente de variação para os caracteres altura de espiga e produtividade na cultura do milho, propostos por Scapim et al. (1995) e atualizados por Fritsche Neto et al. (2012), os coeficientes de variação obtidos nos experimentos conduzidos na safra 2016/2017 e safrinha 2017 com as combinações híbridas, progenitores e testemunhas foram classificados como médio a baixo, deixando evidente a boa precisão experimental durante a condução e avaliação dos experimentos (Tabelas 14 e 15).

Houve menor precisão experimental para os caracteres AP e PCSP no experimento conduzido durante a safra 2016/2017. Ao passo que para os outros caracteres os coeficientes de variação se mantiveram com a mesma magnitude em ambos experimentos

Os resultados obtidos nas análises de variância individual indicaram diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos para todos os caracteres avaliados, demonstrando haver variabilidade genética suficiente para aplicar a seleção em programas de melhoramento genético visando a seleção de genótipos superiores.

Apesar da afirmação de Almeida et al. (2011) de que as populações de milho doce/superdoce serem provenientes de mutações naturais, fato que pode acarretar em redução na variabilidade, principalmente devido ao efeito fundador, resultando em uma baixa variabilidade genética, diversos trabalhos na literatura comprovam o

contrário e atestam a existência de variabilidade genética significativa para os principais caracteres inerentes à cultura do milho superdoce, corroborando com o presente trabalho (VOLTZ, 2002; ASSUNÇÃO, 2006; SOLOMON et al., 2011; SRDIC et al., 2011; SOLOMON et al., 2012; YUWONO et al., 2017).

Tabela 14 - Resumo da análise de variância individual para os caracteres: altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP) e produtividade comercial sem palha (PCSP); avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017 em 81 genótipos de milho superdoce.

Safra 2016/2017					
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			
		AP (m)	AE (m)	PTCP (t ha ⁻¹)	PCSP (t ha ⁻¹)
Repetições	2	0,025	0,003	259,373	98,67
Bloco/Rep. (aj)	24	0,074	0,015	7,494	7,199
Tratamentos (aj)	(80)	0,253*	0,087*	43,443*	20,233*
<i>Híbridos (F₁)</i>	65	0,180*	0,065*	16,415*	8,192*
<i>Progenitores (P)</i>	11	0,188*	0,084*	14,042*	3,242
<i>Testemunhas (T)</i>	2	0,059	0,125*	24,063*	27,368*
<i>F₁ vs T</i>	1	0,374*	0,186*	71,516*	9,163
<i>P vs (F₁+T)</i>	1	5,925*	1,372*	2134,379*	986,558*
Erro efetivo	136	0,0867	0,0063	5,7996	4,5558
Média	-	2,51	1,39	20,93	9,76
CV (%)	-	11,72	5,70	11,50	21,86
Efic. látice (%)	-	97,75	112,58	101,25	103,85
Safrinha 2017					
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			
		AP (m)	AE (m)	PTCP (t ha ⁻¹)	PCSP (t ha ⁻¹)
Repetições	2	0,314	0,244	206,802	35,675
Bloco/Rep. (aj)	24	1,540	0,012	3,240	1,344
Tratamentos (aj)	(80)	0,219*	0,111*	43,634*	23,766*
<i>Híbridos (F₁)</i>	65	0,128*	0,076*	18,479*	10,692*
<i>Progenitores (P)</i>	11	0,367*	0,126*	3,996	3,612*
<i>Testemunhas (T)</i>	2	0,191*	0,211*	12,774*	23,015*
<i>F₁ vs T</i>	1	0,003	0,008	2,738	4,587
<i>P vs (F₁+T)</i>	1	4,765*	2,096*	2217,370*	1115,900*
Erro efetivo	136	0,014	0,010	3,513	1,339
Média	-	2,32	1,57	16,56	8,13
CV (%)	-	5,15	6,23	11,32	14,23
Efic. látice (%)	-	100,12	101,29	98,84	100,00

De posse do desdobramento dos graus de liberdade de tratamentos em híbridos (F₁), progenitores (P), testemunhas (T), contraste (F₁ vs T) e contraste (P vs (F₁+T)); para o contraste (F₁ vs T) não houve diferença significativa quanto aos caracteres AP, AE e AG no experimento realizado na safrinha de 2017, já para PCSP, não houve diferença significativa para o contraste nos dois experimentos realizados. Tal fato demonstra que os híbridos desenvolvidos no presente trabalho possuem

médias, para os caracteres citados, semelhantes às testemunhas já consolidadas no mercado de sementes de milho superdoce, validando a sua competitividade.

Quanto ao desempenho dos progenitores para os caracteres relacionados à produtividade, PCSP (safra 2016/2017) e PTCP (safrinha 2017), não houve diferença estatisticamente significativa. Este fato indica haver alta contribuição de efeitos não aditivos no controle destes caracteres, pois não houve significância para o contraste (F_1 vs T) e houve diferença significativa para o contraste (P vs (F_1 +T)) para tais caracteres, confirmando a superioridade das combinações híbridas e testemunhas quando comparado ao desempenho médio dos progenitores.

Tabela 15 - Resumo da análise de variância individual para os caracteres: comprimento de espiga (CE), altura de grãos (AG) e número de fileira de grãos (FG) avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017 em 81 genótipos de milho superdoce.

Safra 2016/2017				
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		CE (cm)	AG (cm)	FG
Repetições	2	0,352	0,074	0,352
Bloco/Rep. (aj)	24	0,619	7,430	0,460
Tratamentos (aj)	(80)	6,411*	0,012*	2,968*
Híbridos (F_1)	65	2,191*	0,008	2,360*
Progenitores (P)	11	3,284*	0,017*	3,092*
Testemunhas (T)	2	10,796*	0,085*	4,566*
F_1 vs T	1	11,696*	0,094*	21,775*
P vs (F_1 +T)	1	300,990*	0,043*	19,081*
Erro efetivo	136	0,457	0,007	0,425
Média	-	18,17	1,01	17,17
CV (%)	-	3,72	8,16	3,80
Efic. látice (%)	-	101,76	100,15	100,11
Safrinha 2017				
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		CE (cm)	AG (cm)	FG
Repetições	2	16,591	0,312	0,175
Bloco/Rep. (aj)	24	0,833	1,421	0,520
Tratamentos (aj)	(80)	6,325*	0,021*	2,872*
Híbridos (F_1)	65	2,908*	0,018*	2,047*
Progenitores (P)	11	1,796*	0,034*	3,384*
Testemunhas (T)	2	4,039*	0,046*	5,318*
F_1 vs T	1	4,383*	0,001	16,472*
P vs (F_1 +T)	1	284,711*	0,092*	32,349*
Erro efetivo	136	0,448	0,010	0,437
Média	-	15,57	1,06	16,55
CV (%)	-	4,29	9,30	4,00
Efic. látice (%)	-	106,95	102,68	100,61

4.5 Análise de variância conjunta

O milho superdoce é cultivado em vários estados brasileiros e é submetido a diversas condições edafoclimáticas de cultivo. Assim, pode-se antever que a interação entre os genótipos e os ambientes é um fator complicador ao melhoramento de plantas, pois pode propiciar a inversão de recomendação dos híbridos entre as distintas regiões de avaliação, o que de certa forma, dificulta o correto posicionamento dos híbridos (PFANN et al., 2009; OLIBONI et al., 2013). Neste sentido, com intuito de atenuar os efeitos negativos da interação entre genótipos e ambientes, recomenda-se a avaliação dos genótipos no maior número de ambientes possíveis, visando identificar e selecionar os genótipos de maior estabilidade fenotípica frente aos ambientes avaliados (OLIVEIRA et al., 2004).

A razão entre a máxima e a mínima variância residual estimada por meio da análise de variância individual para os caracteres AE, PTCP, PCSP, CE, AG e FL avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017 foram menores que 4:1 (Tabelas 14 e 15). Tais resultados estão de acordo com o critério sugerido por Pimentel-Gomes (2000), e indicam que as variâncias residuais são homogêneas entre si, e justificam a realização da análise de variância conjunta entre os experimentos. Os resumos das análises de variâncias conjuntas citadas anteriormente podem ser visualizados ao longo das Tabelas 16 e 17.

Devido a razão entre a máxima e a mínima variância residual ser superior a 4:1 para o caractere AP, não se procedeu com a análise conjunta dos experimentos conduzidos durante a safra 2016/2017 e safrinha 2017 para este caractere.

Os tratamentos avaliados sofreram interação com o ambiente somente para os caracteres AE, PTCP e AG. Estes resultados sugerem que os genótipos de milho superdoce apresentaram comportamento inconsistente perante os ambientes avaliados, ou seja, houve alterações entre as médias na classificação de seus comportamentos nos diferentes ambientes. Solomon et al. (2012) trabalharam com combinações híbridas desenvolvidas através de cruzamentos dialélicos entre dez linhagens de milho superdoce (*sh2*) e também verificaram interação genótipos ambientes significativa para os mesmos caracteres.

Para os caracteres PCSP, CE e FG não houve interação significativa entre genótipos e ambientes. Deste modo, a seleção com intuito de aumentar a média de

tais caracteres deve ser efetiva para a recomendação de genótipos para uso nas duas safras testadas.

Tabela 16 - Resumo da análise de variância conjunta para os caracteres: altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP) e produtividade comercial sem palha (PCSP) em 81 genótipos de milho superdoce.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		AE (m)	PTCP (t ha ⁻¹)	PCSP (t ha ⁻¹)
Tratamentos	(80)	0,186*	78,711*	40,320*
<i>Híbridos (F₁)</i>	65	0,131*	26,367*	14,789*
<i>Progenitores (P)</i>	11	0,196*	10,227*	4,558
<i>Testemunhas (T)</i>	2	0,323*	34,021*	50,172*
<i>F₁ vs T</i>	1	0,136*	51,119*	13,358*
<i>P vs (F₁+T)</i>	1	3,430*	4351,350*	2100,471*
Ambientes (A)	1	3,799*	2325,460*	322,470*
Tratamentos x A	(80)	0,012*	8,366*	3,678
<i>F₁ x A</i>	65	0,010	8,526*	4,095
<i>P x A</i>	11	0,015*	7,810	2,296
<i>T x A</i>	2	0,013	2,815	0,211
<i>(F₁ vs T) x A</i>	1	0,058*	23,134*	0,392
<i>((P vs (F₁+T)) x A</i>	1	0,038*	0,396	1,991
Erro efetivo médio	272	0,008	4,656	2,948

Tabela 17 - Resumo da análise de variância conjunta para os caracteres: comprimento de espiga (CE), altura de grãos (AG) e fileira de grãos (FG) em 81 genótipos de milho superdoce.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		CE (cm)	AG (cm)	FG
Tratamentos	(80)	12,176*	0,022*	5,274*
<i>Híbridos (F₁)</i>	65	4,522*	0,014*	3,817*
<i>Progenitores (P)</i>	11	4,668*	0,038*	6,010*
<i>Testemunhas (T)</i>	2	13,977*	0,127*	9,567*
<i>F₁ vs T</i>	1	15,199*	0,049*	38,063*
<i>P vs (F₁+T)</i>	1	585,592*	0,129*	50,560*
Ambientes (A)	1	819,500*	0,297*	47,515*
Tratamentos x A	(80)	0,559	0,012*	0,565
<i>F₁ x A</i>	65	0,577	0,012*	0,591
<i>P x A</i>	11	0,412	0,013	0,466
<i>T x A</i>	2	0,858	0,004	0,317
<i>(F₁ vs T) x A</i>	1	0,879	0,045*	0,185
<i>((P vs (F₁+T)) x A</i>	1	0,113	0,005	0,870
Erro efetivo médio	272	0,452	0,008	0,431

4.6 Análise de variância do dialelo

As análises de variância individuais do dialelo completo segundo o método 2 proposto por Griffing (1956), contendo as doze linhagens parentais e as sessenta e

seis combinações híbridas desenvolvidas, podem ser visualizadas nas Tabelas 18 e 19.

