

PROGÊNIES PARCIALMENTE ENDOGÂMICAS NO
MELHORAMENTO DO MILHO-PIPOCA: ANÁLISE BIOMÉTRICA DE
TOPCROSSES E DIVERGÊNCIA GENÉTICA FUNCIONAL POR
MARCADORES SSR-EST

GUILHERME FERREIRA PENA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO- 2015

PROGÊNIES PARCIALMENTE ENDOGÂMICAS NO
MELHORAMENTO DO MILHO-PIPOCA: ANÁLISE BIOMÉTRICA DE
TOPCROSSES E DIVERGÊNCIA GENÉTICA FUNCIONAL POR
MARCADORES SSR-EST

GUILHERME FERREIRA PENA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Genética e Melhoramento
de Plantas.

Orientador: Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO – 2015

PROGÊNIES PARCIALMENTE ENDOGÂMICAS NO
MELHORAMENTO DO MILHO-PIPOCA: ANÁLISE BIOMÉTRICA DE
TOPCROSSES E DIVERGÊNCIA GENÉTICA FUNCIONAL POR
MARCADORES SSR-EST

GUILHERME FERREIRA PENA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Genética e Melhoramento
de Plantas.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2015.

Comissão Examinadora:

Prof. Gonçalo A. de Souza Filho (D.Sc. em Biociências e Biotecnologia) – UENF

Prof. Rogério Figueiredo Daher (D.Sc. em Produção Vegetal) – UENF

Prof. Silvério de Paiva Freitas Júnior. (D.Sc. em Genética e Melhoramento de
Plantas) - UFCA

Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D.Sc. em Genética e Melhoramento de
Plantas) - UENF
(Orientador)

À minha mãe Pompéia Leandro Ferreira,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a plenitude da vida e a sabedoria por ela proporcionada;

À minha família, em especial, minha mãe, meu pai (*in memoriam*) e meus irmãos, pelo carinho, compreensão e momentos de superação vividos;

À UENF, pela infraestrutura concedida e pelo suporte financeiro para realização deste trabalho, e à Faperj, pela concessão da bolsa de estudos;

À minha namorada Fernanda, pelo amor, carinho, companheirismo e dedicação;

Ao Professor Antônio Teixeira do Amaral Júnior, pela orientação e por acreditar em meu potencial, proporcionando meu crescimento profissional;

Aos Professores Silvério de Paiva Freitas Júnior, Gonçalo Apolinário de Sousa Filho e Rogério Figueiredo Daher, pelo conhecimento transmitido e ajuda na condução do trabalho;

Aos Professores Leandro Simões Azeredo Gonçalves e Líliam Cândido Silva, pela amizade e ajuda durante a pós-graduação;

Aos Professores do programa de Genética e Melhoramento de Plantas, por todo conhecimento transmitido nestes quatro anos de estudo e pesquisa;

Ao secretário do Programa, Daniel, pela eficiência e prontidão em nos ajudar;

À Capes, pela concessão da bolsa de doutorado sanduíche (PDSE) e por tornar possível a realização de um grande desafio pessoal e objetivo profissional;

À North Dakota State University (NDSU), por proporcionar meu intercâmbio e pela infraestrutura desfrutada durante o período;

Aos professores Marcelo J. Carena e Richard Horsley, pela orientação no exterior e pela recepção e suporte em Fargo – USA;

Aos meus amigos de Viçosa, Eduardo, Leandro, Bruno, Emiliano, pela amizade eterna;

Aos amigos do voo livre, Éder, Serginho, Dênis e Emerson, pela paz e energias positivas;

A todos os meus amigos, colegas e companheiros do LMGV e agregados, em especial ao Rodrigo, Pedro, Gabrielle, Railan, Cássio, Thiago, Higino, Luciano, Juliana, Amanda, Ismael (boy magia), Adriano (social), Professor Jardel, Jôsie, Joacarla, Júlio e “Maria”(eu sei que você treme!), pela ajuda nos experimentos de campo, sem vocês, com certeza, essa tese não seria concluída;

Aos funcionários da Pesagro-Rio de Itaocara, pelo exemplo de profissionalismo, ajuda prestada nestes anos e pelos churrascos inesquecíveis após as colheitas de experimento;

Aos Técnicos, ao funcionário da UENF Geraldo Carvalho, pela amizade e pelos conhecimentos de campo transmitidos nestes seis anos de convívio, e ao Dr. Leandro Espanhol, pelo empenho em coordenar os experimentos na estação de Itaocara;

À Dra e técnica do LMGV Marcela Boechat, pela grande ajuda com as análises moleculares;

À Luzimara e Valdinei, por estarem sempre ao nosso lado no campo, quando o sol mostra seu pino!

Aos amigos de república Gominha, Rodrigo, Pedro, Higino, Reginaldo (papito) e Bahiano pelos momentos de lazer e pela paciência exercitada.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3.1 Aspectos Evolutivos, Botânicos e Importância Socioeconômica do Milho	5
3.2 Melhoramento do Milho-Pipoca no Brasil e na UENF.....	8
3.3 Milho Híbrido.....	11
3.4 Tipos de Híbridos.....	13
3.5 Obtenção de Linhagens.....	16
3.5.1 Escolha de Populações-Base.....	16
3.5.2 Obtenção de Linhagens Endogâmicas.....	17
3.5.3 Avaliação da Capacidade Combinatória das Linhagens	19
3.5.4 Escolha dos Testadores.....	21
3.6 Depressão por Endogamia.....	23
3.7 Diversidade Genética.....	25
3.8 Marcadores Moleculares.....	27
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Local de Cultivo.....	30

4.2 Material Vegetal.....	30
4.3 Métodos.....	31
4.4 Obtenção de Famílias S_3	32
4.5 Obtenção dos Híbridos <i>Topcrosses</i>	32
4.6 Avaliação dos Híbridos <i>Topcrosses</i> e das Famílias S_3 <i>per se</i>	32
4.6.1 Delineamento Experimental.....	32
4.6.2 Preparo do Solo, Semeadura e Tratos Culturais.....	33
4.6.3 Características Avaliadas.....	33
4.6.3.1 Capacidade de Expansão dos Grãos.....	33
4.6.3.2 Rendimento de Grãos.....	34
4.6.3.3 Altura de Planta e de Espiga.....	34
4.6.3.4 Depressão por Endogamia.....	34
4.6.3.5 Data de Florescimento.....	34
4.6.4 Análise Estatística e Genética dos Dados.....	35
4.6.4.1 Análise de Variância.....	35
4.6.4.2 Estimativas dos Componentes de Variância e Parâmetros Genéticos e Fenotípicos.....	35
4.6.4.3 Análise em Dialelo Parcial.....	36
4.6.4.4 Capacidade de Discriminação dos <i>Topcrosses</i>	38
4.6.4.5 Correlação de Spearman.....	38
4.6.4.6 Estimativa da Heterose Relativa de Cada <i>Topcross</i>	39
4.6.5 Análises Moleculares e Divergência Genética.....	39
4.6.5.1 Seleção dos Primers SSR-ESTs.....	39
4.6.5.2 Preparo das Amostras Para Avaliação.....	40
4.6.5.3 Extração de DNA.....	40
4.6.5.4 Reação da Polimerase em Cadeia (PCR).....	42
4.6.5.5 Eletroforese.....	44
4.6.5.6 Análise dos Dados Moleculares.....	44
4.6.5.7 Correlação de Spearman entre Dados Moleculares e Fenotípicos.....	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.1 Análises de Variâncias.....	46
5.2 Estimativas de Parâmetros Genéticos e Fenotípicos.....	49
5.3 Análise de Variância e Estimativa dos Efeitos da Capacidade de	

Combinação.....	52
5.4 Capacidade de Discriminação dos <i>Topcrosses</i>	63
5.5 Estimativas de Correlação entre Médias de Famílias S_3	68
5.6 Estimativas de Heterose nos Híbridos <i>Topcrosses</i>	71
5.7 Escolha do Testador.....	76
5.8 Estimativa da Depressão Endogâmica.....	80
5.9 Análise dos Dados Moleculares.....	81
5.9.1 Divergência Genética entre as Famílias S_3	81
5.9.2 Correlação entre Capacidade Combinatória e Heterose com Divergência Genética.....	90
6. CONCLUSÕES.....	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94

RESUMO

PENA, Guilherme Ferreira; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro, 2015. Progenies Parcialmente Endogâmicas no Melhoramento do Milho-Pipoca: Análise Biométrica de *Topcrosses* e Divergência Genética Funcional por Marcadores SSR-EST. Orientador: Antônio Teixeira do Amaral Júnior. Conselheiros: Gonçalo Apolinário de Souza Filho e Rogério Figueiredo Daher.

O desenvolvimento de combinações híbridas superiores está fundamentado na correta obtenção e avaliação acertada de linhagens. A metodologia *topcross* foi introduzida com a finalidade de avaliar o valor genético de linhagens em cruzamento. Os objetivos deste trabalho foram comparar quatro testadores para a discriminação e avaliação da capacidade combinatória de 50 famílias S_3 , oriundas da variedade de milho-pipoca UENF 14 (*Zea mays* L. var. Everta), quantificar o grau de divergência genética entre as famílias S_3 e inferir sobre possíveis correlações entre capacidade combinatória e divergência genética. As famílias foram avaliadas por seu desempenho *per se* e em seus cruzamentos com os testadores: dois de base genética ampla (BRS Angela e UENF 14) e dois de base genética estreita (IAC 125 e Linhagem P2). O experimento foi conduzido em delineamento experimental em blocos ao acaso, e sua avaliação feita na Estação Experimental da Pesagro-Rio, em Itaocara, Estado do Rio de Janeiro, durante o ano agrícola de 2013/2014. Os parâmetros genéticos e fenotípicos de rendimento de grãos (RG) e capacidade de expansão (CE) foram obtidos e comparados entre

si por meio das estimativas procedentes das progênies obtidas, ou seja, dos *topcrosses* com cada testador e das famílias S_3 *per se*. As capacidades geral (CGC) e específica de combinação (CEC) foram estimadas segundo o modelo de dialelo parcial de Griffing (1956), adaptado por Geraldi e Miranda Filho (1988). Foram avaliados também a capacidade de discriminação dos testadores por meio do índice de diferenciação e o desempenho proposto por Fasoulas (1983) para com as estimativas das heteroses relativas aos testadores *per se*, bem como da depressão endogâmica nas famílias S_3 , e as correlações entre o desempenho das famílias e dos seus respectivos híbridos *topcrosses*. O testador mais indicado neste estudo para avaliar as 50 famílias S_3 para rendimento de grãos foi a variedade BRS Angela e, para capacidade de expansão, a variedade IAC 125. O estudo da divergência genética entre os testadores e entre as famílias S_3 foi feito com base em 25 marcadores gênicos SSR-EST polimórficos. Tendo como base a matriz numérica obtida pela atribuição de valores às marcas moleculares, foi gerada uma matriz de distâncias genéticas, possibilitando então obter estimativas como número de alelos (N_a), número de alelos efetivos (N_e), conteúdo de informação polimórfica (PIC), heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e), índice de diversidade de Shannon (I) e coeficiente de endogamia (F). Uma matriz de similaridade genética foi obtida através do Índice Ponderado, conforme proposto por Ramos et al. (2011) e construído um dendrograma com base nos valores de dissimilaridade pelo método hierárquico UPGMA. Constatou-se significativa variabilidade genética entre as famílias estudadas. Foi feita a correlação simples de Spearman (r) para verificar as coincidências entre as distâncias genéticas e capacidade combinatória e heterose. As estimativas obtidas para rendimento de grãos e capacidade de expansão indicam baixas correlações entre todos os parâmetros avaliados.

ABSTRACT

PENA, Guilherme Ferreira; D.Sc.; North Fluminense State University Darcy Ribeiro. February, 2015. Partly Inbred Progenies in Popcorn Breeding: Biometric Analysis Topcrosses and Functional Divergence Genetic by EST-SSR Markers. Adviser: Antônio Teixeira do Amaral Júnior. Committee Members: Gonçalo Apolinário de Souza Filho e Rogério Figueiredo Daher.

The development of superior hybrids is based on the correct obtaining and evaluating of lines. The topcross methodology was introduced in order to evaluate the genetic value of lines in crossing. The objectives of this work were to compare four testers for discrimination and evaluation of the combining ability of 50 S_3 families that came from the variety of popcorn UENF 14 (*Zea mays* L. var. Everta), verify the degree of genetic divergence between the S_3 families and infer about possible correlations between combining ability and genetic divergence. The families were evaluated by their “*per se*” performance and their crosses with the tester (topcross or testcross), being two of them broad genetic base (BRS Angela and UENF 14) and two, a restrict genetic base (IAC 125 and inbred line P2). The experiment was carried out using an experimental design in blocks, at the Experimental Station of PESAGRO-RIO in Itaocara, State of Rio de Janeiro, during the harvest time of 2013/2014. The phenotypic and genetic parameters of yield of grain (YG) and popping expansion (PE) were reached and compared with each other through their originated estimates from the reached progenies, with each tester and the “*per se*” families. The general and specific combination ability

was estimated according to the partial diallel design of Griffing (1956), adapted by Geraldi and Miranda Filho (1988). The discrimination ability of the testers compared to the differentiation index and the performance proposed by Fasoulas (1983), the heterosis from the topcrosses related to the “*per se*” families, estimates of inbreeding depression in S_3 families, and the correlations between the families performances and their their respective topcrosses were also evaluated. It was concluded that the testers most appropriate in this study to evaluate the 50 S_3 families, for grain yield, was the variety BRS Angela and, for capacity expansion, the IAC 125. The study of genetic divergence between the testers and between the S_3 families was based on 25 EST-SSR polymorphic gene markers. Based on the numerical matrix obtained by assigning values to molecular markers, a matrix of genetic distances was generated enabling then to obtain estimate as the number of alleles (N_a), effective number of alleles (N_e), polymorphic information content (PIC), heterozygosity observed (H_o) and expected (H_e), Shannon diversity index (I) and inbreeding coefficient (F). A genetic dissimilarity matrix was obtained by weighted index, proposed by Ramos et al. (2011), and a dendrogram based on the similarity values by UPGMA hierarchical method was built. It was found that there is significant genetic variability among the families studied. The simple Spearman correlation (r) was performed to verify the coincidence between genetic distance and heterosis and combining ability. The estimates obtained for yield and popping expansion indicate that there were low correlations between all parameters evaluated.

1. INTRODUÇÃO

Embora o café e a cana-de-açúcar tenham sido responsáveis por grande parte da economia de mercado no Norte e Noroeste do Rio de Janeiro, atualmente, nestas regiões, o agronegócio é pouco expressivo, ocupando a cana-de-açúcar a quase totalidade das terras agricultáveis, com baixa rentabilidade de cultivo (Souza et al., 2010).

A diversificação agrícola é uma estratégia interessante para minimizar os problemas socioeconômicos provenientes do monocultivo de baixa rentabilidade da cana-de-açúcar. Entre as opções de cultivo agrícola disponíveis, a cultura do milho-pipoca (*Zea mays* L. var. Everta) é considerada uma alternativa viável, por ter boa rentabilidade e grande aceitação popular (Aguiar et al., 2008; Mendes de Paula et al., 2010; Moterle et al., 2011; Rangel et al., 2011). Contudo, o reduzido número de cultivares disponíveis no mercado é considerado um dos principais entraves para a disseminação do cultivo (Miranda et al., 2003; Freitas Júnior et al., 2009a).

Com base nesta premissa, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) vem conduzindo, desde 1998, um programa de melhoramento de milho-pipoca com as seguintes vertentes de trabalho: utilização de seleção recorrente na população UNB-2U (Pereira e Amaral Júnior, 2001; Daros et al., 2002; Daros et al., 2004; Santos et al., 2007; Vilela et al., 2008; Freitas Júnior et al., 2009b; Ribeiro, 2012), obtenção de híbridos simples comerciais por meio da avaliação da capacidade combinatória por dialelo

circulante (Freitas Júnior et al., 2006; Rangel et al., 2007; Rangel et al., 2008) ou de meia-tabela ou convencional (Silva, 2011), e formação de compostos para uso em programas de seleção recorrente (Rangel et al., 2007).

O Programa de Seleção Recorrente da UENF está no sexto ciclo, tendo obtido resultados satisfatórios tanto para produtividade (de 1.250,00 para 3.020,00 kg.ha⁻¹) quanto para capacidade de expansão (19,25 para 32,00 mL.g⁻¹). De posse dessas informações, aliadas à teoria do milho híbrido proposta por Shull (1909), a obtenção de linhagens provenientes dessa população pode ser considerada uma eficiente estratégia para obtenção de híbridos de milho-pipoca com adaptação às regiões Norte e Noroeste Fluminense.

A escolha das melhores linhagens é feita principalmente pelo método genealógico, no qual, a seleção é efetuada visualmente entre e dentro de progênes endogâmicas durante as gerações segregantes, até que seja atingida a homozigose desejada. Nesse contexto, o sucesso de um programa de melhoramento está na obtenção de linhagens superiores e na capacidade de elas transmitirem as características desejáveis aos híbridos (Souza Júnior, 2001).

A seleção para capacidade de combinação das linhagens quando feita em gerações precoces de endogamia, ou seja, antes de atingir a geração S₆ ou S₇, aumenta eficiência do processo por reduzir, substancialmente, o número de linhagens antes de atingir a homozigose completa, reduzindo a quantidade de recursos e esforços envolvidos nas atividades de autofecundação. Assim, com o intuito de fazer seleção em linhagens, são feitos testes para avaliar, preliminarmente, o potencial delas, com o objetivo de selecionar famílias com valor genético elevado.

Nesse contexto, Davis (1927) e Jenkins e Brunson (1932) introduziram o uso do esquema *topcross* para avaliação do valor genético de linhagens em cruzamentos. Segundo este esquema, todas as linhagens de um determinado conjunto são cruzados com um mesmo testador, e o seu valor genético é determinado com base em contraste de médias (média do respectivo *topcross* – média geral) de caracteres quantitativos. Posteriormente, Jenkins (1935) e Sprague (1946) propuseram o uso do esquema *topcross* em gerações precoces, contribuindo para agilizar o esquema de desenvolvimento de linhagens.

Contudo, existem controvérsias no uso do esquema *topcross* referentes à escolha do testador, pois um determinado material pode ser um bom testador em

uma circunstância, mas não em outra (Miranda Filho e Gorgulho, 2001). Nesse contexto, o objetivo é encontrar um testador que discrimine com maior eficiência os genótipos de acordo com os fins da seleção. Para Matzinger (1953), um bom testador é aquele que combina praticidade no uso com o máximo de informação sobre o desempenho esperado das linhagens quando utilizado em outras combinações ou cultivadas em outros ambientes.

Vários trabalhos discutem o tipo mais adequado de testador, mas ainda persistem dúvidas sobre a base genética (ampla ou restrita), a frequência de alelos favoráveis (alta ou baixa), a capacidade de combinação a ser avaliada (geral ou específica), o rendimento *per se*, o número de testadores e o grau de parentesco do material avaliado. Aliadas a esse fato, as pesquisas sobre a definição de testadores, em especial milho-pipoca, não estão tão avançadas quando em comparação com milho comum, portanto, estudos correlatos são primordiais para o entendimento desta questão na cultura do milho-pipoca.

2. OBJETIVOS

1. Analisar a capacidade geral de combinação de famílias parcialmente endogâmicas S_3 de milho-pipoca, oriundas da variedade UENF14, e de quatro testadores relacionados e não relacionados, de base genética ampla e estreita;
2. Estimar a capacidade específica de combinação de 200 híbridos *topcrosses*, derivados de 50 famílias S_3 com quatro testadores;
3. Inferir sobre o grau de divergência genética entre as famílias parcialmente endogâmicas S_3 , oriundas da variedade UENF 14, e entre os híbridos *topcross*, por meio de marcadores moleculares SSR;
4. Comparar e avaliar testadores em famílias S_3 obtidas da variedade UENF 14 de milho-pipoca;
5. Verificar a correlação entre o grau de divergência genética entre as famílias S_3 e a heterose dos híbridos originados destas famílias;
6. Estimar a depressão por endogamia de caracteres agronômicos de interesse para a cultura do milho-pipoca; e
7. Avaliar a efetividade de produzir híbridos de linhagens parcialmente endogâmicas S_3 de milho-pipoca para as regiões Norte e Noroeste Fluminense.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ASPECTOS EVOLUTIVOS, BOTÂNICOS E IMPORTÂNCIA SÓCIO-ECONÔMICA DO MILHO

O significativo fato de o milho (*Zea mays* L.) ser considerado o cereal mais cultivado no mundo por si só dispensa qualquer importância introdutória dessa espécie no cenário econômico e sociocultural nacional e internacional. O milho desempenha importante papel em diversas cadeias produtivas, desde a alimentação animal (70% do volume utilizado nas rações) até a indústria de alta tecnologia (Buchweitz, 2010).

O milho é um cereal essencialmente americano, pois é aqui, neste Continente, que estão seus centros de origem e diversidade, especificamente, no México. Os parentes silvestres mais próximos do milho são o teosinte (*Zea diploperenni*, *Zea perennis*, *Zea luxuriantes*, *Zea mays mexicana*, *Zea mays parviglumis*, *Zea mays huehuetenangensis*) e o *Tripsacum* (*Tripsacum spp.*) (Hallauer, 1985).

Existem, atualmente, várias propostas que explicam a origem evolutiva do milho, mas apenas três realmente são mais consistentemente aceitas pela comunidade científica. A primeira, sugerida por Weatherwax (1954), afirma que o milho, o teosinte e o *Tripsacum spp.* originaram-se de um ancestral comum. A segunda hipótese, defendida por Mangelsdorf (1974), sugere o próprio milho como antepassado, ou seja, em sua concepção o teosinte se originou do milho. A

terceira hipótese, a mais aceita, é defendida por Beadle (1978) e Galinat (1974,1977), e sugere que o milho teria se originado de forma direta e unicamente do teosinte por intermédio de intensa seleção praticada pelo homem.

O milho é uma gramínea da família Poaceae, tribo Maydeae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. É uma planta monoica, alógama, anual, robusta e ereta, com $2n=2x=20$ cromossomos (Kerr, 1969; Zinsly e Machado, 1987).

Apesar de o Brasil estar entre os três maiores produtores de milho do mundo, atrás apenas dos EUA e China, a produtividade média do país ainda é considerada baixa, com valores em torno de cinco $t.ha^{-1}$ (Conab, 2015). Há relatos na literatura de respostas obtidas por híbridos nos EUA com produtividades acima de $14 t.ha^{-1}$ (Hallauer, 2010). Um fator que certamente limita a produtividade média de milho no Brasil é o grande número de pequenos produtores, que são menos tecnificados (Raposo, 2002). Cabe salientar que esta baixa produtividade não se atribui à falta, mas sim à não utilização de tecnologia (Ferreira et al., 2009). Além da não utilização de modernas tecnologias, Buchweitz (2010) também atribui à realidade produtiva nacional a diversidade de condições edafoclimáticas e o cultivo de subsistência.

Dados referentes à safra de 2014/2015 revelam uma produção nacional de 78,3 milhões de toneladas, ocupando uma área cultivada de aproximadamente 15,2 milhões de hectares com produtividade média de $5.184 kg.ha^{-1}$ (Conab, 2015). Esta produtividade se deve aos avanços genéticos praticados na agricultura moderna, principalmente com a exploração do chamado vigor híbrido ou heterose (Paterniani et al., 2001).

Além do milho comum, existem outros tipos de *Zea mays*, denominados milhos especiais, que ainda não receberam a mesma atenção dispensada ao milho comum. Entre os milhos especiais, os mais conhecidos são o minimilho, milho canjica, o milho doce e o pipoca. Apesar de o Brasil apresentar um enorme potencial para o cultivo desses milhos especiais, existem poucos híbridos e/ou variedades disponíveis para as indústrias nacionais de processamento (Bordallo et al., 2005; Raupp et al., 2008). Segundo Tracy (2001). O milho doce é um dos vegetais mais consumidos nos EUA e Canadá, especialmente na forma *in natura* e também por indústrias de enlatados.

Segundo Almeida et al. (2005), a produção de minimilho no Brasil ainda é inexpressiva, sem relatos de exportação, pelo contrário, o país importa este tipo

especial de milho em conserva, sobretudo do principal país produtor, a Tailândia. Em 2000, a exportação neste país alcançou cerca de 55.000 toneladas de minimilho enlatado, correspondente a cerca de 42 milhões de dólares (Aekatasanawan, 2001).

O melhoramento de milho-pipoca assim como dos demais milhos especiais desenvolvidos no país está mais de meio século atrasado em relação aos EUA, uma vez que se perpetuou nas nossas condições o cultivo de variedades de polinização aberta, o que favorece o uso de sementes pouco melhoradas pelos produtores. Ainda em se tratando de milho-pipoca, há um duplo objetivo para a seleção, mais difícil que o milho comum, pois, além do rendimento de grãos, há necessidade de se selecionar para capacidade de expansão, uma vez que, para o produtor, o importante é a produtividade, aliada a boas características agronômicas, enquanto para o consumidor, o interessante é a alta capacidade expansiva dos grãos (Pacheco et al., 2001). Além deste desafio, o melhorista ainda necessita de uma estratégia robusta que satisfaça ambas as partes, considerando que o rendimento e a expansão normalmente estão negativamente correlacionados (Zinsly e Machado, 1987).

Mesmo com tantas limitações, de acordo com os últimos levantamentos feitos para a cultura, apenas no primeiro semestre de 2011 a produção nacional de milho-pipoca comercializada na CEAGESP – SP chegou a 36 toneladas, atingindo o preço médio de R\$ 1,70 o quilo. Fazendo uma rápida análise comparativa entre milho-pipoca e milho comum, ressaltando a indisponibilidade de dados atuais de milho-pipoca, foi feito um comparativo entre a safra do último ano em que houve publicação dos dados para a cultura do milho-pipoca, tendo sido observado que a produção nacional do milho comum, na safra de 2011/2012, ultrapassou 62 milhões de toneladas, em uma área colhida de 14,8 milhões de hectares, sendo comercializado em média a US\$ 283,00 a tonelada, o que, atualmente, corresponderia a algo em torno de R\$ 0,75 o quilo (Agriannual, 2015). Guardando as devidas proporções e custos de produção, o tipo especial de milho (milho-pipoca) alcançou mais que o dobro do preço do milho comum.

Segundo o Ministério da Agricultura (MAPA), de acordo com o número de registros disponíveis no Sistema Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), até janeiro de 2015 havia 58 registros de cultivares de milho-pipoca, entre híbridos, linhagens e variedades. Entre os mantenedores, as empresas privadas detêm em

torno de 81% dos registros: Yoki (19), Agristar (8), Pipolino (7), Sementes Boa Esperança (4), General Mills (3), Seedco (3), DSMM/CATI (1), Feltrin (1) e ATS (1); e apenas duas instituições de pesquisa têm aproximadamente 19% dos registros: IAC (9) e UENF (UENF 14 e UENF UEM 01). Este cenário revela um expressivo mercado consumidor, explorado principalmente por empresas multinacionais, e que as instituições de pesquisa no Brasil, sobretudo as públicas, têm contribuído de maneira modesta na disponibilização de sementes de qualidade aos pequenos e médios produtores, vez que, do total de 20% das cultivares registradas no Ministério da Agricultura, somente a UENF 14 é uma variedade de polinização aberta, que permite ao produtor replantar as sementes em sucessivos ciclos de cultivo e, assim, tornar mais rentável seu cultivo.

3.2 MELHORAMENTO DO MILHO-PIPOCA NO BRASIL E NA UENF

O grande desafio quando se trata do melhoramento de milho-pipoca consiste em aumentar, além da produtividade, a capacidade expansiva dos grãos. Este duplo objetivo é possivelmente dificultado pela correlação negativa entre as características (Zinsly e Machado, 1987). Por outro lado, um fator que atua positivamente é que, em princípio, os métodos de melhoramento aplicáveis ao milho comum também podem ser empregados ao milho-pipoca, sobretudo a metodologia que recebe maior conceito quando se trata de aumentos consistentes do ganho genético – o milho híbrido. Este importante método de melhoramento, responsável pelo avanço da produtividade e qualidade da pipoca, foi iniciado na década de 1930, nos EUA (Ziegler e Ashman, 1994). Embora a utilização do método de milho híbrido na cultura do milho-pipoca só tenha sido introduzida no Brasil recentemente, mais precisamente em 1996, com o híbrido triplo Zélia, da empresa Dupont Pioneer, o primeiro programa de milho híbrido foi iniciado em 1932 no Instituto Agrônomo de Campinas (Krug et al., 1943). Nesta ocasião, duas variedades utilizadas como fonte de linhagens promissoras para o melhoramento de híbridos de milho-pipoca foram a pioneira *South American Mushroom* (SAM) e a Guarani, esta última uma variedade com bom potencial genético por sua elevada capacidade geral de combinação (CGC) para produção, prolificidade e resistência a uma das principais doenças da cultura de milho-pipoca, a *Exserohilum turcicum* (Sawasaki et al., 2000).

Apesar de as variedades de pipoca exóticas com maiores valores de CE apresentarem graves deficiências em relação à suscetibilidade a doenças e pragas, mau empalhamento e baixa produtividade (Sawazaki, 1995), a aplicação de métodos de melhoramento clássico com base na escolha acertada de germoplasma desempenhou importante papel na obtenção de linhagens mais produtivas, alavancando o desenvolvimento recente das primeiras cultivares híbridas de milho-pipoca do Brasil. Entre estas variedades, destacam-se os híbridos triplo Zélia e Jade, registrados pela empresa Dupont Pioneer, respectivamente, em 1998 e 2002. O Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) também contribuiu significativamente com o desenvolvimento de híbridos de milho-pipoca, registrando em 1998 o híbrido simples modificado IAC 112; em 1999, o híbrido simples IAC Pipoca SAM; e em 2006, o híbrido *topcross* IAC 125.

Entre as instituições que atuam no melhoramento da cultura do milho-pipoca no país, estão a Embrapa - Milho e Sorgo, Fepagro, UFV, UEM, IAC, UEL, UENF e UFCA.

Miranda et al. (2008), desenvolvendo estudos de variabilidade genética na identificação de grupos heteróticos em populações brasileiras de milho-pipoca concluíram que houve redução da heterose e da variabilidade genética destas populações, para a característica capacidade de expansão, em relação às cultivares comerciais, tornando assim difícil a obtenção direta de híbridos comerciais com respaldo nas variedades locais, por apresentarem desempenho ruim para capacidade de expansão. Os autores também concluíram que existe variabilidade genética, para rendimento de grãos, entre as populações brasileiras, permitindo a exploração de efeitos aditivos e não aditivos nestas populações, sendo possível ainda aumentar o rendimento de grãos utilizando variedades locais.

Em vista do reduzido número de cultivares de milho-pipoca disponíveis atualmente no mercado nacional e do conseqüente acréscimo da importação de grãos deste tipo especial de milho, resultante da baixa disponibilidade de sementes híbridas de alta qualidade, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em parceria com outras instituições públicas e empresas privadas, vem buscando, desde 1998, estratégias para desenvolver cultivares que reúnam características agrônômicas favoráveis como rendimento de grãos e capacidade de expansão.

O Programa de Seleção Recorrente de milho-pipoca da UENF foi iniciado com o professor Joachim Friedrich Wilhelm von Bülow pela seleção de um composto indígena doado à Universidade de Brasília pela ESALQ/USP. Tal população selecionada foi trazida para Campos dos Goytacazes-RJ e denominada de UNB-2. A população UNB-2 foi, então, cruzada com a variedade de milho-pipoca Americana, e a geração filial deste cruzamento foi selecionada e cruzada com uma variedade de milho-pipoca resistente a *Exserohilum turcicum* (helmintosporiose). Após dois ciclos de seleção massal, foram feitos três retrocruzamentos com a população Americana, tendo sido obtida a população UNB-2U (Pereira e Amaral Júnior, 2001). Com o intuito de promover estratégias de obtenção de ganhos genéticos, foram avaliadas 92 famílias de irmãos completos, em dois ambientes contrastantes, por meio do Delineamento I de Comstock e Robinson (1948).

Pereira e Amaral Júnior (2001) verificaram variabilidade genética satisfatória para capacidade de expansão (CE) e rendimento de grãos (RG). Segundo esses autores, a herança para capacidade de expansão foi tipicamente aditiva, conseqüentemente, maiores ganhos para esta característica seriam possíveis com a utilização de métodos intrapopulacionais de seleção recorrente. Neste mesmo trabalho, os autores observaram que o uso de famílias de irmãos-completos possibilitaria ganhos genéticos preditos anuais de 9,42% para RG e de 27,09% para CE. Também predisseram ganhos de 7,93% para RG e de 19,54% para CE, utilizando seleção recorrente com famílias S_1 .

Com base em tais resultados, Daros et al. (2002) deram início ao primeiro ciclo de seleção recorrente com famílias de irmãos completos da população UNB-2U, com ganhos genéticos preditos de 10,39 % para CE e de 4,69 % para RG. Em 2004, Daros e colaboradores deram início ao segundo ciclo da UNB-2U, fazendo uso de famílias endogâmicas S_1 e, conseqüente, seleção das famílias superiores pelo índice de seleção de Smith (1936) e Hazel (1943), obtendo ganhos preditos de 17,8% para CE e de 26,95% para RG.