Tabela 18 - Resumo da análise de variância individual do dialelo completo contendo progenitores e F1s para os caracteres: altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP) e produtividade comercial sem palha (PCSP) em 78 genótipos de milho superdoce.

Safra 2016/2017					
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			
		AP (m)	AE (m)	PTCP (t ha ⁻¹)	PCSP (t ha ⁻¹)
Tratamentos	77	0,259*	0,086*	44,229*	20,308*
CGC	11	0,585*	0,367*	37,098*	6,364
CEC	66	0,205*	0,039*	45,418*	22,631*
Erro Ef. Médio	136	0,087	0,006	5,799	4,556
Componente CGC	-	0,012	0,008	0,745	0,043
Componente CEC	-	0,039	0,011	13,206	6,025
Safrinha 2017					
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			
		AP (m)	AE (m)	PTCP (t ha ⁻¹)	PCSP (t ha ⁻¹)
Tratamentos	77	0,222*	0,109*	44,939*	24,089*
CGC	11	0,868*	0,449*	37,202*	12,920*
CEC	66	0,114*	0,053*	46,229*	25,951*
Erro Ef. Médio	136	0,014	0,010	3,513	1,339
Componente CGC	-	0,020	0,010	0,802	0,276
Componente CEC	-	0,033	0,014	14,239	8,204

Tabela 19 - Resumo da análise de variância individual do dialelo completo contendo progenitores e F1s para os caracteres: comprimento de espiga (CE), altura de grãos (AG) e número de fileira de grãos (FG) em 78 genótipos de milho superdoce.

Safra 2016/2017				
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		CE (cm)	AG (cm)	FG
Tratamentos	77	5,920*	0,009	2,726*
CGC	11	7,382*	0,019*	12,041*
CEC	66	5,676*	0,008	1,173*
Erro Ef. Médio	136	0,452	0,007	0,425
Componente CGC	-	0,165	0,0003	0,277
Componente CEC	-	1,741	0,0003	0,249
Safrinha 2017				
Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		CE (cm)	AG (cm)	FG
Tratamentos	77	6,310*	0,021*	2,679*
CGC	11	8,159*	0,028*	10,166*
CEC	66	6,002*	0,020*	1,431*
Erro Ef. Médio	136	0,448	0,010	0,437
Componente CGC	-	0,184	0,0004	0,232
Componente CEC	-	1,851	0,003	0,331

Para a maioria dos caracteres avaliados, em ambos os experimentos houve efeito significativo ($P < 0,05$) tanto para estimativas de capacidade geral de combinação

quanto para específica de combinação. Apenas as estimativas de CGC para o caractere PCSP avaliado na safra 2016/2017 não apresentou significância. Já para as estimativas de CEC não houve diferença significativa para AG quando avaliado na safra 2016/2017.

Solomon et al. (2012) estudaram o controle genético em milho superdoce (*sh2*) de caracteres agronômicos e de caracteres relacionados à qualidade de espiga e grãos. Os autores verificaram diferença significativa ($P < 0,05$) para as estimativas de CGC e CEC para os caracteres AP, PTCP, PCSP e CE. Já para os caracteres AE e AG houve diferença significativa apenas para o efeito da CGC. Yuwono et al. (2017), com intuito de verificar a importância dos efeitos de dominância em milho doce, também observaram diferença significativa para os efeitos de CEC ao que se refere aos caracteres AP e CE.

No presente estudo, bem como em trabalhos semelhantes citados anteriormente, os efeitos aditivos e não aditivos representados pelas estimativas de CGC e CEC, respectivamente, são de extrema importância em programas de melhoramento de milho doce e superdoce, sendo necessário adotar métodos de melhoramento e seleção intra e interpopulacional.

Considerando os componentes quadráticos referentes às estimativas de CGC e CEC, principalmente para os caracteres relacionados à produtividade, como PTCP, PCSP e CE, os efeitos da CEC foram predominantes comparado aos efeitos da CGC. No estudo de Solomon et al. (2012) concluíram que a variância aditiva foi significativamente superior à variância de dominância para os caracteres de qualidade de espiga e grãos, enquanto para caracteres agronômicos a maior contribuição foi do componente de variância não aditiva, corroborando com os dados deste trabalho.

Deste modo, fica explícito que apesar de caracteres qualitativos e de alta herdabilidade serem importantes em programas de melhoramento genético de milho superdoce, há uma enorme chance de aumentar consideravelmente o ganho de seleção quando se adota métodos de melhoramento visando explorar os efeitos não aditivos ligados a caracteres quantitativos e de baixa herdabilidade. Tal fato corrobora a importância de se definir e explorar grupos heteróticos a fim direcionar as tomadas de decisão em relação ao desenvolvimento de populações para extração de linhagens e de combinações híbridas promissoras.

4.7 Análise de variância conjunta do dialelo

Visando identificar se as diferenças ambientais advindas das diferentes safras foram capazes de influenciar significativamente ($P < 0,05$) os efeitos aditivos (CGC) e não aditivos (CEC) envolvidos no controle dos caracteres avaliados, procedeu-se a análise dialélica conjunta. O resumo da análise de variância conjunta do dialelo completo segundo Griffing (1956) com base nos progenitores e combinações híbridas para os caracteres AP, AE, PTCP, PCSP, CE, AG e FG, avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017 podem ser visualizados nas Tabelas 20 e 21.

Houve interação significativa para as estimativas da interação da CGC com os ambientes para todos os caracteres avaliados, com exceção de AG. Quanto às estimativas de CEC observa-se interação significativa com ambientes apenas para os caracteres PTCP e AG. No trabalho de Solomon et al. (2012), avaliando os mesmos caracteres em milho superdoce (*sh2*), observou-se interação das estimativas de CGC e CEC com ambientes em todas as ocasiões, com exceção para a estimativa de CEC ao que se refere aos caracteres CE e AG.

Para este trabalho podemos concluir que os efeitos advindos dos genes em aditividade apresentam magnitudes distintas nas diferentes safras avaliadas. Por outro lado, os efeitos devidos aos genes não aditivos apresentaram contribuição mais estáveis, independentemente do ambiente, fato este que contribui para o desenvolvimento de populações e seleção de linhagens e híbridos já que a contribuição da CEC se mostrou mais importante do que a contribuição da CGC quando se observam os componentes quadráticos de ambas as estimativas (Tabelas 18 e 19).

Tabela 20 - Resumo da análise de variância conjunta do dialelo completo contendo progenitores e F1s para os caracteres: altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP) e produtividade comercial sem palha (PCSP) em 78 genótipos de milho superdoce.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			
		AP (m)	AE (m)	PTCP (t.ha ⁻¹)	PCSP (t.ha ⁻¹)
Tratamentos	77	0,420*	0,184*	80,855*	40,588*
CGC	11	1,318*	0,783*	60,237*	11,787
CEC	66	0,271*	0,085*	84,282*	45,388*
Ambientes (A)	1	4,762	3,471	2328,450	315,561
Trat. x A	77	0,060	0,011*	8,314*	3,809
CGC x A	11	0,135*	0,034*	14,063*	7,497*
CEC x A	66	0,048	0,007	7,356*	3,194
Erro Ef. Médio	272	0,050	0,008	4,656	2,948

Tabela 21 - Resumo da análise de variância conjunta do dialelo completo contendo progenitores e F1s para os caracteres: comprimento de espiga (CE), altura de grãos (AG) e número de fileira de grãos (FG) em 78 genótipos de milho superdoce.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio		
		CE (cm)	AG (cm)	FG
Tratamentos	77	11,840*	0,019*	4,829*
CGC	11	14,763*	0,034*	21,343*
CEC	66	11,353*	0,016	2,077*
Ambientes (A)	1	778,780	0,331	47,080
Trat. x A	77	0,547	0,012*	0,576
CGC x A	11	1,437*	0,012	0,864*
CEC x A	66	0,399	0,012*	0,528
Erro Ef. Médio	272	0,452	0,008	0,431

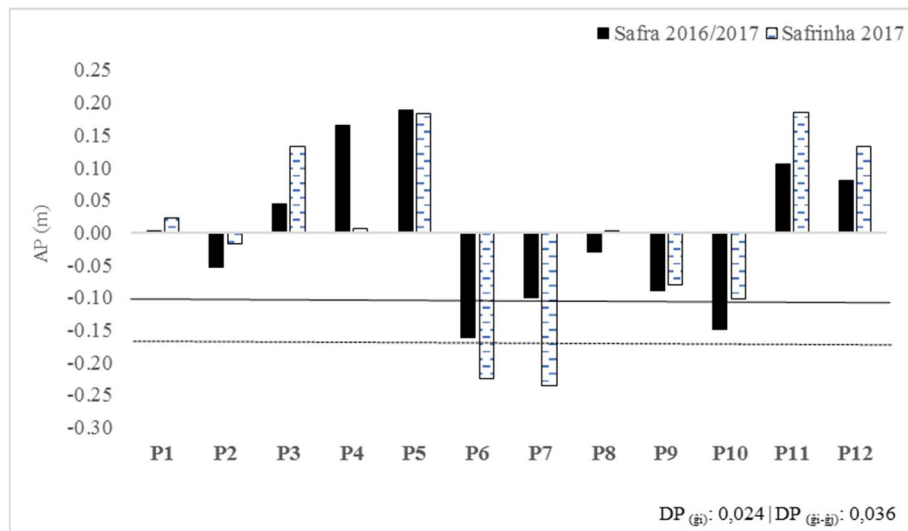
4.8 Estimativas de capacidade geral de combinação (CGC)

Tanto para milho comum quanto para o milho superdoce, buscaram-se genótipos de porte de planta e de inserção de espigas mais baixos a fim de facilitar a mecanização, aumentar a densidade populacional, aumentar a eficiência na captação de luz solar e diminuir problemas de acamamento. Deste modo, os melhores progenitores são aqueles cujas estimativas de CGC são negativas, ou seja, contribuem para diminuir a média de seus descendentes.

Apesar da interação CGC com ambientes ter apresentado diferença significativa ($P < 0,05$), nota-se na Figura 3 que os melhores progenitores para AP, são da população "PopTe2" (planta braquítica) para ambas as safras avaliadas. Sendo os

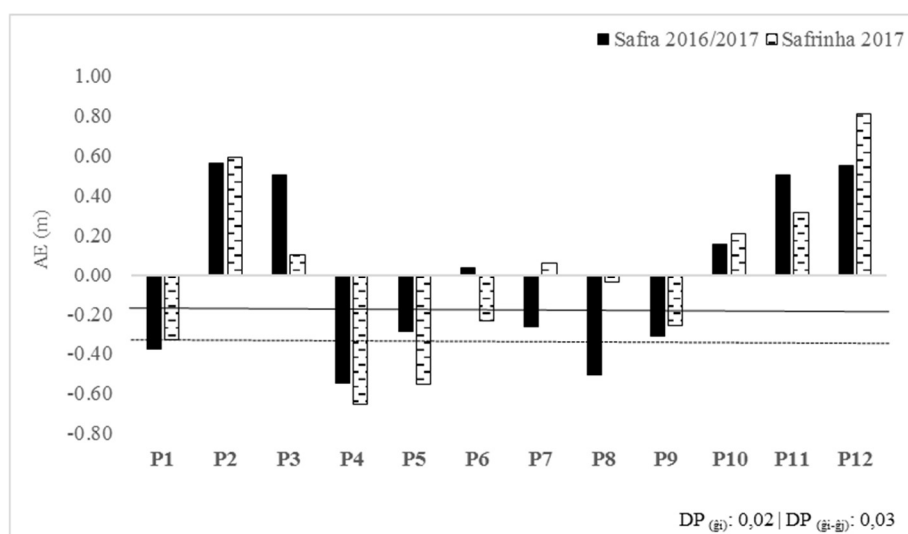
progenitores P6 e P7 os que apresentaram as melhores estimativas de CGC para altura de plantas, seguido do progenitor P10.

Figura 3 – Estimativas de CGC para AP dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa).



Quanto às estimativas de CGC para AE, o progenitor P4 se destacou nos dois experimentos realizados, os progenitores P8, P1, P9, P5 e P7 se destacaram na safra 2016/2017, e os progenitores P5 e P1 na safrinha 2017 (Figura 4).

Figura 4 – Estimativas de CGC para AE dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa).

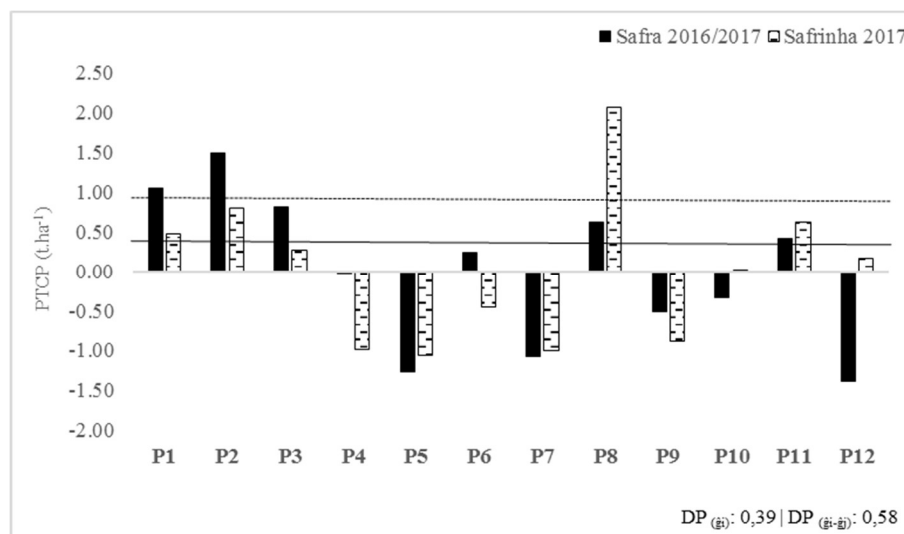


Com exceção dos caracteres AP e AE, para todos os outros caracteres conduz-se o melhoramento genético em milho superdoce com o intuito de aumentar a média

dos genótipos selecionados para PTCP, PCSP, CE, AG e FG. Deste modo, busca-se selecionar genótipos com estimativas de CGC positivas e de alta magnitude.

Para PTCP, alguns progenitores apresentaram estimativas de CGC de sinais opostos quando se comparam os valores nas duas safras, sendo os progenitores P6, P10 e P12 os que apresentaram tal comportamento. Deste modo, a interação entre as estimativas de CGC com ambientes torna-se de suma importância ao analisar o desempenho de cada progenitor quanto aos seus efeitos em distintas safras. Para a safra de 2016/2017 os melhores progenitores em ordem decrescente foram P2, P1, P3, P8 e P11, enquanto para a safrinha 2017 foram P8, P2, P11 e P1; com especial desempenho para o progenitor P8. Nota-se que apenas para o progenitor P2 houve alta estimativa de CGC nas duas safras avaliadas (Figura 5).

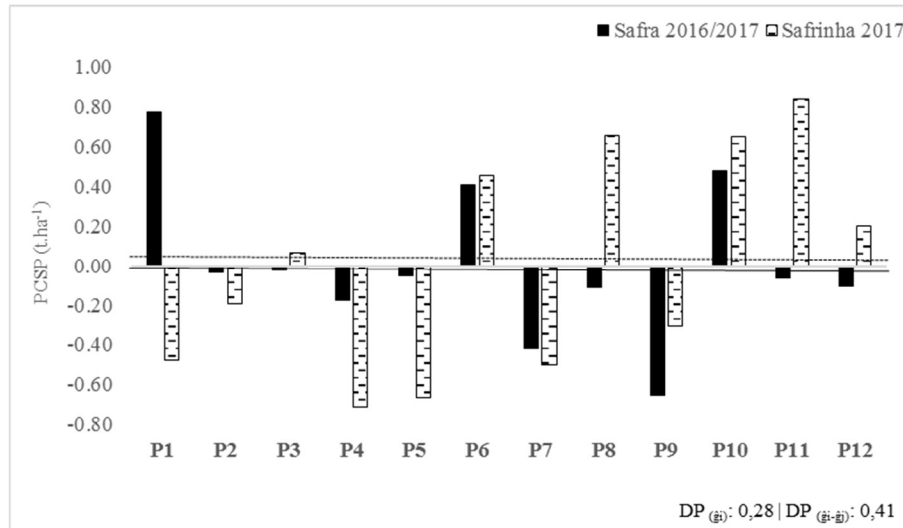
Figura 5 – Estimativas de CGC para PTCP dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa).



Quanto ao caractere PCSP, alguns progenitores (P1, P8, P11 e P12) também apresentaram estimativas de CGC de sinais opostos nas diferentes safras (Figura 6). Os progenitores P1, P10 e P6 foram os que mais se destacaram em ordem decrescente na safra 2016/2017. Na safrinha 2017 os progenitores de maior destaque em ordem decrescente foram P11, P10, P8 e P6. Os progenitores P10 e P6 foram selecionados pelas suas estimativas favoráveis de CGC nas duas safras avaliadas e, apesar deste caractere estar correlacionado ao caractere PTCP, não houve coincidência quanto aos progenitores de melhor estimativa de CGC para os dois caracteres (Figuras 5 e 6). Tal fato pode ter sido influenciado pelo comprimento de espigas, pois para PCSP houve o descarte de espigas menores que 15 cm, o que

pode justificar a diferença quanto a seleção dos progenitores para os diferentes caracteres (ver estimativas de CGC e CEC para CE).

Figura 6 – Estimativas de CGC para PCSP dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa).



Para cultivares de milho doce destinadas à indústria, que é a principal finalidade em nosso país, há uma série de caracteres extremamente importantes e correlacionados ao rendimento industrial. Tal rendimento deve ser ao redor de 40%, ou seja, para cada 100 kg de espigas empalhadas, o rendimento deverá ser igual ou maior que 40 kg de grãos enlatados (PEREIRA FILHO et al., 2016). Além do formato cilíndrico da espiga garantir um bom aproveitamento na desgrana, o comprimento da espiga, a altura dos grãos, o número de fileira de grãos e também o formato dos grãos (preferencialmente dentados), influenciam diretamente no rendimento industrial a ser obtido.

Deste modo, inicia-se a discussão quanto às estimativas de CGC, ao que se refere a caracteres correlacionados com o rendimento industrial. Para o caractere CE, os progenitores P12 e P2 apresentaram alta estimativa de CGC em ambas as safras, se mostrando importantes para aumentar a média do referido caractere nas combinações híbridas das quais participam em cruzamentos. Os progenitores P3 e P11 apresentaram estimativas de CGC altas para a safra 2016/2017 (Figura 7).

Para o caractere AG não houve interação significativa entre CGC e ambientes. Desta forma, analisaram-se as estimativas de CGC considerando o ambiente médio. Os progenitores de maiores estimativas de CGC para AG em ordem decrescente foram P1, P9, P5, P6 e P4 (Figura 8).

Figura 7 – Estimativas de CGC para CE dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa).

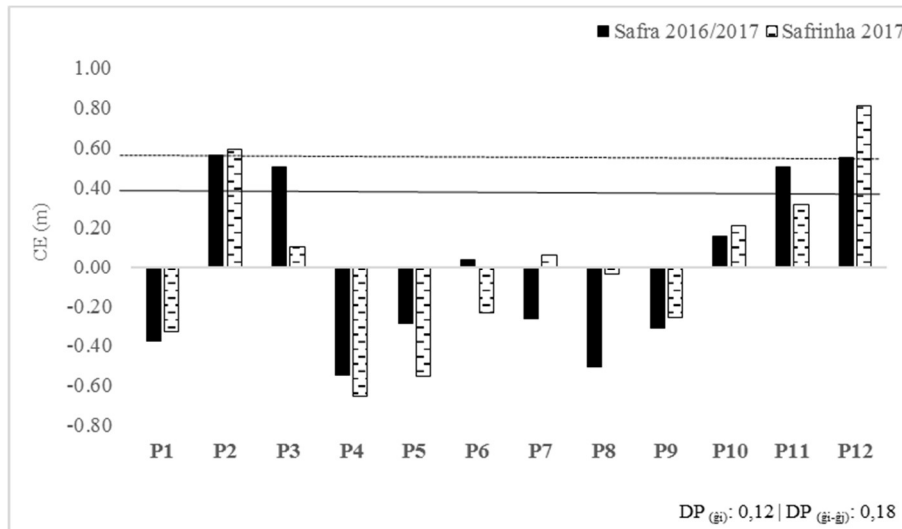
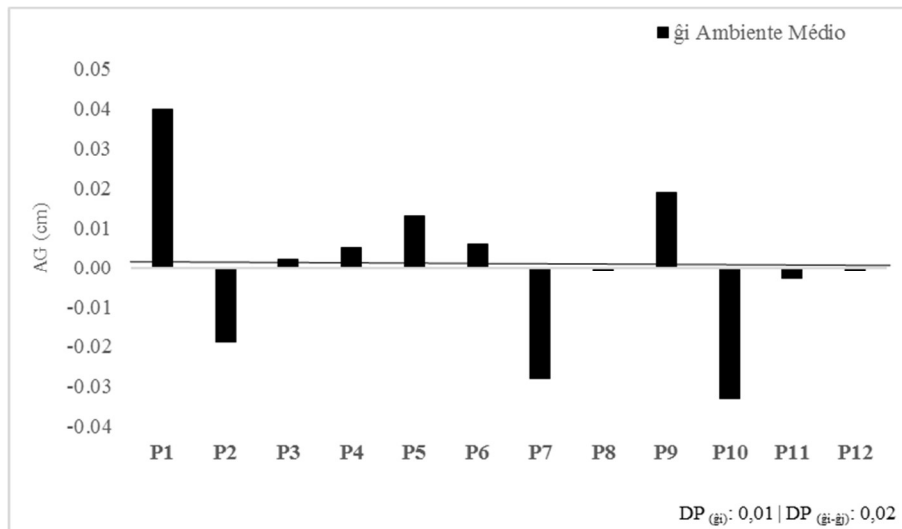
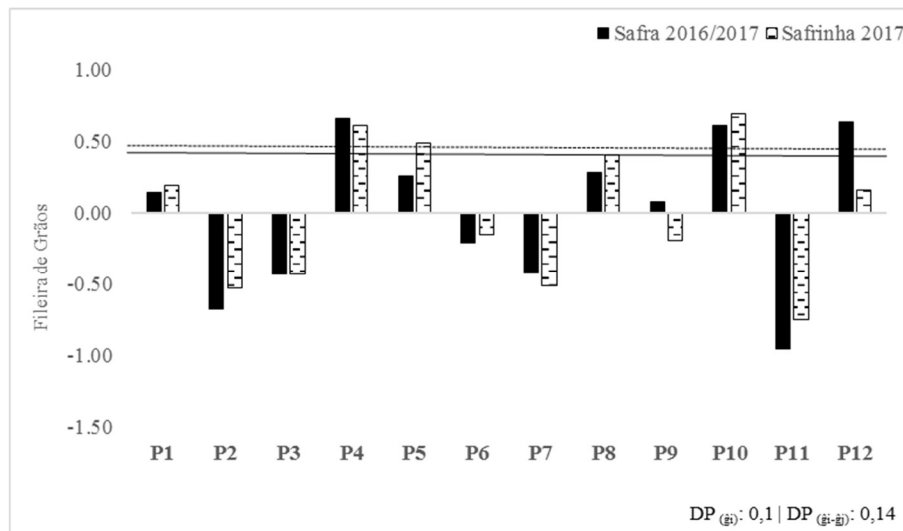


Figura 8 – Estimativas de CGC para AG dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa).