O terceiro ciclo de seleção recorrente da população UNB-2U foi feita por meio de famílias de meios-irmãos em que Santos et al. (2007) obtiveram ganhos genéticos de 7,16% para CE e de 10,00% para RG, por meio do índice de Mulamba e Mock (1978).

No quarto ciclo de seleção recorrente, utilizando famílias de irmãos completos, Freitas Júnior et al. (2009a), com base no índice de Mulamba e Mock (1978), obtiveram ganhos preditos de 8,50% para CE e de 10,55% para RG.

Rangel e colaboradores, ainda em 2009, no quinto ciclo de seleção recorrente da população UNB2-U, obtiveram média das famílias de irmãos completos com resposta de 26,27 mL.g⁻¹ para a capacidade de expansão e de 2.569,70 kg.ha⁻¹ para rendimento de grãos, confirmando um ganho real de 4,83% para CE e de 7,34% RG.

Por fim, no sexto ciclo, Ribeiro et al. (2012) encontraram resultados satisfatórios, com base no índice de Mulamba e Mock (1978), utilizando famílias de meios-irmãos, com estimativas de 31,13 mL.g⁻¹ para CE e de 2.987,84 kg.ha⁻¹ para RG.

De acordo com a progressiva evolução dos resultados obtidos nestes 14 anos de pesquisa com a população inicialmente denominada UNB-2U e após o cinco ciclos de seleção recorrente, uma nova variedade veio a compor o material recomendado aos produtores rurais do Norte e Noroeste Fluminense, a UENF 14 (Amaral Jr. et al., 2013).

3.3 MILHO HÍBRIDO

O que se conhece hoje como milho híbrido foi descoberto em 1908 e 1909 pelo norte-americano Shull. Este botânico e geneticista mostrou, em seus experimentos, que, ao autofecundar uma planta de milho, eram produzidos descendentes menos vigorosos. Verificou, também, que se este processo fosse repetido por várias gerações, os descendentes fixavam caracteres importantes, alguns de grande interesse agrônômico. Estas plantas, capazes de gerar descendentes geneticamente semelhantes, receberam a denominação de linhas puras. Shull observou que se duas linhas puras portadoras de características distintas fossem cruzadas, descendentes de grande vigor eram produzidos, o chamado vigor híbrido ou heterose (Paterniani e Miranda Filho, 1987).

Diversos estudos foram desenvolvidos visando ao esclarecimento desse fenômeno. Shull (1908) e East (1936) propuseram a hipótese de sobredominância, alicerçados no propósito de que a própria heterozigose seria necessária para a completa expressão da heterose.

Davenport (1908), Bruce (1910) e Keeble e Pellew (1910) propuseram a teoria da dominância, considerando que a expressão do vigor híbrido é determinada pela concentração e interação não alélica de vários genes dominantes.

É importante levar em consideração que os efeitos genéticos presentes nos cruzamentos que irão compor híbridos superiores podem incluir a epistasia, frequentemente associada a genes que controlam características quantitativas; no entanto, estatisticamente não há resultados indicando que este tipo de interação alélica seja responsável por uma expressiva variação genética. Cabe salientar que as hipóteses são simplificações da real situação, o que pode incluir interações complexas de todos os tipos para a manifestação da heterose (Paterniani, 2001).

Apesar de serem conhecidos, à época, os princípios básicos da heterose, sua aplicação não foi feita de imediato, uma vez que, em decorrência do elevado grau de endogamia e conseqüente baixo vigor das linhagens, a produtividade observada nos híbridos resultantes era baixa, elevando ainda mais o custo de produção da semente híbrida.

Em 1918, Jones contornou tais desvantagens ao sugerir o uso de híbridos duplos, ou seja, cruzamentos derivados de dois híbridos simples provenientes de quatro linhagens endogâmicas. Tal evento reduziu o custo de produção das sementes híbridas e, conseqüentemente, alavancou o processo de aceitação do milho híbrido nos campos agrícolas.

Wallace, a partir de 1919, foi o primeiro melhorista de empresa privada a utilizar o processo de autofecundação para obtenção de linhagens de milho e, em 1930, os primeiros trabalhos envolvendo híbridos de milho comerciais foram publicados nos EUA (Viégas e Miranda Filho, 1978).

Antes de 1930, quando o cultivo de variedades de polinização aberta predominava, havia um incremento anual de apenas $1 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$. Com a introdução da tecnologia de produção de híbridos, entre 1930 e 1960, houve um incremento médio anual na produtividade de $65 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ pela utilização de híbridos duplos. Esse aumento foi ainda mais expressivo, com a utilização de híbridos simples, em cerca de $110 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ (Hallauer et al., 1988; Troyer, 1999).

No Brasil, a introdução da tecnologia de milhos híbridos, no período de 1971 a 2003, resultou em um incremento da produtividade média anual de 62,6

kg.ha⁻¹, passando de 1.393 kg para 3.396kg.ha⁻¹ (Tsunechiro, 2004). Nos dias atuais, de acordo com a produtividade média nacional, observada na safra de 2014/2015, o milho híbrido produziu cerca de 5.184 kg.ha⁻¹, o que confere nesses 10 anos um incremento médio anual de 177,1 kg.ha⁻¹(Conab, 2015).

No contexto de milho híbrido, a heterose pode ser explorada de maneira mais acurada, utilizando a análise de cruzamentos dialélicos, pelo elevado número de informações genético-estatísticas que esta técnica pode oferecer ao melhorista (Seifert et al., 2006). Porém, um fator limitante desta metodologia é o número de genitores avaliados, normalmente não superior a dez, devido ao volume de trabalho para obtenção dos híbridos. Neste caso, a técnica de *topcross*, proposta por Davis, em 1927, vem se mostrando uma opção mais adequada (Cruz e Carneiro, 2006; Chaves e Miranda Filho, 1997), visando a contornar o problema da avaliação impraticável das linhagens genitoras em trabalhos com híbridos envolvendo um grande número de linhagens.

3.4 TIPOS DE HÍBRIDOS

Vários tipos de híbridos que podem ser sintetizados:

- a) Híbrido simples (HS): resultante do cruzamento entre duas linhagens endogâmicas (linhagem A x linhagem B). As principais características destes híbridos são a alta uniformidade de plantas e de espigas, sendo de maneira geral, mais produtivos que os demais tipos de híbridos. No entanto, as sementes de um HS têm custo de produção mais elevado, uma vez que a linhagem parental feminina exibe baixa produtividade, implicando maior número de indivíduos por linhagem a ser conduzida no campo;
- b) Híbrido simples modificado (HSm): utiliza-se como parental feminino o híbrido obtido pelo cruzamento de duas linhagens de mesma genealogia (A x A') e, como parental masculino, é utilizada uma outra linhagem, resultando no híbrido simples modificado [(A x A') x B]. Este procedimento teoricamente diminui o custo de produção de sementes, pois a maior produtividade está condicionada à heterose manifestada pelo parental feminino empregado;
- c) Híbrido triplo (HT): decorrente do cruzamento entre um híbrido simples (A x B), ora utilizado como parental feminino, e uma terceira linhagem (C) suficientemente vigorosa para assegurar uma boa polinização e

- consequente produção satisfatória de grãos nas plantas femininas utilizadas (HS), dando origem ao híbrido triplo [(A x B) x C];
- d) Híbrido triplo modificado (HTm): neste caso, é feita uma substituição da linhagem (C), utilizada no esquema de híbrido triplo, por um híbrido entre linhagens de mesma genealogia (C x C'). Assim, é feito o processo de HTm [(A x B) x (C x C')], requerendo, tal procedimento, dois ciclos de plantio;
- e) Híbrido duplo (HD): derivado do cruzamento entre dois híbridos simples [(A x B) x (C x D)]. O fato de utilizar quatro diferentes linhagens na composição deste híbrido lhe traz características intrínsecas, como maior variabilidade genética e estabilidade que os outros híbridos, no entanto, apresenta menor uniformidade em relação ao tamanho de planta, número de espigas, produtividade e, conseqüentemente, custo de produção da semente;
- f) Híbrido *topcross*: pode-se obter este híbrido pelo cruzamento entre variedades e linhagens ou entre híbridos e variedades. O termo "*topcross*" também vem sendo utilizado para designar cruzamentos entre linhagens com um testador. Este testador pode ser uma variedade, um híbrido ou até mesmo uma linhagem, recebendo esta denominação por desempenhar a finalidade de avaliar a capacidade geral (CGC) e/ou específica (CEC) de combinação das linhagens, respectivamente, se ele apresentar base genética ampla e/ou estreita;
- g) Híbrido intervarietal (HI): como o próprio nome sugere, resulta do cruzamento entre duas variedades distintas. Apresenta vantagens atribuídas à manifestação da heterose, sem necessidade de obter linhagens, com maior capacidade de adaptação, decorrente da maior variabilidade genética em relação aos híbridos de linhagens. Em contrapartida, apresenta como desvantagem maior desuniformidade das plantas, o que pode limitar sua utilização;
- h) Híbridos múltiplos: resultantes do intercruzamento de seis, oito ou mais linhagens. Não apresenta qualquer valor comercial. Estes híbridos apresentam elevada variabilidade genética, podendo resultar em uma grande amplitude de variação e em gerações avançadas. Este procedimento pode ter aplicação na busca por linhagens endogâmicas;
- i) Híbridos duplo-haploides: Geração de plântulas de células haploides e posterior duplicação dos cromossomos. A indução da haploidia pode ser

feita por hibridação interespecífica (posterior eliminação cromossômica), haploides gimnogenéticos, cultura de anteras, cultura de micrósporos e linhagens indutoras (identificadas pela técnica do gene R-navajo).

Atualmente, novos procedimentos de composição de híbridos vêm sendo propostos, como híbridos de F_2 resultantes de duas populações F_2 de híbridos comerciais (Souza Sobrinho et al., 2002; Amorim e Souza, 2005) e híbridos derivados de linhagens parcialmente endogâmicas S_2 , S_3 ou S_4 (Scapim et al., 2008; Silveira et al., 2009; Buchweitz, 2010).

Em 1934, ao avaliar sucessivas gerações endogâmicas, Davis concluiu que já em S_2 ocorria fixação de algumas características relacionadas à produção, indicando que essa geração se apresentava melhor em *topcrosses*.

Jensen e colaboradores (1983) encontraram correlação fenotípica média de 0,67 para a performance entre S_1 e S_4 , para o caráter produção de grãos, quando cruzadas com diferentes testadores, revelando pouca perda de rendimento em três gerações de autofecundação.

Para Cabrera, Souza Jr. e Souza (2005), a homozigose teórica alcançada nas gerações S_2 e S_3 corresponde a níveis respectivos de homozigose esperados de 75% e 87,5%. Considerando a possibilidade de estimar valores genéticos bem como seus méritos em cruzamentos, os autores acima citados concluíram que a seleção das linhagens é efetiva já a partir das primeiras gerações S_2 ou S_3 e que, se o caráter tem herdabilidade baixa, a seleção nas gerações iniciais deve ser branda para evitar perda de famílias com bom potencial, especialmente para milho-pipoca.

No Brasil, de maneira geral, a utilização de híbridos está associada a quatro fatores: tamanho da propriedade, infraestrutura, renda *per capita* do produtor e investimento na pesquisa. O elevado preço das sementes é o principal limitador do uso de híbridos. Já as empresas do setor de produção de sementes híbridas de milho caracterizam a existência de quatro grandes segmentos de agricultores no Brasil (Rosinha, 2000):

- i. Segmento de altíssima tecnologia (20% do mercado);
- ii. Segmento de alta tecnologia (32% do mercado);
- iii. Segmento de média tecnologia (48% do mercado); e
- iv. Segmento de baixa tecnologia.

Os agricultores pertencentes ao primeiro segmento são considerados profissionais, que fazem uso dos mais modernos insumos e práticas agrícolas como análise de solo, calagem, plantio direto, adubação, defensivos, irrigação, colheita mecanizada, além de utilizar a agricultura de precisão em seu benefício. Além disso, têm grandes preocupações com a qualidade e, normalmente, são capitalizados, exigindo híbridos simples, simples modificados e triplos, que melhor atendem às suas expectativas de desempenho e qualidade ao longo das safras.

O segundo segmento compreende agricultores menos capitalizados, que fazem uso de híbridos triplos e duplos de alta produtividade, visando sempre a um equilíbrio entre desempenho no campo e custo de produção, reduzindo o nível de tecnologia empregado na lavoura.

O segmento de média tecnologia é constituído por agricultores que, em sua grande maioria, adotam sistemas precários de controle de suas atividades. Em função do seu menor capital disponível, utilizam os híbridos duplos que exigem baixo nível de tecnologia.

O quarto e último segmento, que nem sempre é mencionado pelas empresas, é constituído por agricultores que utilizam as variedades de polinização aberta. Além destes agricultores, há ainda aqueles que utilizam suas próprias sementes para o plantio de suas áreas, mas, por não adquirirem sementes das empresas, não são considerados um segmento de mercado.

3.5 OBTENÇÃO DE LINHAGENS

De acordo com Paterniani e Campos (1999), pelo menos quatro etapas são essenciais em um programa de melhoramento para desenvolvimento de híbridos: i) escolha de populações-base; ii) obtenção de linhagens; iii) avaliação da capacidade combinatória das linhagens; e iv) escolha dos testadores.

3.5.1 ESCOLHA DE POPULAÇÕES-BASE

Diante do fato de que a escolha da população para extração de linhagem é o primeiro passo a ser tomado para a produção de híbridos, qualquer erro nesta etapa irá comprometer todo o processo. Assim, essa escolha pode ser considerada um passo de suma importância, determinando o sucesso ou o

fracasso de um programa de melhoramento (Lima et al., 2000). Existem várias opções de populações-base para extração de linhagens, sendo uma delas a utilização de híbridos simples comerciais, uma vez que já foram avaliados em condições ambientais variadas, o que garante boa produtividade, associada à elevada proporção de locos favoráveis já fixados (Amorim e Souza, 2005).

Segundo Falconer e Mackay (1996), a heterose se manifestará significativamente quando as populações-base forem geneticamente divergentes (grupos heteróticos distintos), aliada à condição do caráter avaliado apresentar alto nível de dominância direcional (d). Segundo estes autores, considerando “p” e “r” como sendo as frequências dos alelos favoráveis de dois grupos heteróticos distintos e “d” o efeito de dominância do caráter de interesse, a expressão genética da heterose (h) é: $h = \Sigma(p - r)^2 d$.

As populações-base podem ser constituídas por uma base genética ampla ou estreita. No primeiro caso, as populações são decorrentes do intercruzamento de várias populações. Já para os sintéticos, de base estreita, as populações são provenientes do intercruzamento de algumas linhagens homozigóticas ou também de cruzamentos biparentais (entre duas linhagens). As características que estes dois tipos de populações-base apresentam em comum é o fato de que tanto as populações quanto as linhagens que irão compor a população base são selecionadas segundo suas *performances per se* e em cruzamentos com genótipos de grupos heteróticos diferentes (Hallauer, 1990).

3.5.2 OBTENÇÃO DE LINHAGENS ENDOGÂMICAS

Ao propor um programa de desenvolvimento de híbridos, o melhorista deve ter em mente que, para fazer uma seleção efetiva, ele deve escolher, *a priori*, o germoplasma que melhor atende a seus propósitos, levando em conta a limitação do número de linhagens a ser utilizadas e a existência da grande variabilidade genética dos caracteres de expressão econômica, disponíveis na cultura de milho (Gama et al., 2003).

Uma vez que a população-base esteja formada, iniciam-se as etapas mais morosas e onerosas do programa de desenvolvimento de híbridos de milho, no caso, a obtenção e avaliação das linhagens (Miranda Filho e Viégas, 1987).

Dois aspectos devem ser priorizados no processo de obtenção de linhagens. O primeiro é relativo às *performances* dos híbridos interpopulacionais (indicativo de desempenho dos híbridos de linhagens), que devem servir de parâmetro para a seleção das populações cujas linhagens serão extraídas. O segundo aspecto a ser considerado se refere à depressão endogâmica das populações-base, sendo priorizadas aquelas menos sensíveis a este fenômeno. Nas primeiras gerações de autofecundação, há uma elevada intensidade de seleção sobre as características de alta herdabilidade, como, por exemplo a produtividade de grãos, descartando-se as linhagens menos vigorosas e, portanto, pouco produtivas em virtude da expressiva depressão endogâmica. Ao atingir os ciclos mais avançados de autofecundação (sexto ou sétimo), em que a maioria dos locos estão em homozigose, prioriza-se a seleção, amparada nos caracteres de baixa herdabilidade, isto é, na produção de grãos. Nesta fase, as linhagens são selecionadas pelas suas *performances*.