Quanto ao número de fileiras de grãos os progenitores P10 e P4 apresentaram altas estimativas de CGC em ambas as safras, ao passo que o progenitor P12 se destacou apenas na safra 2016/2017, e, o progenitor P5 apenas na safrinha 2017 (Figura 9).

Figura 9 – Estimativas de CGC para FG dos 12 progenitores nos dois experimentos realizados. Linhas representam valores iguais a duas vezes o desvio padrão (ponto onde há diferença significativa).



4.9 Estimativas de capacidade específica de combinação (CEC)

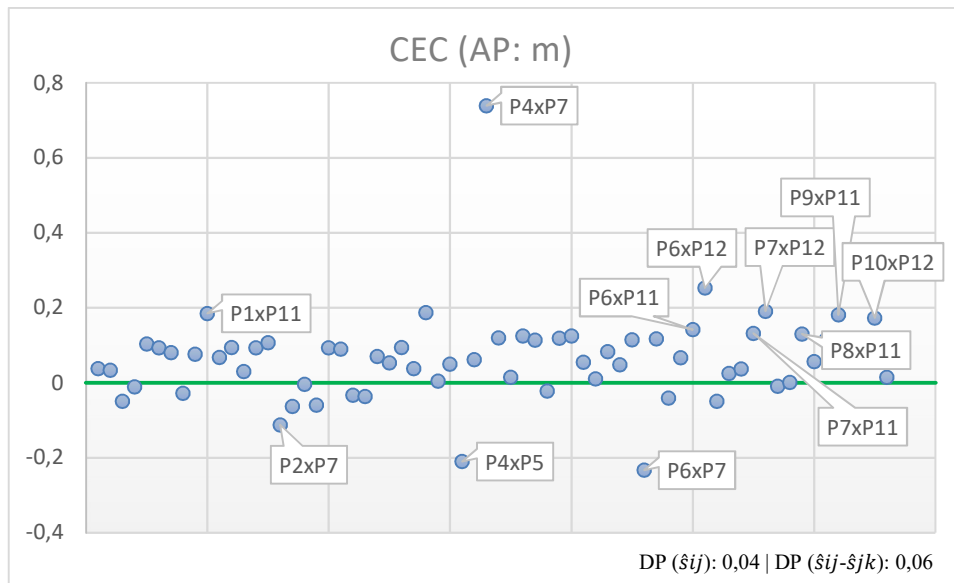
Devido à importância referente aos efeitos não aditivos provindos dos genes que controlam os caracteres avaliados, fato este que pode ser facilmente verificado analisando os componentes quadráticos provenientes das análises individuais do dialelo, a discussão quanto as estimativas de CEC obtidas torna-se de extrema valia tendo em conta os objetivos do presente trabalho.

As estimativas de CEC referente aos caracteres AP, AE, PCSP, CE e FG dos quais não se observou interação significativa entre CEC e ambientes estão apresentadas nas Figuras 10 a 14, considerando os valores obtidos no ambiente médio. Já as estimativas onde houve interação significativa com os ambientes, referentes aos caracteres PTCP e AG, podem ser visualizadas nas Figuras 15 e 16 para cada ambiente avaliado.

Para AP a amplitude das estimativas de CEC foi de -0,23 m a 0,74 m, havendo maior tendência a aumentar a média do caractere, pois 51 das 66 combinações híbridas desenvolvidas apresentaram estimativas de CEC positivas para AP, ao passo que apenas 15 combinações híbridas apresentaram estimativas de sinal negativo (Figura 10). Assim como para a estimativa de CGC procuram-se estimativas de CEC negativas no intuito de diminuir a altura de plantas das combinações híbridas a serem selecionadas. Deste modo, a combinação híbrida de melhor estimativa para o

melhoramento foi P6 x P7 (-0,23 m), sendo esta proveniente do cruzamento de duas linhagens de planta braquítica. Outras duas combinações híbridas apresentaram estimativas negativas e de boa magnitude para diminuir a altura de plantas: P4 x P5 (-0,21 m) e P2 x P7 (-0,11 m).

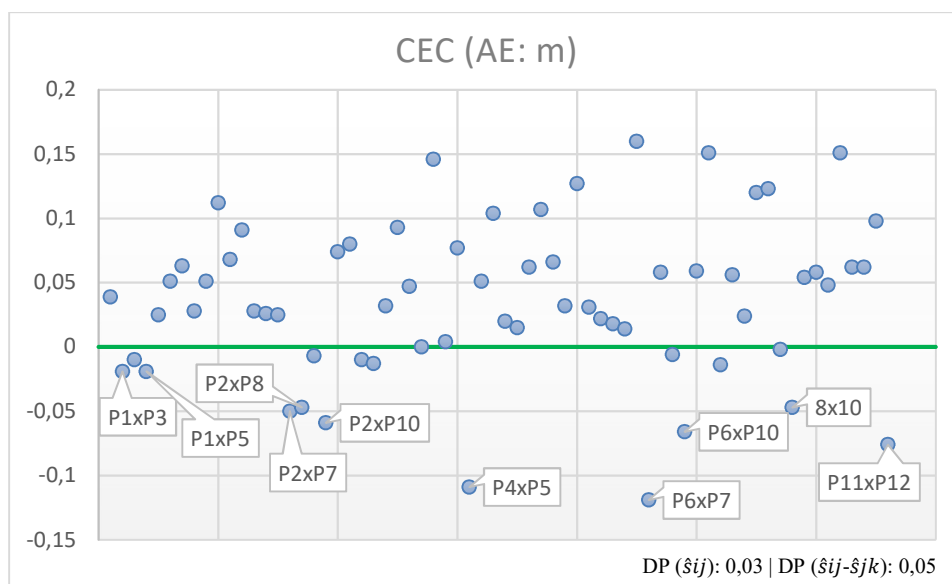
Figura 10 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere altura de planta (AP).



Vale ressaltar que nas combinações híbridas de maiores estimativas positivas de CEC para AP há a participação de linhagens provenientes da população “PopTr”, demonstrando que essas linhagens possuem genes que estão relacionados com o aumento na altura de plantas, como é o caso dos híbridos: P4 x P7 (0,74 m), P6 x P12 (0,25 m), P7 x P12 (0,19 m), P1 x P11 e P9 x P11 (0,18 m), P10 x P12 (0,17 m), P6 x P11 (0,14 m), e, P7 x P11 e P8 x P11 (0,13 m). Observa-se também que as combinações híbridas em que houve a participação de pelo menos uma linhagem de planta braquítica não apresentaram estimativas de CEC negativas o suficiente para refletir em plantas significativamente menores, com exceção da combinação P2 x P7. Fato que corrobora com informação que o caráter planta braquítica é governado por um único gene de natureza recessiva (*br2*) (BANDEL, 1978). De acordo com Leng (1957), Anderson e Chow (1963) e Scott e Campbell (1969), além do gene de maior efeito (*br2*), há herança poligênica de diversos genes modificadores que estão relacionados ao porte de plantas, e a redução na altura de plantas pode variar de acordo com as diferentes combinações destes modificadores nas quais o gene *br2* está presente.

Quanto ao caractere AE nota-se que as mesmas combinações híbridas que se destacaram para AP também se destacaram quanto a sua estimativa de CEC no sentido de diminuir a altura de inserção de espigas. Deste modo, as combinações híbridas P6 x P7, P4 x P5 e P2 x P7 apresentaram estimativas de CEC de -0,12 m, -0,11 m e -0,05 m, respectivamente. Outras combinações híbridas também se destacaram, como: P11 x P12 (-0,08 m); P6 x P10 (-0,07 m); P2 x P10 (-0,06 m); P2 x P7, P2 x P8 e P8 x P10 (-0,05 m); e; P1 x P3 e P1 x P5 (-0,02 m). Quanto às linhagens braquíticas notou-se a mesma tendência observada para o caractere AP, apenas três (P2 x P10, P2 x P7 e P8 x P10) das vinte e sete combinações possíveis entre linhagens com e sem o gene *br2*, apresentaram estimativas de CEC de alta magnitude no sentido de diminuir a AE. Já para as linhagens provenientes da população “PopTr”, ao contrário do que aconteceu para o caractere AP, em que combinações híbridas contendo tais linhagens apresentaram as maiores estimativas de CEC, para AE os valores de CEC tiveram boa distribuição, não sendo possível observar tal tendência (Figura 11).

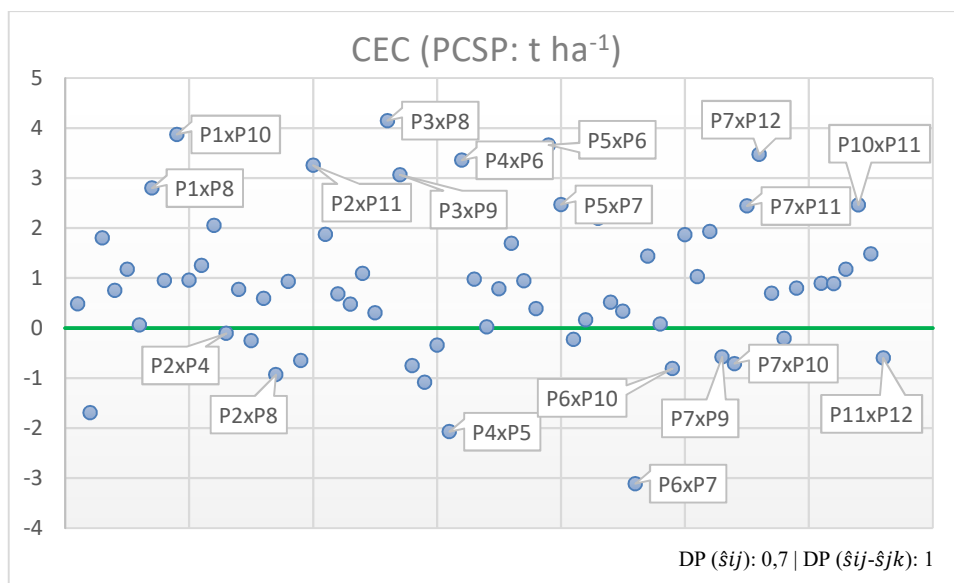
Figura 11 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere altura de inserção de espiga (AE).



O caráter PCSP é um dos mais importantes na cultura do milho superdoce, pois está diretamente correlacionado com o rendimento industrial e, conseqüentemente, com a rentabilidade da cultura. Deste modo, procura-se aumentar a média deste caráter nas populações, linhagens e combinações híbridas a serem desenvolvidas.

Apesar de não ser o escopo deste trabalho discorrer sobre as médias, para o caráter PCSP é conveniente citar que as combinações híbridas que apresentaram maiores estimativas de CEC também foram os tratamentos de maior média, sendo estas de P3 x P8 (13,39 t ha⁻¹), P1 x P10 (13,53 t ha⁻¹), P5 x P6 (12,68 t ha⁻¹), P7 x P12 (12 t ha⁻¹), P4 x P6 (12,29 t ha⁻¹), P2 x P11 (12,47 t ha⁻¹), P3 x P9 (11,55 t ha⁻¹), P1 x P8 (12,16 t ha⁻¹), P5 x P7 (10,59 t ha⁻¹), P10 x P11 (12,36 t ha⁻¹), P7 x P11 (11,31 t ha⁻¹), P8 x P12 (11,64 t ha⁻¹) e P5 x P10 (11,34 t ha⁻¹); e, as combinações híbridas de menores estimativas de CEC foram aquelas de menores médias para PCSP: P6 x P7 (5,8 t ha⁻¹), P4 x P5 (6,07 t ha⁻¹), P1 x P3 (7,42 t ha⁻¹) e P3 x P11 (8,27 t ha⁻¹). Vale destacar que a média geral para o caráter foi de 9,85 t ha⁻¹ e a média da melhor testemunha Thunder Attribute foi de 9,21 t ha⁻¹.