Miranda Filho e Viégas (1987) e Hallauer (1990) fizeram a descrição dos principais métodos para obtenção de linhagens endogâmicas:

- Método padrão – de acordo com o avanço dos ciclos de endogamia, seleciona-se dentro e entre progênies com base em caracteres fenotípicos. Uma crítica recorrente a este método é referente ao longo tempo gasto para alcançar a condição homozigótica ideal. Uma alternativa apontada para reduzir tal morosidade é o método de cultura de anteras, que propõe o desenvolvimento de linhagens pela duplicação cariótica. No entanto, segundo Hallauer (1990), a possível ocorrência de distúrbios citogenéticos reduziria a eficiência do processo. O autor também enfatiza que tal metodologia deve ser aprimorada por permitir a obtenção de linhagens endogâmicas com menos que cinco a sete ciclos de autofecundação.

- Método de cova única – descrito por Jones e Singleton, em 1934, apresenta o mesmo princípio do método padrão, apenas diferindo no esquema de distribuição das linhagens no campo. Neste método, cada progênie é representada em uma única cova com três plantas cada, diferentemente do método padrão, que apresenta o arranjo de uma linha com várias plantas. O esquema de cova única tem a vantagem de facilitar o trabalho de seleção entre progênies, uma vez que a área de plantio é reduzida e o número de progênies aumentado (Paterniani e Miranda Filho, 1987).

- Método genealógico – primeiramente faz-se uma pré-seleção entre duas linhagens elite que se combinem bem e assim se promove o cruzamento entre elas. A partir do segundo ciclo de autofecundação (S_2), são isoladas novas linhagens da mesma maneira como se procede no método padrão.

- Método do híbrido críptico – baseia-se na avaliação de famílias de irmãos completos obtidas pelo cruzamentos entre plantas individuais prolíficas. As plantas envolvidas no cruzamento germânico têm, portanto, a segunda espiga de cada planta autofecundada. As progênes resultantes do cruzamento germânico são, então, submetidas a um processo avaliativo de ensaio de produção, identificando assim os melhores cruzamentos. Estas progênes S_1 selecionadas são plantadas aos pares, dando continuidade ao ciclo seguinte, até obtenção do nível de endogamia desejado nas linhagens para síntese de novos híbridos. Essencialmente este método se assemelha a um teste precoce de dialelo por meio de cruzamentos direcionados (entre plantas individuais).

É comum empregar métodos de retrocruzamento em linhagens endogâmicas em fase final de obtenção destas linhagens, isso por que, mesmo apresentando elevado valor genético, os materiais podem ser suscetíveis a reações adversas de pragas e doenças.

Com respaldo na correlação genética de 0,97 existente entre as médias dos *topcrosses* obtidas das progênes S_3 e S_8 (Bernardo, 1991), Souza Júnior (2001) considerou que não existem argumentos técnicos para postergar a avaliação e a seleção precoce de linhagens para capacidade de combinação, além da geração S_3 .

3.5.3 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE COMBINATÓRIA DAS LINHAGENS

Esta etapa é, sem dúvida, a mais trabalhosa. Diante da existência de correlação entre as *performances per se* das linhagens e de seus respectivos híbridos, pode-se prever o desempenho dos híbridos com base na *performance* das linhagens. No entanto, esta correlação pode ser considerada elevada, média ou baixa, respectivamente, para características de alta, média ou baixa herdabilidade. Tomando como exemplo a produção de grãos, por se tratar de uma característica de baixa herdabilidade, o desempenho das linhagens não é muito

útil para prever o comportamento dos híbridos, ou seja, a correlação entre linhagens e híbridos não apresenta valor preditivo.

O principal fator que torna difícil as etapas de obtenção e avaliação das linhagens é o grande número de possíveis híbridos a serem produzidos com base em um reduzido número de linhagens. Por exemplo, para 100 linhagens de cada grupo heterótico (n_1 e n_2), podem ser obtidos 10.000 híbridos simples ($NHS = n_1 \times n_2$), 495.000 híbridos triplo de cada tipo ($NHT_{(1)} = (n_1 \times n_2) \times [(n_1 - 1)/2]$) ou ($NHT_{(2)} = (n_1 \times n_2) \times [(n_2 - 1)/2]$) e 24.502.500 híbridos duplos ($NHD = (n_1 \times n_2) \times (n_1 - 1) \times [(n_2 - 1)/4]$). Tomando como impraticável a avaliação dos híbridos para um grande número de linhagens, aliado à ausência de valor preditivo para caracteres de baixa herdabilidade, recomenda-se praticar uma seleção prévia das linhagens com o intuito de reduzi-las e permitir, assim, um número de híbridos possíveis de avaliação e seleção. A esta seleção prévia, denomina-se seleção para capacidade de combinação, em que linhagens de um grupo heterótico são cruzadas com um material pertencente a outro grupo heterótico. Estes cruzamentos são conhecidos como *topcrosses*, e aqueles materiais de desempenho superior são selecionados como referência das linhagens com capacidade combinatória superior, uma vez que apresentam elevada concentração de alelos favoráveis (Souza Júnior, 2001).

Quando se objetiva produzir híbridos simples, recomenda-se dispor de linhagens-elite para servir como testadoras das linhagens obtidas. Assim, o número de linhagens testadoras elite multiplicado pelo número de linhagens expressará o número de cruzamentos a serem avaliados (Souza Júnior, 2001).

Basicamente, existem dois eficientes sistemas de avaliação de linhagens endogâmicas de milho:

- I. Seleção fenotípica (visual); e
- II. Avaliações do desempenho das linhagens (capacidade combinatória) – cruzamentos dialélicos ou *topcrosses*.

Em 1927, visando a otimizar o procedimento de avaliação de linhagens, Davis sugeriu os *topcrosses* como sistemas úteis na avaliação da capacidade combinatória, cruzando-as com variedades de polinização livre.

O método *topcross* foi contestado sob a afirmativa de que a própria seleção fenotípica seria mais eficiente, nas primeiras gerações de autofecundação, para melhorar a capacidade combinatória das linhagens.

Também foi criticado por eliminar linhagens que poderiam ser de interesse no final do processo (Payne e Hayes, 1949).

Richey (1947) se fez valer de dois argumentos para questionar a metodologia do *topcross*:

a) Antes que uma linhagem atinja razoável nível de homozigose, não se pode obter delas bons indicadores de capacidade combinatória para uma linhagem;

b) Antes de eliminar, sob elevada seleção, alelos recessivos de grande efeito individual e reduzida frequência alélica, o *fitness* de uma família autofecundada não é um bom indicativo da capacidade de combinação das linhagens.

Entretanto, Jenkins (1935) e Johnson e Hayes (1936) relataram a eficiência do *topcross* em selecionar linhagens para produção de grãos. Segundo os autores, grande número de linhagens pode ser eliminada pelo teste preliminar, tornando possível a avaliação das linhagens selecionadas.

Em 1981, Baktash e colaboradores estimaram coeficientes de correlação entre *topcrosses* e cruzamentos dialélicos em milho segundo análise do cruzamento de dez linhagens. Eles obtiveram correlações positivas e altamente significativas para produção de grãos, número e comprimento de espiga.

3.5.4 ESCOLHA DOS TESTADORES

Hallauer e Lopes Perez (1979) expuseram as principais considerações a serem avaliadas para escolha do(s) testador(es) que melhor atende(m) os objetivos, ou seja, ofereçam simplicidade em seu uso, gerem informações que classifiquem corretamente o potencial relativo das linhagens em avaliação e maximizem o ganho genético. São elas:

- a) Base genética (ampla x estreita);
- b) Capacidade de combinação (geral x específica);
- c) Produtividade (alta x baixa);
- d) Frequência de alelos favoráveis (alta x baixa);
- e) Estágio de desenvolvimento do programa;
- f) Disponibilidade de testadores;
- g) Tipos de genótipos em teste; e

h) Tipos de híbridos de interesse.

Além destas características, há outras também significativas no processo de escolha dos testadores, como, por exemplo, o grau de parentesco com as linhagens ou variedades utilizadas, o número de testadores a serem utilizados e o rendimento *per se* dos testadores. Em se tratando de caracteres sob efeito genético aditivo, a prática da seleção irá promover uma alteração na média da população, tanto para testadores de base genética ampla quanto estreita (Rodovalho, 2008; Barreto, 2008).

Hallauer e Miranda Filho (1988) atribuem à base genética dos testadores (ampla e estreita) a principal causa das diferenças entre as capacidades combinatórias (respectivamente, CGC e CEC). Os autores ainda afirmam que tais diferenças ocorrem em virtude das frequências alélicas, sendo que, para um testador de base genética ampla, as frequências dos alelos nos diferentes locos estão distribuídas em uma amplitude entre 0 e 1. Já para os testadores de base estreita, as frequências alélicas são distribuídas diferentemente para linhagens (0 ou 1) ou híbridos simples (0; 0,5 ou 1).

Ao avaliarem testadores em cruzamentos com linhagens de milho, Lonquist e Rumbauch (1958) concluíram que linhagens com alta CGC são selecionadas de maneira mais acurada por testadores de uma ampla base genética.

Ao avaliarem 109 linhagens de milho-pipoca, 82 endogâmicas e 27 S_3 , com um testador de base estreita (híbrido simples) pertencente a um grupo heterótico distinto, Sawazaki et al. (2000) obtiveram híbridos triplos com peso de grãos e sanidade superiores às testemunhas comerciais.

Em 1986, Smith fez simulações computacionais envolvendo três testadores de diferentes bases genéticas com intuito de comparar o desempenho de linhagens *per se* e de híbridos *topcross*. Os resultados revelaram que, quando a característica era governada por uma herança poligênica, sendo todos os genes com ação gênica de dominância completa, as correlações entre o desempenho de linhagens e dos *topcrosses* eram inferiores a 0,5 para qualquer um dos três diferentes testadores empregados. Tal resultado ressalta o baixo valor preditivo das linhagens para o desenvolvimento de híbridos quando se trata de uma característica de baixa herdabilidade.

A utilização de um testador com reduzido valor genético (alta frequência de alelos recessivos), segundo Miranda Filho e Gorgulho (2001), teria maior eficiência na discriminação entre os genótipos. Entretanto, Souza Júnior (2001) apontaram o uso de linhagens-elite a escolha mais indicada quando se objetivam a obtenção de híbridos simples e a utilização de híbridos simples como testadores quando se pretende obter híbridos triplos.

Apesar da grande aceitação do método *topcross*, o processo de escolha do testador ideal ainda continua sendo um objetivo a ser alcançado pelos programas de desenvolvimento de híbridos, vez que questões referentes à escolha, tipo, número e eficiência dos testadores se perpetuam em meio a estudos teóricos e experimentais (Ferreira et al., 2009).

3.6 DEPRESSÃO POR ENDOGAMIA

A heterose e a depressão por endogamia podem ser consideradas dois lados de uma mesma moeda, ou seja, a quantidade de locos heterozigóticos de um lado e homozigóticos de outro.

De acordo com Falconer (1964; 1987), o processo de endogamia é decorrente do acasalamento entre indivíduos relacionados por ascendência, sendo o primeiro efeito resultante deste sistema de acasalamento direcionado a mudança nas frequências genóticas da população pelo aumento na frequência de genótipos homozigóticos em detrimento das frequências de genótipos heterozigóticos. Este efeito, conhecido como depressão endogâmica, é caracterizado pela redução no valor médio de caracteres quantitativos, relacionados com a capacidade reprodutiva ou eficiência fisiológica da planta, produto da homozigose de alelos deletérios, podendo ser quantificado (coeficiente de endogamia - F) pela redução na frequência média dos heterozigotos, resultante de efeitos genéticos não aditivos (Falconer, 1989).

O coeficiente de endogamia depende do tamanho efetivo da população, e quanto menor o tamanho da população em gerações anteriores maior será o número de ancestrais comuns, conseqüentemente, maior será o valor de F (Breda et al., 2004).

Geralmente, o aumento da homozigose e o aparecimento de genes recessivos resultam em alterações na média do mérito individual, sendo estas

alterações depreciativas resultado da carga genética da população, ou seja, do total de genes deletérios e letais presentes em membros individuais de uma população (Falconer, 1989; Griffiths et al., 2000).

A obtenção de informações referentes a eventuais danos provocados por cruzamentos entre indivíduos relacionados por ascendência, em um programa de melhoramento de plantas, é de grande utilidade, principalmente em trabalhos de análises de famílias endogâmicas para composição de híbridos.

Hallauer e Sears (1973), avaliando a depressão por endogamia e seus efeitos sobre as características agrônômicas durante sete gerações de autofecundação da população *Iowa Stiff Stalk Synthetic* (BSSS) relataram que, para cada 1% de aumento na homozigose em milho, podem ser esperados, em média, um decréscimo de 0,48 cm na altura de plantas, um decréscimo de 0,30 cm na altura da espiga e uma redução de 44,9 kg.ha⁻¹ no rendimento de grãos.

Lima et al. (1984) avaliaram os efeitos da depressão por endogamia em relação ao rendimento de grãos, altura de plantas e altura de espigas em 32 populações brasileiras de milho e verificaram estimativas máximas de 57,9% para rendimento de grãos, 20,3% para altura de plantas e 27,4% para altura de espigas.

Em 1937, Brunson afirmou que a perda de vigor causada pela endogamia foi menor em milho-pipoca do que em milho comum. Zinsly e Machado (1987) relataram que a depressão por endogamia é maior em variedades de milho-pipoca, dificultando a obtenção de linhagens. Tal afirmação é reavaliada por Sawazaki (1995), ao inferir que o efeito da depressão é realmente elevado em variedades locais de alta variabilidade genética, porém, em variedades melhoradas ou sintéticas, tal efeito não deve ocorrer.

Scapim et al. (2006) desenvolveram estudos a respeito da depressão por endogamia em populações de milho-pipoca e concluíram que a variação e a magnitude nos valores de depressão por endogamia para a característica capacidade de expansão são bem inferiores (7,2% a 14,3%) aos encontrados em relação ao rendimento de grãos (10,5% a 45,2%), fato explicado pela menor complexidade genética do caráter e pela predominância de efeitos gênicos aditivos (locos em homozigose).

Vários trabalhos têm mostrado a predominância de efeitos genéticos aditivos no controle gênico da capacidade de expansão (Dofinget al.,

1991; Pacheco et al., 1998; Larish e Brewbaker, 1999; Pereira e Amaral Júnior, 2001), confirmando boas condições de seleção para essa característica.

Um modo prático de obter o percentual da estimativa da depressão endogâmica (DP), em uma determinada população, é dado pela razão entre a diferença da média da população inicial e das progênies endogâmicas pela média da população original.

De acordo com a teoria da dominância parcial, que ressalta a existência de dominância entre alelos, atribuindo valores fenotípicos diferenciados para indivíduos homozigotos e heterozigotos, o nível de depressão endogâmica é proporcional ao grau de dominância exercido, sendo maior para locos com frequências intermediárias (Allard, 1960; Falconer, 1989).

Em híbridos simples, ou seja, populações com elevada frequência de heterozigotos em locos com dominância gênica e em populações com carga genética acentuada, caso das populações melhoradas, espera-se encontrar os maiores níveis de depressão por endogamia (Falconer, 1989).

De maneira geral, o que se pode constatar é que os níveis de depressão por endogamia variam entre as populações de mesma espécie pelas diferenças nas frequências alélicas, nos níveis de dominância existentes entre os diferentes caracteres e no grau de parentesco entre os indivíduos da população. Logo, populações menos sensíveis à depressão por endogamia podem ser selecionadas como fonte potencial para a extração de linhagens, e as que apresentam uma alta taxa de depressão podem ser direcionadas a programas de seleção recorrente, de modo a reduzir a frequência dos alelos deletérios. Deve-se mencionar também que a depressão por endogamia também varia dentro das populações, isto é, os genótipos de uma população apresentam diferentes valores fenotípicos médios sob endogamia (Garbuglio, 2007).

3.7 DIVERSIDADE GENÉTICA

A divergência genética pode ser conceituada como quaisquer diferenças genéticas entre espécies ou indivíduos dentro da espécie (Falconer e Mackay, 1996). A divergência genética entre indivíduos resulta da variabilidade genética entre eles, ou seja, diferenças existentes nos códigos genéticos dos indivíduos permitem separá-los em grupos distintos. A variabilidade genética é utilizada para

se referir à diversidade de diferentes formas gênicas existentes nos vários locos gênicos de uma espécie, sendo a mutação a fonte primária da variabilidade genética, potencializada pela recombinação gênica. A mutação é um processo pontual, não adaptativo e aleatório, e graças a ela, cada ser, com exceção de clones e de gêmeos univitelinos, é uma entidade única no espaço em que se encontra e no tempo em que existe.

A variabilidade genética é uma característica primordial para a evolução das espécies, é ela que fornece material base para ocorrência da seleção natural. Sem variabilidade, certamente não existiriam diferenças nem comparações entre indivíduos ou populações de indivíduos. Portanto, a variabilidade é uma necessidade básica em qualquer programa de melhoramento de espécies cultiváveis, podendo ser determinada por efeitos genéticos e ambientais.