Figura 12 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere produtividade comercial sem palha (PCSP).

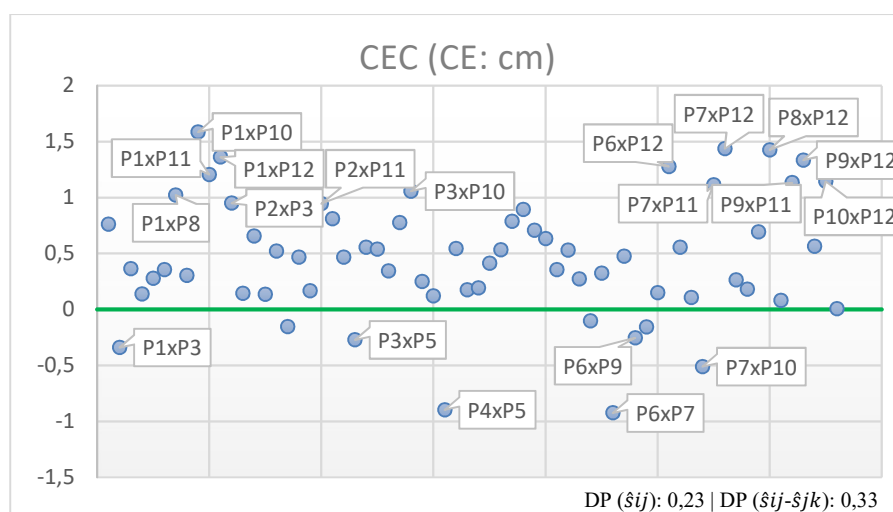


Em todas as combinações híbridas de alta estimativa positiva de CEC para PCSP mencionadas acima, não houve cruzamento entre linhagens provenientes da mesma população, ou seja, os efeitos não aditivos são manifestados em maior magnitude quando realiza-se cruzamentos interpoblacionais. Já quanto às estimativas de CEC de sinal negativo, houve cruzamentos intrapopulacionais, ou seja, entre linhagens provenientes da mesma população, como é o caso da combinação híbrida P6 x P7, e, também, das combinações P6 x P10, P7 x P10, P11 x P12, P7 x P9, P8 x P10 e P2 x P4 (Figura 12).

As estimativas de CEC para o caráter PCSP é um bom parâmetro para a formação de grupos heteróticos considerando o germoplasma de estudo, já que houve grande contribuição dos efeitos não aditivos e uma boa correlação entre estimativas de CEC com a genealogia dos progenitores que participaram dos cruzamentos e, também, com as médias observadas.

Os efeitos da CEC para CE tiveram amplitude entre 1,59 cm e -0,92 cm, sendo as combinações híbridas P1 x P10, P7 x P12, P8 x P12, P1 x P12, P9 x P12, P6 x P12, P1 x P11, P10 x P12, P9 x P11, P7 x P11, P3 x P10, P1 x P8, P2 x P3 e P2 x P11 as de maiores estimativas, e, as combinações híbridas P6 x P7, P4 x P5, P7 x P10, P1 x P3, P3 x P5 e P6 x P9 as de maiores estimativas de sinal negativo, contribuindo para o encurtamento das espigas. Vale ressaltar que entre as combinações híbridas de maiores estimativas de CEC para CE, na maioria delas, há pelo menos um dos progenitores proveniente da população “PopTr” (P11 e P12), enquanto que as combinações híbridas de maiores estimativas de sinal negativo de CEC há a participação de progenitores de planta braquítica provenientes da população “PopTe2” (P6, P7 e P10). Tal fato era esperado baseado no desempenho *per se* dos referidos progenitores, ou seja, progenitores provenientes da população “PopTr” com espigas compridas, e, progenitores de planta braquítica provenientes da população “PopTe2” com espigas curtas (Figura 13).

Figura 13 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere comprimento de espiga (CE).

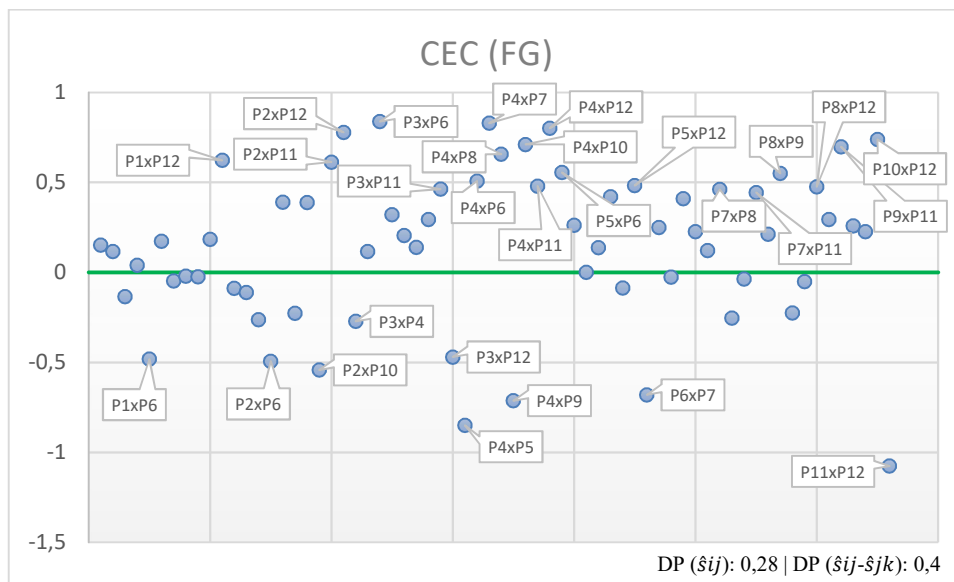


Apenas as combinações híbridas que apresentaram as melhores estimativas de CEC para CE apresentaram espigas com mais de 18 cm de comprimento, com

exceção da combinação P2 x P12 (18,88 cm) que apresentou CEC de 0,81cm apenas. Já as combinações híbridas com CEC negativa apresentaram médias abaixo dos 17 cm, sendo as combinações P6 x P7 (15,69 cm) e P4 x P5 (14,89 cm) as de espigas mais curtas. As testemunhas tiveram média para CE de 17 cm.

Comparando a importância relativa da CEC/CGC, para FG se mostra bem inferior quando comparado aos outros caracteres avaliados. Porém, a amplitude observada foi entre 0,84 e -1,08, amplitude esta que pode ter uma boa contribuição para o aumento do rendimento industrial. As combinações híbridas com melhores estimativas de CEC em ordem decrescente são: P3 x P6, P4 x P7, P4 x P12, P2 x P12, P10 x P12, P4 x P10, P9 x P11, P4 x P8, P1 x P12, P2 x P11, P5 x P6, P8 x P9, P4 x P6, P5 x P12, P4 x P11, P8 x P12, P3 x P11, P7 x P8 e P7 x P11. A exemplo do comportamento observado para CE, grande parte (11 entre 19) das combinações híbridas listadas acima possuem participação de progenitores provenientes da população “PopTr” (P11 e P12). Já, as combinações híbridas que apresentaram menores estimativas de CEC também em ordem decrescente foram: P11 x P12, P4 x P5, P4 x P9, P6 x P7, P2 x P10, P2 x P6, P1 x P6, P3 x P12 e P3 x P4 (Figura 14).

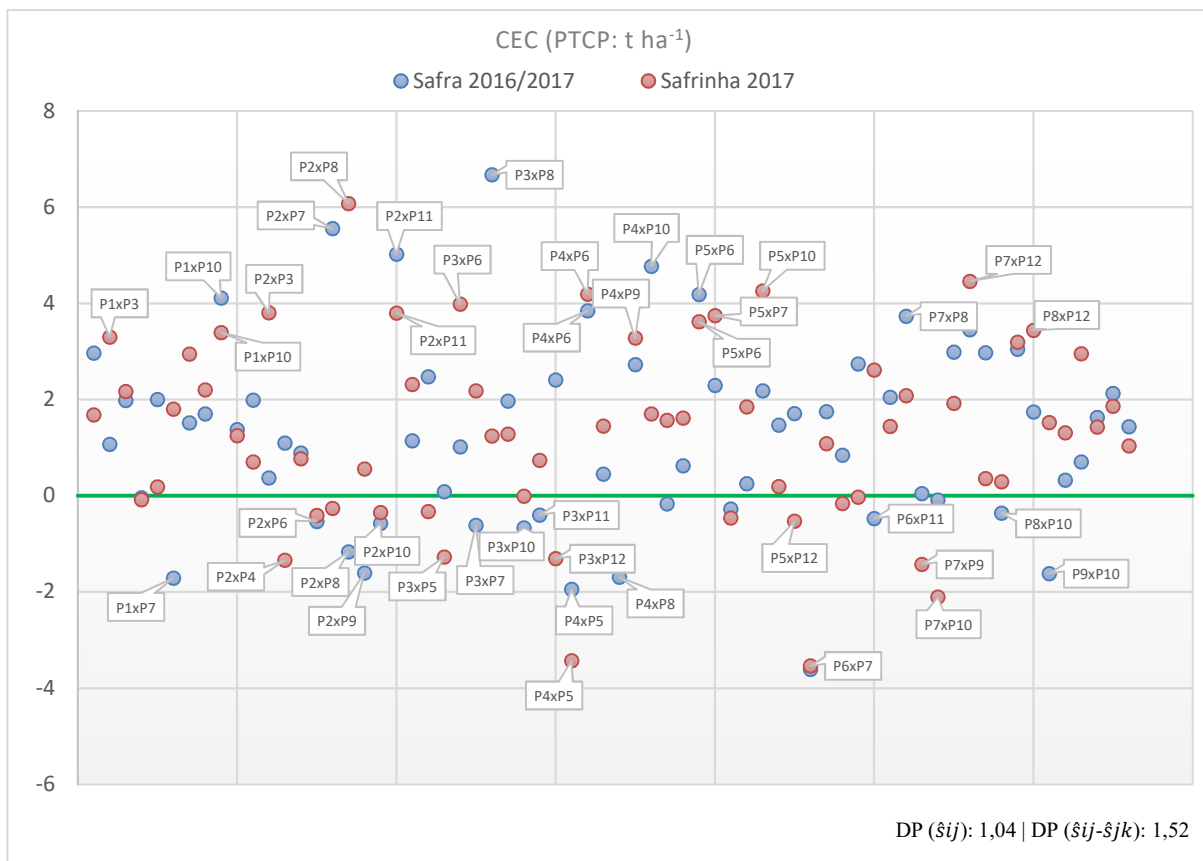
Figura 14 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere fileira de grãos (FG).



Para PTCP as combinações híbridas P2 x P11, P5 x P6, P1 x P10 e P4 x P6 se destacaram quanto sua estimativa de CEC nos dois ambientes avaliados, ao passo que as combinações P3 x P8, P2 x P7, P2 x P11, P4 x P10 e P7 x P8 se destacaram apenas na safra 2016/2017, e as combinações P2 x P8, P7 x P12, P5 x P10, P3 x P6,

P2 x P3, P5 x P7, P8 x P12, P1 x P3, P4 x P9 e P8 x P11 se destacaram apenas na safrinha 2017. Já as combinações híbridas P6 x P7, P4 x P5 e P4 x P8 apresentaram estimativas negativas e de alta magnitude nos dois experimentos realizados, ao passo que as combinações P1 x P7, P9 x P10, P2 x P9, P2 x P8, P3 x P10, P3 x P7, P2 x P10, P2 x P6, P6 x P11, P3 x P11, P8 x P10 e P5 x P8 apresentaram tal desempenho apenas na safra 2016/2017, e, as combinações P7 x P10, P7 x P9, P2 x P4, P3 x P12, P3 x P5 e P5 x P12 apenas na safrinha 2017. Novamente, nas combinações que obtiveram maiores estimativas de CEC prevaleceram os cruzamentos interpopulacionais, com exceção para as combinações P2 x P3 e P1 x P3 na safrinha 2017 (Figura 15).