Um bom conhecimento a respeito da variabilidade genética existente nos genótipos que compõem o banco de germoplasma de um programa de melhoramento proporciona maior possibilidade de atuação na composição de grupos heteróticos que, quando avaliados em combinações híbridas, aumentam a chance de exibir incrementos consistentes nas médias das características de interesse, como resultante da heterose (Hallauer et al.,2010).

Uma vez que Shull, em 1909, apresentou sua descoberta, o milho híbrido, para o mundo de possibilidades a serem exploradas por futuros melhoristas, vários trabalhos vêm comprovando sua teoria de que o cruzamento entre materiais geneticamente divergentes produz famílias superiores (Paterniani, 2001).

De acordo com Cruz (2006), existe maior possibilidade de recuperar genótipos superiores em gerações segregantes quando a diversidade genética entre os genitores, que irão compor combinações híbridas de maior efeito heterótico, é analisada de maneira correta e precisa.

De todas as etapas inerentes ao processo de composição de híbridos de milho, em programas de melhoramento, a avaliação de linhagens quanto à capacidade combinatória é considerada a mais trabalhosa. Assim, alternativas que diminuam a mão de obra desta etapa são de grande interesse para os melhoristas.

Segundo Falconer (1987), uma das teorias enfatizadas pela genética quantitativa afirma que, em qualquer grau de dominância superior a zero, a

heterose manifestada em um indivíduo decorre da frequência alélica entre seus genitores, havendo correlação positiva entre divergência genética e heterose.

Com base nesta correlação existente, estimativas de divergência genética entre linhagens por meio de marcadores moleculares contribuem para minimizar trabalhos com polinização, possibilitam a obtenção de grupos heteróticos e direcionam os cruzamentos com o intuito de obter híbridos superiores no que concerne à produtividade e ao vigor (Laborda et al., 2005).

Barbosa et al. (2003) afirmam que, apesar da significativa importância da utilização dos marcadores moleculares em estudos de divergência genética entre linhagens e de determinação de grupos heteróticos entre elas, nem sempre a correlação entre divergência genética e o comportamento do híbrido é consistente. Afirmações como estas reforçam a necessidade de se conhecer mais sobre a base genética dos materiais de *Zea mays* L., principalmente das linhagens tropicais utilizadas nos programas de obtenção de híbridos (Laborda, 2003).

3.8 MARCADORES MOLECULARES

Os principais tipos de marcadores moleculares podem ser classificados em três grupos, conforme a metodologia utilizada para identificá-los. Entre os identificados por hibridização, estão os marcadores RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphism*); por amplificação, os RAPDs (*Random Amplification of Polimorphic DNAs*), AFLPs (*Amplified Fragment Length Polimorphisms*), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*), STS (*Sequence Tagged Sites*), microssatélites ou SSRs (*Simple Sequence Repeats*) e SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) (Caixeta et al., 2006); e aqueles identificados por sequenciamento.

O genoma de eucariotos é densamente povoado por sequências simples repetidas, que consistem de um a seis nucleotídeos repetidos em tandem (consecutivamente), denominadas de microssatélites (Ceresini et al., 2005). As sequências de DNA que flanqueiam os SSRs são geralmente conservadas entre os indivíduos de uma mesma espécie, permitindo a seleção de *primers* específicos que amplificam, via reação da polimerase em cadeia (PCR), fragmentos contendo DNA repetitivos em todos os genótipos da espécie (Caixeta

et al., 2006). Dessa forma, essas regiões repetitivas são utilizadas como marcadores moleculares.

Entre os marcadores moleculares atualmente disponíveis, os SSRs são considerados uma classe muito promissora por apresentarem características que agregam simplicidade técnica (PCR), grande poder de resolução (permite a detecção de polimorfismos entre fragmentos com até um par de bases), alto nível de polimorfismo, alta reprodutibilidade (repetibilidade de resultados), custo relativamente baixo (requer disponibilidade de *primers* em sítios específicos), co-dominância (permite detecção dos indivíduos heterozigotos) e são sítio-específicos (amplificam regiões específicas do DNA)(Caixeta et al., 2006).

Taramino e Tingey (1996), em estudo comparativo entre marcadores AFLP e SSR, concluíram que os SSRs são mais informativos e úteis como ferramentas para análise de espécies altamente polimórficas como o milho.

Senior et al. (1998) afirmaram que os SSRs são uma importantíssima ferramenta em estudos genéticos de *Zea mays*. Segundo os autores, estão disponíveis um grande número de sequências de pares de *primers* SSR no *maize genome database*(www.agron.missouri.edu/ssr.html).

Os marcadores SSR provenientes das ESTs são conhecidos também como SSR-EST ou SSRs gênicos. Os SSR gênicos oferecem a vantagem sobre SSRs genômicos de estar intrinsecamente associados com sequências codificantes do genoma (Eujayl et al., 2002), fornecendo, assim, possibilidade de serem desenvolvidos com base em regiões transcritas do genoma, o que pode aumentar a chance de “marcar” características de interesse e, conseqüentemente, aumentar sua eficiência na seleção assistida por marcadores. (Yu et al., 1999).

Os marcadores SSR-ESTs têm sido amplamente empregados como uma poderosa ferramenta genético-molecular em razão de seu alto nível de transferabilidade e pela próxima associação com genes de função conhecida, além do baixo custo para desenvolvimento pela disponibilidade de bancos de dados públicos (Zhang et al., 2014).

A utilização de marcadores moleculares se mostra importante em estudos de diversidade genética entre linhagens desenvolvidas em programas de melhoramento genético de milho por permitir inferências sobre parte da variabilidade genética existente, em nível de DNA, agrupando os genótipos de

acordo com suas distancias genéticas ou medidas de dissimilaridade, assim, fornecendo informações relevantes para escolha de parentais e composição de híbridos promissores.

Guimarães et al. (2007) desenvolveram um trabalho objetivando avaliar a produtividade de híbridos simples obtidos de linhagens divergentes e confirmar se a divergência genética entre elas é correlacionada, por meio de marcadores moleculares, com a heterose dos híbridos obtidos no campo. Para tal estudo, os autores utilizaram 36 híbridos simples resultantes do dialelo parcial e 12 linhagens parentais. A correlação matricial foi estimada de acordo com a estatística de Mantel, comparando a heterose, produtividade e capacidade específica de combinação (CEC) com a divergência genética por meio de marcadores AFLP e SSR. Os resultados mostraram correlação significativa entre heterose e divergência genética, no entanto, a divergência genética não foi suficiente para determinar a CEC nem a produtividade dos híbridos.

Em relação ao milho-pipoca, no Brasil, as cultivares disponíveis não são distribuídas em grupos complementares para obtenção de híbridos, como ocorre com o milho comum (Miranda et al., 2003). Estes mesmos autores avaliaram o potencial da cultura para o melhoramento genético e estimaram a divergência genética em nove cultivares de milho-pipoca, para região da Zona da Mata Norte de Minas Gerais, por meio da técnica de análise multivariada, agrupando as cultivares com base na distância generalizada de Mahalanobis (DGM). Foi verificado que as cultivares apresentaram divergência genética e que, dependendo do método de agrupamento utilizado, até quatro grupos divergentes foram identificados. Também concluíram que entre as cultivares avaliadas a RS 20, Beija-Flor, Zélia e IAC 112 mostraram potencial superior para o melhoramento genético na referida região.

Amaral Júnior et al. (2011) acessaram a diversidade genética entre 52 acessos pertencentes ao banco de germoplasma de milho-pipoca da UENF por meio de marcadores moleculares dominantes iSSR. Os autores verificaram formação de nove grupos distintos, expostos pelo dendrograma (UPGMA) de acordo com o complemento aritmético, denotando, portanto, significativa eficiência da técnica utilizada.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE CULTIVO

Os híbridos *topcrosses* foram obtidos na área experimental do Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo, em Campos dos Goytacazes-RJ, localizado na região Norte Fluminense, situado a 21° 45' 32" de latitude sul e a 41°20' 32" de longitude oeste, com altitude de 25 m, classificado como tropical chuvoso, clima de bosque, com uma precipitação média anual de 1023 mm e temperatura média anual de 23 °C.

As avaliações dos híbridos *topcrosses* das famílias parcialmente endogâmicas *per se* e dos genótipos utilizados como testadores foram feitas na Estação Experimental da Pesagro-Rio, em Itaocara, Rio de Janeiro, localizada na região Noroeste Fluminense, situada a 21° 39' 12" de latitude sul e 42° 04' 36" de longitude oeste e a 76 m de altitude, com clima classificado como tropical com estação seca, com temperatura média anual de 22,5° C e precipitação média anual de 1041 mm.

4.2 MATERIAL GENÉTICO

Foram utilizadas 50 famílias parcialmente endogâmicas S₃, oriundas da variedade de milho-pipoca UENF 14. Como testadores, foram utilizados quatro genótipos, dois de base genética ampla e dois de base estreita: as variedades de

polinização aberta BRS Angela (não relacionada às famílias S_3) e UENF 14 (relacionada); o híbrido *topcross* IAC-125 (não relacionado) e a linhagem P2 (não relacionada). A variedade BRS Angela resulta de seis ciclos de seleção recorrente intrapopulacional no composto de milho-pipoca CMS 43 da Embrapa Milho e Sorgo (Pacheco et al., 2001). A variedade UENF 14 (Amaral Jr. et al., 2013) foi derivada inicialmente do cruzamento entre um composto indígena com uma variedade Americana e, após processos de seleção massal, retrocruzamentos e cinco ciclos de seleção recorrente intrapopulacional, foi recomendada para a região Norte e Noroeste Fluminense. O IAC 125 é um híbrido *topcross* (híbrido simples X variedade), resultado do cruzamento do híbrido simples modificado IAC 112 com um sintético obtido de um híbrido norte-americano. A linhagem P2, assim denominada pelo Programa de Melhoramento de Milho-Pipoca da UENF, também referida como PR 024 pelo Programa de Melhoramento da Universidade Estadual de Maringá (UEM), foi obtida após sete ciclos de autofecundação (S_7) do composto CMS-42, pertencente ao banco de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo (Tabela 1).

Tabela 1 – Identificação, tipo do material, origem, base genética e relação entre os testadores e as famílias S_3 utilizadas.

Testador	Tipo	Obtentor	Base Genética	Relação
BRS Angela	Composto	Embrapa	Ampla	Não relacionado
IAC 125	Híbrido <i>topcross</i>	IAC	Estreita	Não relacionado
P2 (PR 024)	Linhagem	UEM	Estreita	Não relacionado
UENF 14	Composto	UENF	Ampla	Relacionado

4.3 MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em duas etapas. Na primeira, em 2012/2013, foram feitos os cruzamentos das 50 famílias S_3 com os quatro testadores. Na segunda etapa, em 2013/2014, os experimentos para avaliação dos híbridos *topcrosses* e famílias endogâmicas S_3 *per se* foram implementados.

4.4 OBTENÇÃO DE FAMÍLIAS S_3

A obtenção das famílias S_3 teve início na safra de 2011/2012, quando foram obtidas as primeiras famílias S_1 . Na safrinha de 2012, foram obtidas as famílias S_2 e na safra de 2012/2013, as famílias parcialmente endogâmicas S_3 . Toda fase de obtenção das famílias endogâmicas S_3 foi feita no Colégio Agrícola Antônio Sarlo, Campos dos Goytacazes-RJ, seguindo o método padrão de obtenção de linhagens endogâmicas, conforme descrição proposta por Miranda Filho e Viégas (1987), em que nos dois primeiros ciclos de autofecundações (S_0 e S_1) cada família foi derivada de uma única planta selecionada dentro da parcela. Já as famílias dos ciclos S_2 e S_3 foram obtidas pela mistura das sementes de toda a parcela antecedente.

4.5 OBTENÇÃO DOS HÍBRIDOS *TOPCROSSES*

Os cruzamentos envolvendo as 50 famílias endogâmicas S_3 com os quatro testadores (BRS Angela, IAC-125, P2 e UENF 14) foram feitos na safrinha de 2013, e a semeadura seguiu a relação de uma fileira de cada linhagem S_3 para cada fileira de plantas dos testadores. Os cruzamentos foram feitos manualmente com um *bulk* de pólen do testador.

4.6 AVALIAÇÃO DOS HÍBRIDOS *TOPCROSSES* E DAS FAMÍLIAS S_3 *PER SE*

4.6.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram conduzidos cinco experimentos implantados em delineamento experimental de blocos casualizados, com duas repetições. Quatro experimentos avaliaram os híbridos *topcrosses*, provenientes do cruzamento das 50 famílias parcialmente endogâmicas S_3 com cada um dos testadores. O quinto experimento, instalado em área contígua, avaliou as 50 famílias S_3 *per se*. Os testadores também foram avaliados como testemunhas adicionais. As avaliações dos híbridos obtidos foram feitas na Estação Experimental da Pesagro-Rio em Itaocara, na safra 2013/2014.

Cada unidade experimental foi constituída por uma fileira de 3 m, com espaçamento de 0,20 m entre plantas e 0,90 m entre fileiras, semeando-se duas sementes por cova, à profundidade de 0,05 m, tendo sido feito o desbaste aos 21 dias após a emergência, deixando-se apenas uma planta por cova, contabilizando o estande da parcela 16 plantas.

4.6.2 PREPARO DO SOLO, SEMEADURA E TRATOS CULTURAIS

A adubação e a semeadura direta foram feitas após a área de plantio estar preparada, com o auxílio de um sulcador, para marcar o espaçamento entre fileiras. A semeadura foi feita manualmente e a adubação, de acordo com os resultados da análise de solo. A adubação de cobertura foi feita nas épocas recomendadas para cultura do milho, e o controle de plantas daninhas e de pragas, conforme a necessidade da cultura.

4.6.3 CARACTERÍSTICAS AVALIADAS

4.6.3.1 CAPACIDADE DE EXPANSÃO DOS GRÃOS

A característica capacidade de expansão (CE) foi mensurada por uma amostra de sementes de cada parcela. Todas as amostras foram encaminhadas para câmara fria seca, para atingir a umidade de equilíbrio de 12%. A capacidade de expansão foi determinada em laboratório pela utilização de forno micro-ondas da marca Panasonic, modelo NN-S65B, colocando-se 30 g de sementes em pote plástico especial obtido nos EUA, na potência de 1000 W, por dois minutos e 30 segundos, em duas repetições por tratamento, possibilitando a avaliação quantitativa da expansão do milho por meio de controles automáticos de potência e tempo de aquecimento da mistura dos grãos do milho-pipoca, e o volume da pipoca expandida foi aferido com o auxílio de uma proveta graduada de 2.000 mL.

4.6.3.2 RENDIMENTO DE GRÃOS

A avaliação do rendimento de grãos (RG) foi feita pela aferição da massa de grãos produzidos em cada parcela, após a eliminação do sabugo, sendo expressa em kg.ha⁻¹. Para adequar a mensuração do rendimento de grãos, foi utilizado o método de correção de estande por meio da análise de covariância entre o número de plantas por parcela (variável X) e o rendimento de grãos observado (variável Y), de acordo com a metodologia de covariância de estande ideal proposta por Vencovsky e Barriga (1992).

4.6.3.3 ALTURA DE PLANTA E DE ESPIGA

Para medir a altura da planta e da espiga, foi usada uma régua de madeira e tomada uma amostra de oito plantas da parte central da parcela, sendo que cada planta foi medida do nível do solo até a inserção da folha bandeira (para altura de planta) e do nível do solo até a inserção da espiga superior do colmo.

4.6.3.4 DEPRESSÃO POR ENDOGAMIA

A depressão por endogamia (DP) foi estimada na terceira geração de autofecundação da variedade UENF 14. A estimativa foi obtida de acordo com a equação abaixo:

$$DP = \left(\frac{F_1 - S_1}{F_1} \right) \cdot 100 ,$$

em que:

DP = depressão por endogamia;

*F*₁ = média da população inicial; e

*S*₁ = média das progênes *S*₃ oriundas da população UENF 14.

4.6.3.5 DATA DE FLORESCIMENTO

As datas de florescimento para as partes reprodutivas masculina e feminina dos 200 híbridos *topcrosses* foram anotadas levando em consideração o número

de dias da data de plantio até o ponto em que 50% da parcela tivesse os órgãos reprodutivos (respectivamente, pendões e espigas) aptos ao cruzamento, ou seja, os pendões abrindo as anteras e liberando o grão de pólen e os estigmas emergindo da folha modificada (espiga).

4.6.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA E GENÉTICA DOS DADOS

4.6.4.1 ANÁLISE DE VARIÂNCIA

A análise de variância para o delineamento em blocos ao acaso foi baseada no modelo estatístico

$$Y_{ij} = m + t_i + b_{(j)} + e_{ij},$$

em que:

Y_{ij} : valor observado na parcela que recebeu o tratamento i no bloco j ;

m : média geral do experimento;

t_i : efeito do tratamento i , $i = 1, 2, \dots, 50$;

b_j : efeito da repetição j , $j = 1, 2$; e

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

Os componentes de variância foram estimados considerando todos os efeitos aleatórios. O esquema da ANOVA e as esperanças dos quadrados médios estão na Tabela 2.