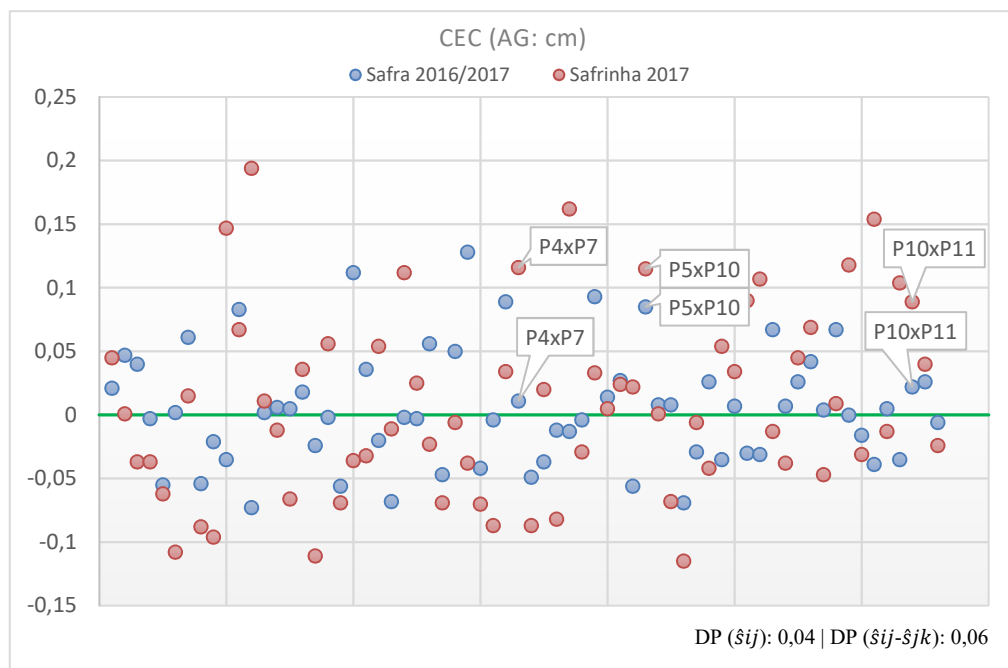
Figura 15 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere produtividade total com palha (PTCP) avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017.



Assim como para FG, para AG a contribuição dos efeitos de CEC, quando comparado com a contribuição dos efeitos de CGC, é muito inferior à contribuição observada para o restante dos caracteres avaliados nos dois experimentos. Essas estimativas tiveram amplitudes entre 0,12 cm e -0,073 cm na safra 2016/2017, e, entre

0,19 cm e -0,11 cm na safrinha 2017. Apesar de haver diferença significativa entre as estimativas de CEC para as combinações híbridas desenvolvidas, o ganho obtido pode não representar vantagem significativa para a indústria que irá processar e comercializar o milho. Quanto às estimativas de CEC para AG, apenas as combinações híbridas P4 x P7, P5 x P10 e P10 x P11 apresentaram bom desempenho para os dois ambientes avaliados (Figura 16).

Figura 16 – Estimativas de CEC do ambiente médio referente aos 66 híbridos de milho superdoce para o caractere altura de grãos (AG) avaliados na safra 2016/2017 e safrinha 2017.



4.10 Agrupamento baseado nas estimativas de CEC

Os grupos formados por meio da metodologia de agrupamento de otimização de Tocher, considerando as estimativas de CEC como distância genética, conforme trabalho realizado por Pinto et al. (2001), podem ser visualizados na Tabela 22, para os caracteres AP, AE, PTCP, PCSP, CE e FG. As estimativas de CEC para o caráter AG foram excluídas de tal análise devido à baixa contribuição dos efeitos não aditivos. Foram consideradas como distância genética as estimativas obtidas no ambiente médio para aqueles caracteres onde não houve interação da estimativa com os ambientes (AP, AE, PCSP, CE e FG). Por outro lado, quando a interação CEC x

Ambientes foi significativa o cálculo da divergência genética com base na CEC foi realizado para cada ambiente.

Conforme mencionado no item 4.9, quando discutido sobre os efeitos não aditivos para cada caráter, tais efeitos podem ser um ótimo parâmetro para a formação de grupos heteróticos para o germoplasma em estudo, já que os efeitos de CEC observados corresponderam ao que era esperado de acordo com a genealogia das linhagens, e também corresponderam ao breve comentário realizado a respeito das médias obtidas, principalmente para os caracteres PCSP e CE.

De forma geral, linhagens provenientes de uma mesma população (cores iguais) se agruparam em grupos comuns ou muito próximos para a maioria dos caracteres. Observa-se também que para a maioria dos caracteres considerados, os progenitores de planta braquítica (P6, P7 e P10) provenientes da população “PopTe2” foram agrupadas no Grupo 1 com exceção para o caráter FG. Outro padrão observado foi o dos progenitores P1 e P3, e P4 e P5 serem agrupados quase sempre no mesmo grupo ou grupos bem próximos. Os progenitores P11 e P12 provenientes da população “PopTr” hora estavam agrupadas no mesmo grupo hora estavam agrupadas em grupos vizinhos, ou seja, muito semelhantes geneticamente.

Quanto aos caracteres mais consistentes PCSP e CE, com base no que foi discutido quando se analisaram as estimativas de CEC (item 4.9), observa-se praticamente a mesma distribuição dos progenitores nos grupos formados, ou seja, progenitores P6, P7 e P10 no Grupo 1, progenitores P4 e P5 no Grupo 2, progenitores P1 e P3 no Grupo 3, progenitores P2 e P8 no Grupo 4 e progenitores P11 e P12 no Grupo 5. Com exceção do progenitor P9 que ocupou posições diferentes.

Deste modo, pode-se afirmar a presença de pelo menos quatro grupos de linhagens onde houve uma boa consistência dos agrupamentos para a maioria dos caracteres avaliados. São eles: progenitores P6, P7 e P10 (Grupo 1), progenitores P4 e P5 (Grupo 2), progenitores P1 e P3 (Grupo 3) e progenitores P11 e P12 (Grupo 4). Quanto os progenitores P2, P8 e P9 não foi possível agrupá-los com segurança devido a inconsistência de seus posicionamentos.

Tabela 22 – Agrupamento de Tocher baseado nas estimativas de CEC para os caracteres altura de planta (AP), altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP), produtividade comercial sem palha (PCSP), comprimento de espiga (CE) e fileira de grãos (FG).

Caracter	CEC	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5	G 6	G 7
AP (m)	Médio	P5	P1	P2				
		P6	P3					
		P7	P4					
		P8						
		P9						
		P10						
		P11						
		P12						
AE (m)	Médio	P2	P1	P11	P9			
		P6	P3	P12				
		P7	P4					
		P8	P5					
		P10						
PTCP (t ha ⁻¹)	Safrinha 2016/20 17	P1	P2	P9	P11	P12		
		P3	P4	P10				
		P6	P5					
		P7	P8					
PTCP (t.ha ⁻¹)	Safrinha 2017	P2	P3	P12	P11	P1		
		P6	P4					
		P7	P5					
		P9	P8					
		P10						
PCSP (t ha ⁻¹)	Médio	P6	P4	P1	P2	P11	P9	
		P7	P5	P3	P8	P12		
		P10						
CE (cm)	Médio	P6	P4	P1	P2	P11		
		P7	P5	P3	P8	P12		
		P9						
		P10						
FG	Médio	P11	P4	P6	P2	P8	P1	P3
		P12	P5	P7	P10			
			P9					

Grupos formados estão representados pela letra G, linhagens provenientes da “PopTe1” estão em cor verde escuro, linhagens provenientes da “PopTe2” estão em verde claro, linhagens provenientes da “PopTr” em amarelo e números em vermelho referem-se a plantas braquíticas.

4.11 Análise de correlação

As estimativas de correlação de Pearson entre a média dos caracteres AE, PTCP, AG, AP, PCSP, CE e FG com as estimativas de CEC e distância de Rogers podem ser visualizadas na Tabela 23. De posse destas estimativas foi possível verificar o grau de associação entre a distância genética de Rogers obtida através dos dados de 20 marcadores SSR com as estimativas de CEC e médias para cada caractere avaliado a fim de determinar qual metodologia utilizada para formação dos grupos heteróticos é mais assertiva para o germoplasma em questão.

Para AE houve correlação significativa ($P < 0,05$) para todas as fontes de variação avaliadas, ou seja, tanto a distância genética de Rogers quanto as estimativas de CEC possuem certo grau de associação com as médias obtidas. A correlação observada entre a distância de Rogers e CEC com as médias para AE foram similares, sendo possível afirmar que ambas as metodologias de escolha de grupos heteróticos são igualmente eficazes para AE. Solomon et al. (2012) trabalhando com linhagens de milho superdoce (*sh2*) também encontraram correlação significativa (0,48*) entre a performance *per se* dos híbridos desenvolvidos e heterose ao que se refere a AE. Seria semelhante dizer que houve correlação significativa entre média para AE e CEC, corroborando com o resultado obtido no presente trabalho.

Quanto ao caráter PTCP, houve correlação significativa, porém, de baixa magnitude entre a distância genética de Rogers e s_{ij}^2 , $\overline{s_{ij}}$, e \bar{x}_2 . Para as estimativas de correlação entre CEC e médias, além de haver significância para os dois ambientes, os valores são superiores comparado aos demais, sendo 85,3% para a safra 2016/1027 e 87,6% para a safrinha 2017. Tal diferença entre as estimativas de correlação indica que a CEC é mais assertiva para a formação dos grupos heteróticos quando comparado aos dados moleculares.

Houve correlação significativa entre as estimativas de CEC com médias para o caractere AG nos dois ambientes. Porém, como foi discutido anteriormente, apesar de haver diferença significativa para CEC e também correlação alta e significativa entre CEC e médias, a contribuição de tais efeitos na média não é algo que se possa explorar comercialmente frente ao ponto de maturidade que se encontra o programa de melhoramento da Sakata Seed Sudamerica Ltda. Portanto, decide-se excluir este caractere para formação dos grupos heteróticos.

Para os caracteres AP, PCSP e CE houve correlação significativa para todas as fontes de variação analisadas. No entanto, as altas estimativas de correlação entre CEC e médias para PCSP e CE reforçam o fato destes dois caracteres serem os mais consistentes no presente trabalho, levando em consideração seus objetivos, conforme foi discutido nos itens 4.9 e 4.10.

Solomon et al. (2012) também verificaram correlação significativa entre médias genótípicas e CEC para AP, enquanto que Srđc et al. (2011) verificaram correlação significativa entre similaridade genética obtida com os dados de marcadores microssatélites e CEC para PCSP. Este último com estimativas superiores ao presente trabalho, sendo esta de -57,8%. A estimativa obtida por Srđc et al. (2011) é de sinal negativo pois trabalharam com similaridade genética ao invés de dissimilaridade genética como no presente trabalho.

Para FG, apesar de não haver correlação significativa entre distância genética de Rogers e médias, houve significância para distância genética com CEC e para CEC com médias, demonstrando que ambas as metodologias utilizadas para a formação dos grupos heteróticos quanto ao caractere FG são eficazes.

Basicamente objetivou-se com a análise de correlação verificar o grau de associação entre os métodos utilizados, quantitativo (baseado na análise dialélica) e preditivo (baseado em marcadores moleculares) para determinação de grupos heteróticos bem como verificar a correlação entre estes dois parâmetros com as médias obtidas para cada caractere. Apesar de haver correlação entre os dois métodos utilizados e destes com as médias obtidas, a análise de correlação mostrou que as estimativas de CEC tiveram maiores estimativas de correlação com as médias referentes aos principais caracteres para o milho superdoce, portanto, a definição dos grupos heteróticos baseados nas estimativas obtidas através do dialelo parece ser mais assertiva que o método baseado nos dados dos marcadores SSR. Tal fato também foi relatado por Balestre et al. (2008) trabalhando com milho grão.

Tabela 23 – Estimativas de correlação de Pearson para os caracteres altura de inserção de espiga (AE), produtividade total com palha (PTCP), altura de grãos (AG), altura de plantas, produtividade comercial sem palha (PCSP), comprimento de espiga (CE) e fileira de grãos (FG) demonstrados de acordo com a significância da interação entre tratamentos e CEC com ambientes para cada caractere.

FV	Caracteres		
	AE (m)	PTCP (t ha ⁻¹)	AG (cm)
D. Rogers x s_{ij1}	--	23.47ns	15.30ns
D. Rogers x s_{ij2}	--	27.02*	18.81ns
D. Rogers x \bar{s}_{ij}	54.39*	30.40*	23.45ns
D. Rogers x (\bar{x}_1)	50.20*	5.86ns	-6.07ns
D. Rogers x (\bar{x}_2)	43.73*	30.94*	22.67ns
D. Rogers x (\bar{x}_m)	--	21.59ns	15.05ns
\bar{s}_{ij} x (\bar{x}_1)	52.18*	--	--
\bar{s}_{ij} x (\bar{x}_2)	53.13*	--	--
s_{ij1} x (\bar{x}_1)	--	85.30*	83.59*
s_{ij2} x (\bar{x}_2)	--	87.60*	90.02*

FV	Caracteres			
	AP (m)	PCSP (t ha ⁻¹)	CE (cm)	FG
D. Rogers x \bar{s}_{ij}	38.47*	38.8*	54.47*	43.95*
D. Rogers x \bar{x}	57.90*	24.08*	50.35*	23.36ns
\bar{s}_{ij} x \bar{x}	59.66*	95.11*	80.08*	57,07*

ns e *: não significante e significante pelo teste de t ($p \leq 0,05$) respectivamente. s_{ij1} , s_{ij2} e \bar{s}_{ij} : estimativas de CEC para safra 2016/2017, safrinha 2017 e ambiente médio respectivamente. \bar{x}_1 , \bar{x}_2 e \bar{x}_m : médias para safra 2016/2017, safrinha 2017 e ambiente médio respectivamente.

4.12 Comparação entre os dois métodos utilizados para determinação dos grupos heteróticos

Os progenitores P1 e P3, P4 e P5, e P6 e P7 ficaram agrupados juntos em ambas as metodologias utilizadas (Tabela 24). Se considerarmos que as linhagens 11 e 12, das quais se alocaram em grupos distintos utilizando a metodologia preditiva, fazem parte do mesmo grupo devido à proximidade dos grupos formados, as características morfológicas e a sua comum origem, então podemos dizer que houve

a coincidência entre as duas metodologias quanto ao agrupamento em 8 das 12 linhagens utilizadas neste trabalho, representando uma coincidência de 67%.

Vale citar que os híbridos mais promissores desenvolvidos neste trabalho estão em avaliação pela empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda. nas principais regiões produtoras a fim de selecionar genótipos com potencial para serem introduzidos nos mercados de milho doce para consumo *in natura* e para o processamento industrial. Tais combinações híbridas são provenientes de cruzamentos entre progenitores de planta braquítica provenientes da população “PopTe2” com progenitores sem o gene *br2* provenientes tanto da população “PopTe1” quanto da população “PopTe2”, quando da seleção para atender o mercado para consumo *in natura*. Ao passo que as combinações híbridas mais promissoras para atender o mercado de indústria foram obtidas cruzando-se progenitores provenientes da população “PopTr” com progenitores provenientes das outras duas populações, independentemente do tipo de planta. Tal fato corrobora com o agrupamento obtido através das estimativas de CEC.

Apesar do agrupamento obtido por meio das estimativas de CEC ter se mostrado mais eficaz que o obtido por meio dos dados moleculares, recomenda-se a utilização de marcadores moleculares para tal fim, com o intuito de direcionar os cruzamentos para validação de tais grupos e, posteriormente, adotar-se metodologia quantitativa de agrupamento para ajuste dos grupos formados. Pois a utilização de cruzamentos dialélicos é limitada pelo número de progenitores a serem incluídos no estudo devido ao aumento considerável no número de combinações híbridas possíveis de serem desenvolvidas e posteriormente avaliadas.

Segundo Bernardo (2010), atribuir determinada linhagem ou população à grupos heteróticos pode ser mais complexo quando não há determinação de grupos heteróticos previamente. Nestas situações os marcadores moleculares têm sido usados para classificar o germoplasma em grupos ou subgrupos homogêneos. As análises estatísticas de agrupamento e de componentes principais são úteis neste propósito. Posteriormente, genótipos representativos destes grupos podem ser utilizados em cruzamentos dialélicos e os mais promissores podem ser alocados em grupos heteróticos potenciais.

De acordo com o presente trabalho, a definição de grupos heteróticos em milho superdoce é tarefa complexa e envolve o uso de metodologias preditivas e quantitativas para sua definição, bem como conhecimento quanto a genealogia do

germoplasma de estudo e acompanhamento posterior quanto a aceitabilidade do mercado frente ao uso e desempenho das combinações híbridas desenvolvidas.

Deste modo, levando todas essas variáveis em consideração, definem-se três grupos heteróticos para as linhagens de milho superdoce pertencentes à empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda. Sendo um grupo constituído de linhagens de planta braquítica e germoplasma temperado “PopTe2”, um segundo grupo constituído de linhagens provenientes de populações de germoplasma temperado (PopTe1 e PopTe2) mas sem o gene *br2*, e, um terceiro grupo constituído de linhagens provenientes da população “PopTr” de germoplasma adaptado a clima tropical.

Tabela 24 – Comparação entre o agrupamento realizado com o método preditivo via dados de marcadores moleculares (DAPC) e o agrupamento realizado com o método quantitativo baseado nas estimativas de (CEC) obtidas do dialelo completo de Griffing (1956) método 2.

Progenitor	População de origem	Grupos (DAPC)	Grupos (CEC)	Planta braquítica	Espiga (Comprimento/Formato)
P1	PopTe1	10	3	Não	Media/Cônica
P2	PopTe1	15	?	Não	Media/Cônica
P3	PopTe1	10	3	Não	Media/Cônica
P4	PopTe1	4	2	Não	Media/Cônica
P5	PopTe1	4	2	Não	Media/Cônica
P6	PopTe2	6	1	Sim	Curta/Cônica
P7	PopTe2	6	1	Sim	Curta/Cônica
P8	PopTe2	2	?	Não	Media/Cônica
P9	PopTe2	16	?	Não	Media/Cônica
P10	PopTe2	13	1	Sim	Curta/Cônica
P11	PopTr	8	4	Não	Comprida/Cilíndrica
P12	PopTr	11	4	Não	Comprida/Cilíndrica

5 CONCLUSÕES

- Apesar dos diferentes métodos utilizados para a definição dos grupos heteróticos serem válidos, considerou-se o método baseado nas estimativas de CEC mais assertivo.

- Os caracteres PCSP e CE foram os mais informativos quanto a formação dos grupos heteróticos baseado nas estimativas de CEC.

- Recomenda-se a utilização de metodologia preditiva (por meio de marcadores moleculares) e quantitativa (por meio de análise dialélica) na definição de grupos heteróticos em milho superdoce bem como levar em consideração informações quanto a genealogia das linhagens e desempenho das combinações híbridas desenvolvidas frente a demanda de diferentes mercados potenciais.

- Dividiram-se as linhagens de milho superdoce pertencentes à empresa Sakata Seed Sudamerica Ltda em três grupos heteróticos. Grupo 1: linhagens de planta braquítica provenientes da população “PopTe2”; Grupo 2: linhagens provenientes das populações “PopTe1” e PopTe2” sem a presença do gene br2; Grupo 3: linhagens provenientes da população “PopTr” com boa adaptação para clima tropical.

REFERÊNCIAS

- ABCSEM. **Associação brasileira do comércio de sementes e mudas**. Campinas, 2014. Disponível em: <http://abcsem.com.br>, Acesso em: 14 jan. 2019.
- ANDERSON, J. C. and CHOW, P. N. Phenotypes and grain yield associated with brachytic-Z gene in single cross hybrids of dent com. **Crop Science**. v. 3, p. 111-113, 1963.
- ARAGÃO, C. A. **Avaliação de híbridos simples braquíticos de milho super doce (*Zea mays L.*) portadores do gene shrunken-2 (sh2sh2) utilizando o esquema dialélico parcial**. Tese (Doutorado). Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônomicas – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2002. 101 p.
- ASSUNÇÃO, A. **Heterose e seus componentes em oito populações de milho doce e seus híbridos**. 2006. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- ALMEIDA, C.; AMORIM, E. P.; BARBOSA NETO, J. F.; CARDOSO FILHO, J. A.; SERENO, M. J. C. M. Genetic variability in populations of sweet corn, common corn and teosinte. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, p. 64-69, 2011.
- ALMEIDA, C. C. S. **Análise citogenética e molecular em milho (*Zea mays subsp. mays*), teosinto (*Zea mays subsp. mexicana*) e seus híbridos**. 2003. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- BALESTRE, M. et al. Comparison of maize similarity and dissimilarity genetic coefficients based on microsatellites markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 4, p. 695-705, Jul-Ago, 2008.
- BANDEL, G. Genética. In: Paterniani, E. (coord.) **Melhoramento e Produção do Milho no Brasil**. Piracicaba, ESALQ/USP. Marprint, pp. 97-118, 1978.
- BARBOSA-NETO, J.F.; BERED, F.; SPELLMEIER, M.; TERRA, T.F. Genetic variation among and within sweet corn populations detected by RAPD and MICROSSATÉLITES markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 5, p. 418-425, 2005.
- BARRIOS, S. C. L.; DUARTE, F. C.; SOUZA JR., C. L. Alocação de linhagens de milho em grupos heteróticos baseando-se em marcadores moleculares e cruzamentos dialélicos. In: 55º CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, Águas de Lindoia, 2009. **Resumos...** Águas de Lindoia: Águas de Lindoia, 2009. Disponível em CD ROM.
- BERED, F.; TERRA, T. F.; SPELLMEIER, M.; NETO, J. F. B. Genetic variation among and within sweet corn populations detected by RAPD and SSR markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 5, p. 418-425, 2005.
- BERNARDO, R. Heterosis and hybrid prediction. In: **Breeding for quantitative traits in plants**. Minnesota: Stemma Press, 2010. p. 311-313.

- BORDALLO, P. N.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; GABRIEL, A. P. C. Análise dialéctica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. **Hort. Bras.**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 123-127, 2005.
- BORÉM, A. (Ed.) **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa: UFV, 1999. 546 p.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, p. 314-331, 1980.
- BOYER, C.D.; SHANNON, J.C. The use of endosperm genes for sweet corn improvement. **Plant Breeding Review**, v. 1, p. 139-139, 1984.
- BREWBAKER, J. L. Six Tropical Supersweet corn inbreds. **Hort Science**, Alexandria, v. 45, n. 9, p. 1388-1391, 2010.
- BREWBAKER, J. L.; MARTIN, I. Breeding Tropical Vegetable Corns. In: JANICK, J. **Plant Breeding Reviews**, v. 39, Nova Jersey, 2015. p. 125-198.
- BUZAR, A. G. R.; OLIVEIRA, V. R.; BOITEUX, L. S. Estimativa da diversidade genética de germoplasma de cebola via descritores morfológicos, agronômicos e bioquímicos. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 513-518, 2007.
- COCHRAN, W. G.; COX, G. M. **Experimental Designs**. Nova Iorque: John Wiley and Sons, 1957. 611p.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013
- CRUZ, C. D. **Programa GENES: diversidade genética**. Viçosa: Ed. UFV, 2008.
- CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde de Rio Branco, MG: Suprema, 2011. 620 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 2004. Cap. VII, p. 223-375.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. C. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, v. 2, 2003. 585 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa: UFV, p. 390. 1994.
- CRUZ, C. D., VENCOSKY, R. Comparação de alguns métodos de análise dialéctica. **R. Bras. Genet.**, v.12, p. 425-438, 1989.
- DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 945-954. 2009.
- DON, R. H.; COX, P. T.; WAINWRIGHT, B. J.; BAKER, K.; MATTICK, J. S. Touchdown. PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. **Nucleic Acids Research**, v. 19, p. 4008-4008, 1991.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, p. 479-491, 1992.