Tabela 2 – Esquema de análise de variância para o delineamento em blocos ao acaso, em cada experimento de avaliação de *topcrosses* e famílias S_3 *per se*.

Fontes de variação	Graus de liberdade	QM	E(QM)	
Blocos	$(j - 1)$	SQBlocos/ $(j - 1)$	$\sigma^2 + i\sigma_j^2$	Q_3
Tratamentos	$(i - 1)$	SQTrat./ $(i - 1)$	$\sigma^2 + j\sigma_i^2$	Q_2
Resíduo	$(j - 1)(i - 1)$	SQ Res./ $(j - 1)(i - 1)$	σ^2	Q_1
Total	$ij - 1$			

4.6.4.2 ESTIMATIVAS DOS COMPONENTES DE VARIÂNCIA E PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS

As estimativas dos componentes genéticos foram obtidas por meio dos quadrados médios da análise de variância do modelo (Tabela 3).

Tabela 3 - Componentes de variância e dos parâmetros genéticos e fenotípicos para cada experimento de avaliação de *topcrosses* e famílias S3 *per se*.

Estimativas	Individual (<i>topcrosses</i>)	Expressão para as estimativas
σ_g^2	Variância genética entre <i>topcrosses</i>	$\frac{(Q_2 - Q_1)}{r}$
σ_f^2	Variância fenotípica média entre <i>topcrosses</i>	$\frac{Q_2}{r}$
\hat{h}^2	Herdabilidade	$\frac{(Q_2 - Q_1)}{Q_2}$
$\tilde{C}V_g$	Coeficiente de variação genético entre as médias dos <i>topcrosses</i>	$\left(\frac{\sqrt{\sigma_g^2}}{\bar{X}}\right) \cdot 100$
$\tilde{C}V_e$	Coeficiente de variação experimental	$\left(\frac{S}{\bar{X}}\right) \cdot 100$
I_v	Índice de variação	$\left(\frac{\tilde{C}V_g}{\tilde{C}V_e}\right) \cdot 100$

Q_1 : variância do erro experimental; S: desvio padrão r: número de repetições; \bar{X} : média dos *topcrosses*.

4.6.4.3 ANÁLISE EM DIALELO PARCIAL

A análise do dialelo parcial foi feita com base nas médias dos tratamentos, utilizando o modelo proposto por Griffing (1956), adaptado por Geraldi e Miranda Filho (1988). Foram avaliadas pq combinações híbridas, sendo p famílias S₃ (Grupo I) e q testadores (Grupo II) (Tabela 4).

Tabela 4. Tabela dialélica parcial dos cruzamentos entre p famílias S₃ (Grupo I) e q testadores (Grupo II).

Grupo _{II} Grupo _I	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
1	Y _{1.1}	Y _{1.2}	Y _{1.3}	Y _{1.4}
2	Y _{2.1}	Y _{2.2}	Y _{2.3}	Y _{2.4}
...
50 _(p)	Y _{50.1}	Y _{50.2}	Y _{50.3}	Y _{50.4}

O modelo estatístico adotado foi o seguinte:

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

em que:

Y_{ij} : valor médio da combinação híbrida entre o i -ésimo testador do grupo I e a j -ésima linhagem S_3 do grupo II;

μ : Média geral;

g_i : Efeito da capacidade geral de combinação do i -ésimo genitor do grupo I;

g_j : Efeito da capacidade geral de combinação do j -ésimo genitor do grupo II;

s_{ij} : Efeito da capacidade específica de combinação dos híbridos formados, dos grupos I e II, respectivamente; e

ε_{ij} : Erro experimental médio.

O estudo da capacidade geral e específica de combinação, respaldado apenas nos cruzamentos *topcrosses*, foi feito de acordo com o esquema da análise de variância em dialelo parcial em nível de médias, envolvendo famílias S_3 e testadores. O método de cruzamentos dialélicos permite estimar os efeitos da CGC que proporcionam informações sobre a concentração de alelos predominantemente aditivos e os efeitos da CEC que evidenciam a importância dos efeitos não aditivos ou predominantemente em dominância ou epistasia (Cruz e Regazzi, 1997).

O modelo misto em questão considerou o efeito das famílias como aleatório e o efeito dos testadores como fixo. Na Tabela 5, está indicado o quadrado médio do resíduo (QMR), já dividido pelo número de observações que deram origem às médias da tabela dialélica, M simbolizando o número de graus de liberdade associados ao QMR.

Tabela 5. Esquema da Análise de Variância ao nível de médias para o dialelo parcial, segundo o método de Griffing (1956), adaptado por Geraldi e Miranda Filho (1988).

FV	GL	QM	F
Tratamentos <small>(cruzamentos)</small>	$pq-1$		
CGC _(G1)	$p-1$	QMG ₁	QMG ₁ /QMR
CGC _(G2)	$q-1$	QMG ₂	QMG ₂ /QMR
CEC	$(p-1)(q-1)$	QMS	QMS/QMR
Resíduo	M	QMR	

4.6.4.4 CAPACIDADE DE DISCRIMINAÇÃO DOS *TOPCROSSES*

A eficiência dos testadores foi avaliada pelas estimativas dos índices de Performance (P) e de Diferenciação (D), propostos por Fasoulas (1983). O índice P fornece a porcentagem em relação ao número de médias que uma cultivar em particular supera as demais estatisticamente com base na diferença mínima significativa (DMS) determinada por teste de médias (teste t, teste z ou teste Duncan, por exemplo). O índice D fornece o percentual de comparações, aos pares, entre cultivares que apresentaram diferenças significativas. Os índices são fornecidos pelas seguintes expressões:

$$P = \frac{100 \cdot m}{(n - 1)}$$

em que:

P = índice de performance;

m = número de médias superadas estatisticamente; e

n = número de cultivares.

$$D = 200 \cdot \frac{\sum mi}{n(n - 1)}$$

em que:

D = índice de diferenciação;

mi = número de médias superadas estatisticamente; e

n = número de cultivares.

4.6.4.5 CORRELAÇÃO DE SPEARMAN

A estimativa da correlação classificatória de Spearman (Steel; Torrie, 1980) foi utilizada para verificar o grau de coincidência nas classificações das famílias endogâmicas S_3 , em função do testador utilizado. A expressão de Spearman é dada seguinte fórmula:

$$r_s = \frac{6 \sum d_i^2}{(K - 1)K(K - 1)}$$

em que:

r_s : coeficiente de correlação classificatória de Spearman;

K: número de diferenças (ds); e

d : diferenças da ordem de classificação (posições).

4.6.4.6 ESTIMATIVA DA HETEROSE RELATIVA DE CADA *TOPCROSS*

A estimativa da heterose relativa de cada híbrido *topcross* foi obtida pela expressão:

$$h_{ij}(\%) = \frac{\overline{S}_{ij} - \overline{S}_j}{\overline{S}_j} \cdot 100, \text{ em que:}$$

h_{ij} : heterose do cruzamento da j -ésima família S_3 com o testador 'i';

\overline{S}_{ij} : média do *topcross* da família 'j' com o testador 'i'; e

\overline{S}_j : média de cada testador *per se*.

4.6.5 ANÁLISES MOLECULARES E DIVERGÊNCIA GENÉTICA

4.6.5.1 SELEÇÃO DOS *PRIMERS* SSR-EST'S

Os iniciadores microssatélites (SSR-ESTs) foram identificados com base na literatura e no Banco de Dados do *National Center of Biotechnology Information* (NCBI), com base em sequências desenvolvidas e mapeadas por Sharapova et al. (2002) para a espécie *Zea mays* L. Durante a busca dos iniciadores no NCBI, procurou-se selecionar uma quantidade significativa de *primers* em cada um dos dez cromossomos para que o genoma da espécie fosse devidamente amostrado. Inicialmente, foram selecionados 228 pares de *primers*, submetidos a testes de anelamento de acordo com o aplicativo *Primer Select* do programa *dnastar* (www.dnastar.com/).

Após análise da integridade dos *primers* e sua síntese, eles foram ressuspensos em água ultrapura, segundo indicações do fabricante.

De posse dos iniciadores, foi iniciada sua triagem nos quatro genótipos testadores para observar qual destes iniciadores apresentariam bandas polimórficas. Após esta etapa, verificou-se que 25 *primers* foram polimórficos nos genótipos avaliados, tornando-os aptos a serem testados na população de trabalho. As informações referentes aos iniciadores utilizados na análise molecular estão Tabela 6.

4.6.5.2 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA AVALIAÇÃO

Para as análises moleculares, amostras de cada parcela, correspondentes a cada família S_3 , foram colhidas individualmente (*bulk* da parcela como amostra), sendo tais amostras compostas apenas por folhas jovens. Com o intuito de tornar as análises moleculares o mais padronizadas possível, o número de amostras de DNA genômico a serem analisadas foi reduzido de 50 para 43 famílias endogâmicas S_3 , além dos quatro testadores. A razão para tal diminuição se justifica pelo fato de cada placa de PCR a ser analisada no *fragment analyser* comportar 95 amostras (um poço é reservado para o marcador) e com o número de amostras sendo reduzido para 43 (mais os quatro testadores, totalizando 47 amostras), pôde-se analisar dois iniciadores diferentes em uma mesma análise do capilar, ressaltando que o custo operacional do equipamento é elevado e reduzir custos sem perder a qualidade das análises é uma estratégia válida.

As amostras coletadas foram devidamente identificadas, recobertas com papel alumínio e imersas em nitrogênio líquido. Posteriormente, foram acondicionadas e armazenadas em ultra-freezer (-80°C).

4.6.5.3 EXTRAÇÃO DE DNA

As amostras de folhas jovens coletadas foram maceradas em nitrogênio líquido com a finalidade de fazer a extração do DNA genômico. Todo o processo de extração seguiu o protocolo descrito abaixo:

(1) Preparo da solução de extração (CTAB 2%):

- 100mL de TRIS 1M (pH 8,0);
- 280 mL de NaCl 5M (80 g de NaCl);
- 80 mL de EDTA 0,25M (40 ml de EDTA 0,5M);
- 20 g de CTAB; e
- Completar o volume para 1 L com água ultrapura.

Obs.: Dissolver o CTAB e o NaCl e adicionar aos poucos o TRIS e o EDTA.

(2) Solução de extração CTAB 2% (para 24 amostras):

- 22,5 mL de CTAB 2%;
- 0,45 g de PVP; e
- 22,5 μ L de β -mercaptoetanol.

Obs.: Utilizar capela de exaustão até completa dissolução. Manter em agitação e em temperatura de 65 °C no momento da aplicação sobre o macerado tecidual.

PROTOCOLO:

1. Pesar de 20 a 40 mg de tecido foliar;
2. Macerar as amostras em nitrogênio líquido;
3. Transferir o macerado para *ependorf* de 2 mL;
4. Adicionar 700 μ L da solução de extração;
5. Incubar em banho-maria por 50 min, a 65 °C, homogeneizando a cada 10 minutos;
6. Deixar esfriar à temperatura ambiente;
7. Adicionar 600 μ L de CIA (clorofórmio:álcool isoamílico a 24:1);
8. Agitar por 1 minuto, com auxílio de vórtex, até completa homogeinização;
9. Centrifugar a 13.000 rpm por 3 minutos;
10. Transferir o sobrenadante para *ependorfs* de 1,5 mL;
11. Adicionar 500 μ L de isopropanol (acondicionado a 5 °C);
12. Inverter suavemente (precipitação do DNA é visível);
13. Acondicionar a - 20 °C de 30 minutos a 3 horas ou *over nighth* a 4 °C;
14. Centrifugar por 15 minutos a 14.000 rpm;
15. Descartar o sobrenadante (atenção para não descartar o *pellet*);
16. Adicionar 500 μ L de etanol 70%, centrifugar por 5 minutos a 14.000 rpm e descartar o sobrenadante em seguida (atenção para não descartar o *pellet*). Repetir o procedimento uma vez;
17. Deixar o *pellet* secar à temperatura ambiente;
18. Ressuspender o *pellet* em 200 μ L de TE pH 8,0 (Tris-HCl 10mM + EDTA 1mM) contendo RNase (para 24 amostras: 5 mL de H₂O ultrapura + 40 μ L de RNase); e

19. Incubar em banho-maria a 37 °C por 30 minutos ou até o *pellet* se dissolver completamente.

Após a extração, o DNA foi submetido à quantificação via análise em gel de agarose a 1%, utilizando o marcador *High DNA Mass Ladder* (Invitrogen, USA) para verificar a qualidade (integridade das bandas) e a quantidade ($\eta\text{g}/\mu\text{L}$) de DNA extraído.

4.6.5.4 REAÇÃO DA POLIMERASE EM CADEIA (PCR)

Para testar as condições da PCR, foi feito um gradiente de temperatura, de 60 a 71,5 °C, em que foram selecionadas as temperaturas ótimas de anelamento para cada um dos iniciadores sintetizados. Após a definição das temperaturas ótimas de anelamento, foi feito um *screening* com a finalidade de selecionar os *primers* com base no grau de polimorfismo e na qualidade das ampliações.

As reações de amplificação (PCR) foram feitas em um volume final de 10 μL por reação, contendo 4,55 μL de água ultra pura (U.P.), 1 μL de tampão de reação 10X (Thermo Scientific, *Fermentas*, USA), 0,6 μL de MgCl_2 a 25mM (Thermo Scientific, *Fermentas*, USA), 1 μL de dNTP a 2mM (Aldrich Sigma, USA), 0,8 μL de *primer* R+F (*Aldrich Sigma*, USA), 0,05 μL de Taq DNA polimerase (Thermo Scientific, *Fermentas*, USA. 5U/ μL) e 2 μL de DNA (5 ng/ μL). As ampliações foram feitas obedecendo a cada respectiva temperatura ideal de anelamento (T_m) dos iniciadores, em um termociclador *Applied Biosystems/ Veriti 96 well*. Foi utilizado um programa de 35 ciclos, obedecendo às seguintes temperaturas e tempo: 94°C durante 4 minutos (desnaturação inicial); 94°C por 1 minuto (desnaturação cíclica); temperatura específica de cada iniciador, em °C, por 1 minuto (anelamento); 72°C por 3 minutos (extensão cíclica); 72°C por 7 minutos (extensão final); e 4°C *forever*.

Tabela 6 – Denominação dos 25 pares de *primers* SSR-ESTs utilizados nas análises moleculares e respectivos loco, localização cromossômica (Cr), distância do centrômero (cM), sequência dos primers, temperatura de anelamento (TM) e motif

Loco	Cr	cM	Sequência (5'→3')	TM (°C)	Motif
umc2174	3	566,2	<u>ACATAAATAAAACGTGTGCCGCAG</u> <u>GTACGTACGCAGCCACTTGTTCAG</u>	64,0	(CGA)4
umc1153	5	607,7	<u>CAGCATCTATAGCTTGCTTGCATT</u> <u>TGGGTTTTGTTTGTGGTTTGTG</u>	62,5	(TCA)4
umc1680	5	434,1	<u>GGGGCTTATATGTCCCTTGAAGTCC</u> <u>TTAATAAAGGAGAGGGTGGGAACC</u>	63,0	(TC)7
umc1071	1	78,7	<u>AGGAAGACACGAGAGACACCGTAG</u> <u>GTGGTTGTCTGAGTTCGTCGTATT</u>	63,0	(TACGA)5
umc1780	3	11,4	<u>CATGATGTACCCGCAACAAATG</u> <u>CTGTCCCCAGGTTGCTGTAGTAGT</u>	63,0	(ACC)4
umc1760	7	553,9	<u>CATGTGGGTGTTAATAAGCAAGGG</u> <u>GCCTTGTTTGTCTCTGAAACAAT</u>	63,5	(GA)6
umc1327	8	55,2	<u>AGGGTTTTGCTCTTGGAACTCTC</u> <u>GAGGAAGGAGGAGGTCGTATCGT</u>	63,5	(GCC)4
umc2165	6	448,9	<u>AGAACACCAAATGGTGACGTTATGT</u> <u>CTAGCTCGTCTTCCCTGTGGTCT</u>	63,0	(TTC)12
umc1393	7	212	<u>CCTTCTTCTTATTGTCACCGAACG</u> <u>GCCGATGAGATCTTTAACAACTG</u>	63,0	(GTC)4
umc1450	7	270,3	<u>ACTTTATTTAGCCACGTCACCTCG</u> <u>AGTATGACACGGGATTTTGCTGTT</u>	63,0	(AC)10
umc1221	5	329,5	<u>AAACAGGCACAAAGCATGGATAG</u> <u>GCAACAGCAACTGGCAACAG</u>	63,0	(CT)7
umc1336	10	95,37	<u>GTACAAATGATAAGCAAGGGGCAG</u> <u>CTCTGTTTTGGAAGAAGCTTTTTGG</u>	63,0	(ACCAG)5
umc1415	8	119,56	<u>GTGAGATATATCCCCGCCTTCC</u> <u>AGACTTCCTGAAGTCTCGTCCTA</u>	63,0	(GAC)10
umc1506	10	287,5	<u>AAAAGAAACATGTTTCAGTCGAGCG</u> <u>ATAAAGGTTGGCAAAACGTAGCCT</u>	63,5	(AACA)4
umc1594	3	685,1	<u>CACTGCAGGCCACACATACATA</u> <u>GCCAGGGGAGAAATAAAATAAAGC</u>	62,0	(TA)10
umc1656	6	37,58	<u>AGTTTTGACCGCGCAAAAAGTTA</u> <u>GTACGAGCAGGCCATTAACCC</u>	63,0	(CGGT)7
umc2059	6	259,49	<u>GGAAAAGGAGGAACAGTGTAAGCA</u> <u>AGCGTGATCAGACGTACAATGCTA</u>	63,0	(CAG)8
umc2152	3	738,7	<u>TAGCTTCACCTGATGATCTTGAC</u> <u>CCTTTGTCTTCCGCTATCTTCCTT</u>	63,0	(TG)8
umc2246	2	3,1	<u>AGGCTCCAGCTCTAGGGGAGT</u> <u>GTGAACTGTGTAGCGTGGAGTTGT</u>	63,0	(CCT)8
umc2292	5	19,39	<u>AGCAGAAGAGGACAAACCAGATTC</u> <u>ACTTCCGGCATGTCTTGTGTTT</u>	62,5	(CTGCCT)4
umc1448	2	232,5	<u>ATCCTCTCATCTTTAGGTCCACCG</u> <u>CATATACAGTCTTCTGGCTGCTCA</u>	63,5	(GCT)5
gnl4	5	469,2	<u>AGCAGAACGGCAAGGGCTACT</u> <u>TTTGGCACACCACGACGA</u>	64,0	-
y1	6	36	<u>CAAGAAGAGGAGAGGCCGGA</u> <u>TTGAGCAGGGTGGAGCACTG</u>	64,5	(CCA)3
umc1867	9	24,3	<u>ATAAGCTCGTTGATCTCCTCCTCC</u> <u>TCTCGCTGTCCTTCGATTAGTACGG</u>	63,5	(TC)8
umc1380	10	16,7	<u>CTGCTGATGTCTGGAAGAACCCT</u> <u>AGCATCATGCCAGCAGGTTTT</u>	64,0	(CTG)5

4.6.5.5 ELETROFORESE

O material genético (DNA) amplificado foi submetido à amperagem de 350 a 400 mA, em gel de agarose Meta Phor 3%, imerso em tampão TAE [Tris-Acetato 90 mM (pH8,0) + EDTA 10 mM], corado com GEL RED™ e visualizado pelo sistema de foto documentação MiniBis Pro (*Bio-Imaging Systems*) para análise do padrão de bandas amplificadas nos testadores.

Foi utilizado também o marcador DNA *Ladder* (Invitrogen, USA) de 250pb durante as corridas para determinar o tamanho dos fragmentos amplificados.

4.6.5.6 ANÁLISE DOS DADOS MOLECULARES

Os 25 pares de iniciadores foram submetidos a uma análise via capilar, utilizando o *Fragment Analyser (Advanced Analytical)*, que permite detectar uma diferença de até 5 pares de bases entre os alelos analisados. Os dados obtidos pela amplificação dos iniciadores SSR-ESTs foram convertidos em código numérico para cada alelo por loco. Tal matriz numérica foi desenvolvida, atribuindo valores de 1 até o número máximo de alelos no loco, como descrito no exemplo a seguir: para um loco que apresenta três alelos, tem-se a representação 11, 22 e 33 para as formas homocigotas (A1A1, A2A2 e A3A3) e 12, 13 e 23 para as heterocigotas (A1A2, A1A3 e A2A3). Respalado nessa matriz numérica, com auxílio do programa *Power Marker*, versão 3.25 (Liu e Muse, 2005), estimou-se a diversidade genética com base no índice de Shannon (I), o número de alelos (Na), o número de alelos efetivos (Ne), as heterocigosidades observadas (Ho) e esperadas (He) para o grupo de genótipos em questão (famílias endogâmicas S₃), além do conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) e do coeficiente de endogamia (F). Foi obtida a matriz de dissimilaridade genética com base no índice Ponderado, conforme proposto por Ramos et al., (2011). Foi construído um dendrograma segundo os valores de dissimilaridade pelo método hierárquico UPGMA (*Unweighted pair-group method average*), visando a ilustrar a relação genética entre as diferentes famílias S₃. As análises estatísticas foram feitas com auxílio do aplicativo computacional Genes (Cruz, 2013).

4.6.5.7 CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE DADOS MOLECULARES E FENOTÍPICOS

A estimativa da correlação classificatória de Spearman (Steel; Torrie, 1980) foi utilizada para verificar o grau de coincidência entre as distâncias genéticas obtidas por meio de marcadores moleculares e duas análises fenotípicas: a primeira correlação foi feita com as classificações obtidas dos índices de capacidade específica de combinação das famílias endogâmicas S_3 e a segunda, com a heterose obtida com os híbridos *topcrosses*.

A expressão de Spearman arranja-se da seguinte forma:

$$r_s = \frac{6 \sum d_i^2}{(K-1)K(K-1)}$$

em que:

r_s : coeficiente de correlação classificatória de Spearman;

K: número de diferenças (ds); e

d : diferenças da ordem de classificação (posições).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES DE VARIÂNCIAS

As análises de variâncias correspondentes aos experimentos dos híbridos *topcrosses* e ao experimento de avaliação das famílias parcialmente endogâmicas S_3 *per se* estão resumidamente apresentadas na Tabela 7. Pode-se verificar que os quadrados médios de tratamentos foram significativos ($p < 0,05$ ou $0,01$) para as características analisadas, indicando variabilidade genética (variância genética diferente de zero) para as características analisadas, o que pode ser explicado pelas estruturas genéticas dos testadores utilizados, uma vez que as variedades de polinização aberta BRS Angela e UENF 14 e o híbrido *topcross* (IAC 125) já têm por si só elevada variabilidade genética. A linhagem testadora P2, apesar de ser um material genético com elevado nível de homozigose (S_7), é oriunda do composto CMS 42, pertencente ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa (CNPMS), o que também confere a ela certa variabilidade. A significância conferida às famílias S_3 *per se* pode ser explicada pela origem da população base (UENF 14), da qual foram originadas, por se tratar de uma variedade com ampla variabilidade, decorrente de repetidos ciclos de seleção recorrente.

Os coeficientes de variação experimental (CV) para rendimento de grãos (RG) apresentaram valores dentro dos limites aceitáveis para experimentação agrícola, de acordo com Scapim, et al. (1995). A variedade Angela apresentou CV(%) de 15,07, Tabela 7, semelhante aos resultados obtidos por Barreto et al.

(2012) e Rodovalho et al. (2012), em trabalhos utilizando a mesma variedade como testador de base genética ampla, obtendo, respectivamente, percentuais de 17,78 e 14,70. Esses autores, ao avaliarem o desempenho *per se* de famílias parcialmente endogâmicas S_2 de milho-pipoca, verificaram, respectivamente, valores de CV de 29,86 e 26,18%, resultados também semelhantes ao obtido neste trabalho, para as famílias S_3 , de acordo com o exposto na Tabela 7. Ainda em relação à característica RG, Seifert et al. (2006) avaliaram a capacidade combinatória, via *topcrosses*, de 14 populações de milho-pipoca e obtiveram um CV percentual em torno de 15, valor este muito próximo ao obtido para os experimentos *topcrosses* apresentados na Tabela 7, envolvendo como testadores os genótipos Angela (15,07), IAC 125 (16,71), P2 (13,96) e UENF 14 (16,94), resultando em satisfatória precisão experimental para tal característica.

De acordo com os resultados obtidos para a característica capacidade de expansão (CE), pode-se notar que os valores de CV (%) expostos na Tabela 7 para os genótipos Angela (14,23), IAC 125 (14,22), P2 (14,48), UENF 14 (9,30) e S_3 *per se* (24,62) estão dentro de limites aceitáveis de precisão experimental, quando comparados a outros trabalhos com milho-pipoca encontrados na literatura. No entanto, Barreto et al. (2012) se referem à CE como uma característica que não apresenta classificação própria e apontam como limites aceitáveis de CV valores entre 12,5 e 13,8%.

Miranda et al. (2008) avaliaram a variabilidade genética e a composição de grupos heteróticos de populações de milhos pipoca brasileiras e obtiveram um CV de 12% para CE nos híbridos avaliados. Vilarinho et al. (2002), ao testar famílias S_1 e S_2 em um programa de melhoramento intrapopulacional de milho-pipoca, encontraram valores de CV de 16,38 e 14,91%, respectivamente. De acordo com a Tabela 7, as magnitudes de CE encontradas para os experimentos *topcrosses* estão próximas dos valores de precisão experimental encontrados em outros trabalhos com a mesma espécie, mostrando precisão nos experimentos feitos.

Tabela 7. Análises de variância dos ensaios para os híbridos *topcrosses* e as famílias S_3 *per se* para rendimento de grãos ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) e capacidade de expansão ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$).

FV	GL	QM				
		S_3 X Angela	S_3 XIAC-125	S_3 XP2	S_3 XUENF14	S_3 <i>per se</i>
Rendimento de Grãos (RG)						
Rep	1	2183900,99	593525,18	343761,99	370365,60	76517,79
Trat	49	1219809,45**	1178969,05**	1056164,30*	1127949,90**	398531,47**
Erro	49	489229,97	573285,61	540400,29	544026,16	122655,83
Média		4638,79	4531,62	5264,58	4353,59	1346,69
CV (%)		15,07	16,71	13,96	16,94	26,00
Capacidade de Expansão (CE)						
Rep	1	0,24	1,62	14,31	3,05	32,12
Trat	49	23,21**	25,04**	27,60**	18,35**	67,87*
Erro	49	19,46	10,89	13,58	7,85	38,11
Média		30,99	32,13	25,44	30,13	25,06
CV (%)		14,23	14,22	14,48	9,30	24,62

* ** Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Pode-se notar que os coeficientes de variação atribuídos ao ensaio das famílias S_3 *per se* ultrapassaram 20%, o que, segundo a classificação de Pimentel Gomes (2000), confere baixa precisão experimental. Segundo Ramalho (2000), pequenas variações nas unidades experimentais, induzidas ou involuntárias, causam certa heterogeneidade entre as parcelas. Algumas críticas podem ser feitas à metodologia de classificação de Pimentel Gomes, por não levar em consideração a cultura estudada, as variáveis em análise, a heterogeneidade do solo e o tamanho da parcela.

Diante do exposto, no que diz respeito ao coeficiente de variação experimental, tanto para RG quanto para CE, pode-se inferir que o delineamento em blocos ao acaso utilizado foi eficaz no controle ambiental, conferindo certa tranquilidade e segurança para iniciar a discussão de todas as análises referentes ao estudo da capacidade combinatória das famílias parcialmente endogâmicas S_3 derivadas da variedade comercial UENF 14.

Na Tabela 7, estão apresentadas as médias de rendimento de grãos (RG) e capacidade de expansão (CE) para todos os materiais em estudo, de acordo com cada experimento avaliado, variando estas médias de 1.346,69 a 5.264,58 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, para RG, e de 25,06 a 32,13 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, para CE. As famílias S_3 expressaram

as menores médias para ambas as características avaliadas e os híbridos *topcrosses* oriundos do cruzamento com o testador P2 apresentaram a maior média para RG, enquanto os híbridos *topcrosses* oriundos do cruzamento com o testador IAC 125 se destacaram com as maiores médias para CE. Resultados semelhantes foram obtidos por Barreto et al. (2012), em que as famílias S_2 *per se* expressaram as menores médias para RG e CE, respectivamente, 1.097,23 kg.ha⁻¹ e 28,94 mL.g⁻¹, e os híbridos *topcrosses* derivados do testador IAC 125 detiveram a maior média para CE, 33,06 mL.g⁻¹. Uma justificativa para os baixos valores médios de RG verificados pelas famílias endogâmicas pode estar relacionada ao efeito da depressão endogâmica pela maior ação dos efeitos gênicos de dominância.

A Figura 1 mostra os *boxplots* referentes à dispersão dos híbridos *topcrosses* e das famílias S_3 *per se* para as características RG e CE.

Considerando a característica rendimento de grãos, podem ser observados claramente na Figura 1 os baixos índices para as famílias S_3 *per se*, o que pode ser explicado pelo elevado efeito da depressão endogâmica para esse caráter, o que já não se verifica para capacidade de expansão, visto que esse caráter é menos influenciado pela ação resultante da elevação do nível de homozigose.

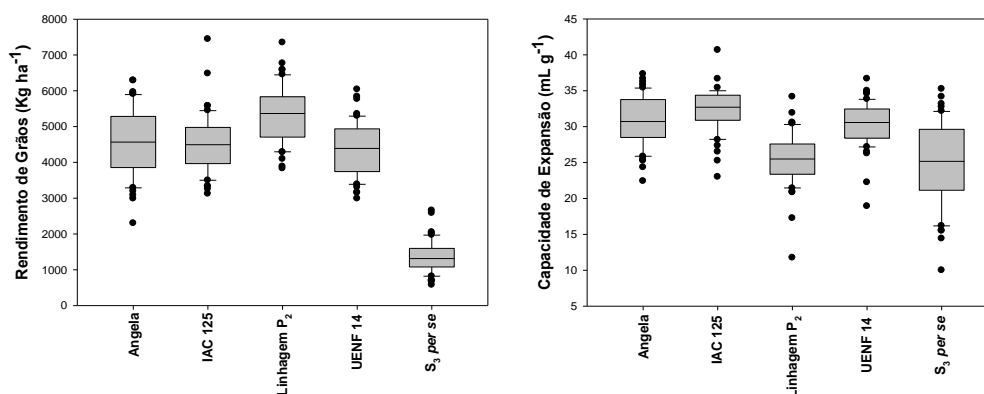


Figura 1. *Boxplot* para as variáveis rendimento de grãos e capacidade de expansão para diferentes testadores (Angela, IAC 125, Linhagem P₂ e UENF 14) e para famílias S_3 *per se*.

5.2 ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS E FENOTÍPICOS

A Tabela 8 mostra as estimativas de variância genética ($\hat{\sigma}_G^2$), variância fenotípica ($\hat{\sigma}_F^2$), herdabilidade (\hat{h}^2), coeficiente de variação experimental (CV_e), coeficiente de variação genético (CV_g) e índice de variação (I_v) dos híbridos

topcrosses provenientes dos testadores Angela, IAC 125, P2 e UENF 14 e das famílias S_3 *per se* separando rendimento de grãos e capacidade de expansão.

Para a variável rendimento de grãos, a maior variância genética foi observada quando o testador Angela foi utilizado, testador de base genética ampla e não relacionado, constatando que este testador promoveu a expressão mais acentuada da variabilidade genética nos híbridos *topcrosses*, superando, aproximadamente três vezes, a variância genética encontrada nas famílias S_3 *per se*.

Tabela 8. Estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos dos *topcrosses* S_3 x Angela, S_3 x IAC-125, S_3 x P₂, S_3 x UENF 14 e famílias S_3 *per se* para rendimento de grãos (kg. ha⁻¹) e capacidade de expansão (mL. g⁻¹).

	Angela	IAC-125	P2	UENF 14	S_3 <i>per se</i>
Rendimento de Grãos (RG)					
σ_e^2	22830,61	18927,61	16117,62	18247,62	8621,11
σ_F^2	38119,04	36842,78	33005,13	35248,43	12454,11
\hat{h}^2	0,59	0,51	0,49	0,51	0,69
CV _e	15,07	16,71	13,96	16,94	26
CV _g	3,25	3,03	2,41	3,10	6,89
I _v (%)	21,61	18,17	17,27	18,31	26,52
Capacidade de expansão (CE)					
σ_e^2	0,11	0,44	0,44	0,33	0,93
σ_F^2	0,72	0,78	0,86	0,57	2,12
\hat{h}^2	0,16	0,56	0,51	0,57	0,44
CV _e	14,23	14,22	14,48	9,3	24,62
CV _g	1,10	2,07	2,60	1,90	3,85
I _v (%)	7,76	14,55	17,97	20,44	15,63

Em seguida, ocupando respectivamente a segunda e terceira colocações, com valores muito próximos de variância genética, os híbridos obtidos entre IAC X S_3 e UENF 14 X S_3 apresentaram expressiva variabilidade genética. Os híbridos *topcrosses*, com menor variância genética, foram os obtidos entre P2 X S_3 , que, apesar de terem ocupado esta posição, não tornam o testador P2 um genótipo ruim, pois pode-se observar que seu valor foi aproximadamente o dobro da variância genética encontrada nas famílias S_3 *per se*. Estas variâncias genéticas

observadas na Tabela 8, para rendimento de grãos, podem ser consideradas satisfatórias e ampliam as expectativas para com a variedade UENF 14, em nível de exploração do seu potencial genético, como população inicial em um programa de melhoramento de milho-pipoca.