FALCONER, D.S. Introdução à genética quantitativa, Trad. SILVA, M.A. & SILVA, J.C. Viçosa, UFV. **Imprensa Universitária**, P. 279, 1987.

FORD, R. H. Inheritance of Kernel Color in Corn: Explanations & Investigations. **National Association of Biology Teachers**, v. 62, p. 181-188, 2000.

FRITSCHÉ-NETO, R.; VIEIRA, R. A.; SCAPIM, C. A.; MIRANDA, G. V.; REZENDE, L. M. Updating the ranking of the coefficients of variation from maize experiments. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 34, p. 99-101, 2012.

GALLINAT, W. C. The practical use of high quality but defective endosperm traits. **Maize Genetics Cooperation Newsletter**, Columbia, v. 49, p. 98-99. 1975.

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

GARWOOD, D. L.; CREECH, R. G. Pennfresh ADX hybrid sweet corn. **Hort Science**, Alexandria, v. 14, p. 645, 1979.

GETHI, J. G.; LABATE, J. A.; LAMKEY, K. R.; SMITH, M. E.; KRESOVICH, S. SSR variation in important US maize inbred lines. **Crop Science**, v. 94, p. 6809-6814, 2002.

GRIFFING, A. R. **Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system**. Australian Journal of Biological Science, Victoria, v. 9, p. 463-493, 1956.

GONZÁLEZ, S.; CÓRDOVA, H.; RODRÍGUEZ, S.; LEÓN, H.; SERRATO, V. M. Determinacion de un patron heterotico a partir de la evaluacion de un dialelo de diez líneas de maiz subtropical. **Agronomia Mesoamericana**, El Salvador, v. 8, p. 1-7, 1997.

GUIMARÃES, P.; PATERNIANI, M. E. A.; LURDES, R.; SOUZA, A. de.; LAORDA, P.; OLIVEIRA, K. Correlação de heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 42, n. 6, p. 811-816, 2007.

HOISINGTON, D.; KHAIRALLAH, M.; GONZÁLEZ-LÉON, D. Laboratory Protocols: **CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory**. Mexico: CIMMYT, 1994. 50 p.

ITO, G. M.; BREWBALKER, J. L. Genetic advance through mass selection for tenderness in sweet corn. **Journal of the America Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 106, p. 469, 1981.

JAMES, M. G.; ROBERTSON, D. S.; MYERS, A. M. Characterization of the maize gene *Sugary1*, a determinant of starch composition in kernels. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, p. 417-428, 1995.

JOMBART, T. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. **Bioinformatics**. v. 24, p. 1403–1405, 2008.

KAUKIS, K.; DAVIS, D. W. Sweet corn breeding. In: BASSET, M. J. **Breeding vegetable crops**. Gainesville: Avi, 1986. cap. 13, p. 475-519.

LEE, M. DNA markers and plant breeding programs. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 55, p. 265-344, 1995.

LEGENDRE P, LEGENDRE L. **Numerical Ecology**. Amsterdam: Elsevier. 2 ed. 1998.

LENG, E. R. Genetic production of short stalked hybrids. In: A Hybrid Corn Industry Research Conference, 12., 1957.

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

LOPES, A. D. **Divergência genética entre linhagens de milho doce estimada por microssatélites**. 2008. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR.

LOPES, A. D. **Avaliação da diversidade genética e da estrutura de populações de milho doce estimada por microssatélites**. 2012. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR.

MARSHALL, S. W. Sweet corn. In: Watson, S.A.; RAMSTAD, P.E. *Corn: Chemistry and Technology*, 1. Ed., St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1987. p. 431-445.

MELCHINGER, A. E.; GUMBER, R. K. Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops, In: LAMKEY, K. R.; STAUB, J. E. (eds). **Concepts and breeding of heterosis in crop plants**. Madison: CSSA, 1998, p. 29–44.

MORALES, M.; DECKER, V.; ORNELLA, L. Analysis of genetic diversity in Argentinian heterotic maize populations using molecular markers. **Ciencia e investigación agraria**, v. 37, p. 151-160, 2010.

NELSON, O. E.; RINES, H. W. The enzymatic deficiency in the waxymutant of maize. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, New York, v. 131, p. 297-300, 1962.

OLIBONI, R.; FARIA, M. V.; NEUMANN, M.; RESENDE, J. T. V.; BATTISTELLI, G. M.; TEGONI, R. G.; OLIBONI, D. F. Análise dialéctica na avaliação do potencial de híbridos de milho para a geração de populações-base para obtenção de linhagens. **Semina ciências agrárias**, v. 34, p. 7-18, 2013.

OLIVEIRA, J. S.; SOBRINHO, F. S.; FERNANDES, S. B. V.; WUNSCH, J. A.; LAJUS, C. A.; DUFLOTH, J. H.; ZANATTA, J. C.; MOLETTA, J. L.; PEREIRA, A. V.; LEDO, F. J. S.; BOTREL, M. A.; AUAD, M. V. Estratificação de ambientes, adaptabilidade e estabilidade de híbridos comerciais de milho para silagem no Sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, p. 997-1007, 2004.

PAIVA, A. P. M. **Cruzamentos entre linhagens tropicais de milho doce e testadores com introgressão de germoplasma temperado**. 2014, 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

PARENTONI, S. N.; GAMA, E. E. G.; MAGNAVACA, R.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; VILLAS BOAS, G. L. Milho doce. **Informe Agropecuário**, v. 14, p. 17-22, 1990.

PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; GUIMARÃES, P.; LURDERS, R. R.; GALLO, P.; DE SOUZA, A.; LA BORDA, P.; OLIVEIRA, K. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 639-648, 2008.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Mol. Ecol. Notes**. v. 6, p. 288–295, 2006.

PEARSON, K. Mathematical contributions to the theory of evolution III. Regression, heredity and panmixia. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v.187, p. 253-318, 1896.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J. C.; GAMA, E. E. G. Cultivares para o consumo verde. In: PEREIRA FILHO, I.A. (ed.). **O cultivo do milho verde**. Brasília: Embrapa, 2003. p.17-30.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J. C.; BORGHI, E. Cultivares de milho-doce. In: **O cultivo do milho-doce**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 55-60.

PFANN, A. Z.; FARIA, M. V.; ANDRADE, A. A.; NASCIMENTO, I. R.; FARIA, C. M. R. R.; BRIGHENTTI, R. M. Capacidade combinatória entre híbridos simples de milho em dialelo circulante. **Ciência Rural**, v. 39, p. 635-641, 2009.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: Livraria Nobel, 2000. 477 p.

PINTO, M. O.; TEIXEIRA, F. F.; GUIMARÃES, C. T. Diversidade genética de milho-doce utilizando marcadores microsatélites. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 31., Bento Gonçalves. **Anais** [...]. Bento Gonçalves-RS, 2016.

PINTO, R. M. C.; GARCIA, A. G. F.; SOUZA JR, C. L. Alocação de linhagens de milho derivadas das populações BR-105 e BR-106 em grupos heteróticos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 541-548, 2001.

RAO, N. K. S.; PANWAR, R. D.; CHACO, E. K. Differentiation of plantlets in hybrid embryo callus of pineapple. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 15, p. 235-238, 1981.

REGAZZI, A. J.; SILVA, H. D.; VIANA, J. M. S.; CRUZ, C. D. Análise de experimentos em látice quadrado com ênfase em componentes de variância. II. Análise conjunta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1987-1997, 1999.

REVILLA, P.; TRACY, W.F. Heterotic patterns among open-pollinated sweet corn cultivars. **Journal of American Society for Horticultural Sciences**, Mount Vernon, v. 122, n. 3, p. 3219-324, 1997.

RUPP, J. V.; MANGOLIN, C. A.; SCAPIM, C. A.; MACHADO, P. S. M. F. Genetic Structure and diversity among sweet corn (*su1*-germplasm) progenies using SSR markers. **Maydica**, v. 54, p. 125-132, 2009.

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

SCOTT, G. E. and CAMPBELL, C. M. Internode length and brachytic-2 maize inbreds in single cross. **Crop Science**, v. 9, p. 293-295, 1969.

SILVA, T. A. **Análise da diversidade e estrutura genética de variedades de milho pipoca utilizando marcadores microssatélites**. 2012. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR.

SILVA, H. D. REGAZZI, A. J.; CRUZ, C. D.; VIANA, J. M. S. Análise de experimentos em látice quadrado com ênfase em componentes de variância. I. Análises individuais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1811-1822, 1999.

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 MICROSSATÉLITES loci as molecular markers in maize (*Zea mays L.*): comparisons with data from RFLPS and pedigree. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 163-173, 1997.

SOLOMON, K. F.; MARTIN, I.; ZEPPA, A. Genetic effects and genetic relationships among shrunken (*sh2*) sweet corn lines and F1 hybrids. **Euphytica**, Wageningen, v. 185, p. 385-394, 2011.

SOLOMON, K. F.; MARTIN, I.; ZEPPA, A. Combining ability, genetic diversity and heterosis in relation to F1 performance of tropically adapted shrunken (*sh2*) sweet corn lines. **Plant Breeding**, State of Queensland, v. 131, p. 430-436, 2012.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General vs. Specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of American Society of Agronomy**, v. 34, p. 923-932, 1942.

SRDIC, J.; NIKOLIC, A.; PAJIC, Z.; DRINIC, S.M.; FILIPOVIC, M. Genetic similarity of sweet corn inbred lines in correlation with heterosis. **Maydica**, Bérgamo, v. 56, p. 251-256. 2011.

STORCK, L.; LOVATO, C. Milho doce. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 21, n. 2, p. 283-292, 1991.

TERRA, T. F.; WIETHÖLTER, P.; ALMEIDA, C. C.; ANJOS E SILVA, S. D.; BERED, F.; SERENO, M. J. C. M.; BARBOSA NETO, J. F. Genetic variability in maize and teosinte populations estimated by microsatellites markers. **Ciência Rural**, v. 41, p. 205-211, 2011.

TRACY, W. F. History, Genetics, and Breeding of Supersweet (*shrunk* 2) Sweet Corn. In: JANICK, J. **Plant Breeding Reviews**, v. 14, 1997, p. 189-236.

TRACY, W. F. Sweet corn. In: HALLAUER, A.R.(Ed.). **Specialty corns**. Boca Raton: CRC Press, cap. 6. 2001. p. 161-204.

TREAT, C. L.; TRACY, W. F. Contributions of Dent Corn Germplasm to Stalk and Root Quality in Sweet Corn. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 118, n. 6, p. 885-889. 1993.

VOLTZ, A. W. **Ganho genético para caracteres adaptativos em populações de milho doce**. 2002. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

VON PINHO, R. G.; BALESTRE, M.; MELO, W. M. C. Controle genético do desempenho de híbridos de milho utilizando pedigrees complexos. In: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Águas de Lindóia, 2002. **Resumos...** Águas de Lindóia: Embrapa, 2012. Disponível em CD ROM.

WIETHOLTER, P. **Análise da variabilidade genética em genótipos de milho crioulo**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2005. 77 p.

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

YUWONO, P. D.; MURTI, R. H.; BASUNANDA, P. Heterosis and Specific Combining Ability in Sweet Corn and Its Correlation with Genetic Similarity of Inbred Lines. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, p. 245-253, 2017.