Em relação à variância genética, para a variável capacidade de expansão, as famílias S_3 *per se* foram superiores em aproximadamente oito vezes a variância genética encontrada nos híbridos *topcrosses* resultantes do cruzamento entre Angela X S_3 e mais de duas vezes superior às variâncias dos híbridos IAC 125 X S_3 e P2 X S_3 , sendo estes dois últimos reconhecidos testadores de base genética estreita. Também foi detectada variância genética nas famílias S_3 *per se* superior, aproximadamente três vezes, à variedade UENF 14, testador caracteristicamente de base genética ampla e altamente relacionado. É importante ressaltar que as estimativas que envolvem as famílias S_3 *per se* e o testador UENF 14 estão relacionadas com a variância genética intrapopulacional, por se tratar de genótipos oriundos da mesma população base, a variedade UENF 14 (Tabela 8).

Quanto às estimativas de herdabilidade, observa-se na Tabela 8 que, de maneira geral, em média, tais índices se mantiveram muito próximos, independentemente do testador utilizado, com exceção dos híbridos oriundos do testador Angela, especificamente para a variável capacidade de expansão, sendo constatado que este testador não foi capaz de expressar a variabilidade genética entre as famílias S_3 . Barreto et al. (2012) obtiveram índices de herdabilidade semelhantes para este mesmo testador (Angela), ao avaliarem a capacidade combinatória de famílias S_2 de milho-pipoca para rendimento de grãos e capacidade de expansão. Ainda analisando os índices de herdabilidade para rendimento de grãos, as famílias S_3 *per se* apresentaram o maior valor (0,69%) e os híbridos *topcrosses* provenientes do testador P2, o menor índice (0,48%). Para capacidade de expansão, os híbridos UENF14 X S_3 e IAC 125 X S_3 apresentaram os maiores índices de herdabilidade (respectivamente, 0,57 e 0,56%) e os híbridos Angela x S_3 apresentaram o pior índice, 0,16%, em decorrência da reduzida variância genética e elevada variância fenotípica apresentadas por tais híbridos (Tabela 8).

Considerando os valores observados de herdabilidade, constata-se o baixo potencial de aproveitamento destas estimativas como parâmetro de maior utilidade para o estudo em questão, tanto para RG quanto para CE.

Todavia, os índices de variação, ou seja, a relação entre os coeficientes de variação genética e os coeficientes de variação experimental, revelaram que grande parte da variação observada foi produto da variância genética e não da variância ambiental (Tabela 8).

5.3 ANÁLISE DE VARIÂNCIA E ESTIMATIVA DOS EFEITOS DA CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO

A Tabela 9 mostra que houve efeito significativo para as capacidades geral e específica de combinação, indicando a existência de variabilidade genética para as características avaliadas (RG e CE).

Tabela 9 - Análise das capacidades combinatórias para rendimento de grãos (RG) e capacidade de expansão (CE).

FV	GL	QM	
		RG	CE
CRUZAMENTOS	254	4929150,46**	48,44**
CGC Famílias S ₃ (I)	49	1237844,33**	31,82*
CGC Testadores (II)	3	15738269,05**	937,29**
CEC	200	1651409,91**	31,87**
RESÍDUO	199	453919,57	19,98

*, ** Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

A Tabela 10 apresenta as estimativas de capacidade geral de combinação (CGC) das famílias S₃ *per se* (grupo I) e testadores (Grupo II) e, na Figura 2, os mesmos efeitos estão expostos sob forma de gráfico para rendimento de grãos e capacidade de expansão.

Analisando inicialmente os resultados, nota-se expressiva variação entre as CGC das famílias S₃ *per se* e as características analisadas (RG e CE), podendo ser destacadas as famílias 9, 16 e 23 por apresentarem, concomitantemente, índices positivos e significativos de CGC, tanto para RG quanto para CE, conforme destacado na Tabela 10.

As cinco famílias que apresentaram as melhores estimativas de RG, em ordem decrescente, foram a 9, 33, 4, 20 e 16 e para CE, as cinco melhores foram a 18, 23, 42, 11 e 25.

Ainda em relação à CGC do grupo I, o genótipo que apresentou melhor índice combinatório, para RG, foi a família 9, a única a alcançar índice acima de 1.000. As famílias 23, 2, 31, e 50 apresentaram estimativas positivas de CGC, mas não alcançaram amplitude satisfatória, com valores aproximados de 256, 255, 251 e 245, respectivamente.

Os baixos índices apresentados para rendimento de grãos, de maneira geral, pelas famílias parcialmente endogâmicas S_3 indicam terem sofrido pouco efeito de aditividade, possivelmente pela complexidade da herança do caráter (RG) e pelo fato de a população da qual se originaram as famílias S_3 (UENF 14) apresentar expressiva variabilidade genética, o que pode ter tornado menos frequente a ocorrência de uma combinação satisfatória, causada por efeitos aditivos.

Tabela 10 - Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (\tilde{G}_i) associados aos grupos I (famílias S_3) e II (Testadores) para as variáveis rendimento de grãos ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) e capacidade de expansão ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$).

EFEITO DA CGC ASSOCIADO AO GRUPO I					
Famílias	Variável		Famílias	Variável	
	RG	CE		RG	CE
1	83,40	-1,27	26	-268,65	0,69
2	255,12	-0,35	27	-597,17	0,43
3	61,83	-0,36	28	-467,30	0,31
4	379,23	-0,09	29	-52,52	0,10
5	81,38	-1,08	30	83,89	-3,17
6	-35,71	0,14	31	251,31	0,33
7	-314,00	1,27	32	28,00	0,60
8	41,60	0,91	33	470,92	0,67
9	1070,15	1,56	34	-235,93	-0,33
10	-18,78	-2,27	35	-133,52	0,04
11	167,05	1,84	36	2,83	-0,01
12	-154,83	0,61	37	71,36	-1,37
13	131,68	1,30	38	-254,44	-2,10
14	84,50	0,47	39	-512,28	-0,63
15	53,56	0,87	40	134,03	0,85
16	331,12	1,31	41	189,63	-1,03
17	-215,50	-1,26	42	-44,16	2,16
18	-139,68	3,30	43	-339,05	-0,10
19	31,09	-2,64	44	-60,72	-0,49
20	354,95	-1,18	45	-268,13	-2,52
21	-53,83	0,63	46	6,72	-1,39
22	-60,75	-0,45	47	12,56	1,68
23	256,05	2,77	48	-425,25	0,04
24	-3,79	0,92	49	-143,48	-1,87
25	-80,49	1,80	50	245,98	-1,67
Erro padrão (\tilde{G}_i)	166,74	1,10			
EFEITO DA CGC ASSOCIADO AO GRUPO II					
Testador	Variável				
	RG	CE			
1. Angela	-124,75	1,20			
2. IAC 125	-156,53	2,52			
3. P2	563,46	-4,23			
4. UENF 14	-282,17	0,50			
Erro padrão (\tilde{G}_i)	56,14	0,37			

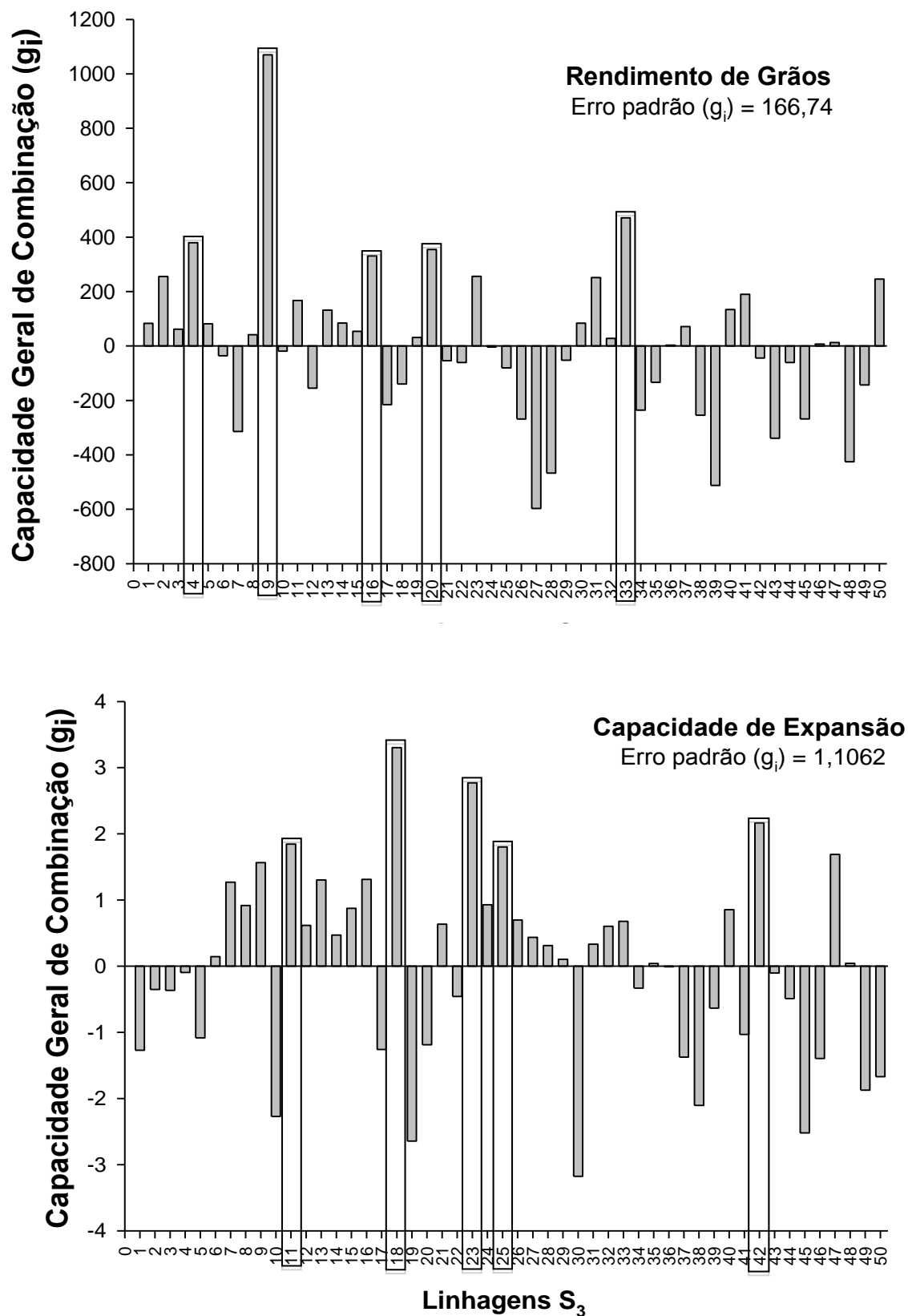


Figura 2. Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (g_i) associados às famílias S₃ para rendimento de grãos ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) e capacidade de expansão ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$) de acordo com o modelo de Griffing (1956).

Baixos valores de \tilde{G}_i indicam que a média dos híbridos de que a família “i” participa não difere muito da média geral do dialelo, ou *topcross* (Vencovsky e Cruz, 1989). Em contrapartida, estimativas elevadas, negativas ou positivas, expressam que a linhagem ou família “i” é, respectivamente, muito pior ou melhor que as demais famílias incluídas no *topcross*, levando em consideração a média de seus híbridos (Silva et al., 2011).

Analisando a CGC para a característica CE, observa-se que a família 18 foi a que apresentou maior índice, 3,30, seguida da família 23, com índice de 2,77 (Tabela 10). As famílias 47, 13 e 7 também apresentaram índices positivos de CGC, com valores respectivos de 1,68, 1,3 e 1,27. De maneira geral, genótipos com índices significativamente positivos de CGC são considerados bons materiais em razão dos efeitos aditivos presentes.

Os índices de CGC para CE, em particular, quando comparados com os índices para RG, foram de certa forma mais satisfatórios, possivelmente em razão de a capacidade de expansão ser uma característica oligogênica, portanto, mais influenciada pelos efeitos de aditividade, uma vez que a maior frequência de alelos favoráveis para CE, provavelmente, esteja relacionada ao constante melhoramento genético da característica em questão.

A Figura 3 apresenta as estimativas da capacidade geral de combinação (CGC) dos testadores (grupo II), para RG e CE.

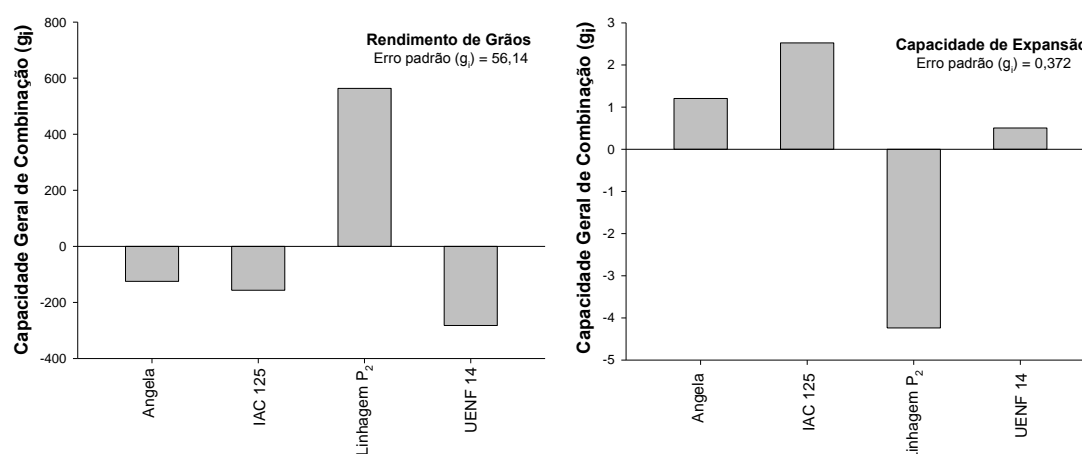


Figura 3. Estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (g_i) associados aos testadores para rendimento de grãos (kg. ha^{-1}) e capacidade de expansão (mL. g^{-1}) de acordo com o modelo de Griffing (1956).

Considerando a CGC para o grupo II, Figura 3, entre os testadores, a linhagem P2 se destacou para a característica RG, com índices próximos de 600, o que pode ser explicado pela ocorrência de complementaridade desse testador com as famílias S_3 . O testador IAC 125 foi aquele que expressou índices mais elevados para CE, com estimativas próximas de 2.5. Barreto (2008), avaliando a capacidade combinatória de famílias S_2 de milho-pipoca, também obteve resultado semelhante para o híbrido triplo IAC 125, indicando-o como o testador com os melhores índices de CGC para CE.

Silva e et al. (2011) avaliaram a capacidade combinatória de 10 linhagens de milho-pipoca para sete características, entre elas a capacidade expansiva dos grãos, e verificaram que entre os genótipos testados a linhagem P2 (PR 024) apresentou a maior estimativa de \tilde{G}_i para CE, denotando que tal linhagem poderia contribuir para aumentos significativos desta característica (CE) em programas de melhoramento da espécie. Observa-se que a linhagem P2 em outros trabalhos teve comportamento distinto para CE, no entanto, no presente estudo, apresentou melhores estimativas de \tilde{G}_i para RG, sendo, portanto, um testador de menor interesse para incrementos na média da característica capacidade de expansão, em se tratando de linhagens ou famílias endogâmicas obtidas da variedade UENF 14.

A Tabela 11 mostra as estimativas dos efeitos das capacidades específicas de combinação (CEC) para rendimento de grãos de cada cruzamento de cada família S_3 *per se* com os quatro testadores (200 híbridos *topcrosses*). Na Figura 4, podem ser observados os gráficos de dispersão ilustrando os mesmos efeitos de CEC para RG.

Em se tratando dos efeitos da CEC (\tilde{S}_{ij}), Vencovsky e Cruz (1989) e Cruz *et al.* (2004) afirmam que tais estimativas apresentam importância particular, uma vez que: a) o sinal indica, ou não, a existência de dominância unidirecional; b) a magnitude é um indicativo de heterose varietal, posto que quanto maior \tilde{S}_{ij} maior é a divergência entre o testador “j” e os demais genitores e, conseqüentemente, maior o efeito de heterose varietal nos seus híbridos; e c) o somatório é função da heterose média.

Sempre que os efeitos de \tilde{S}_{ij} são referidos, torna-se implícito que a capacidade específica de combinação corresponde ao comportamento particular

de dois genitores cruzados entre si e está associada a efeitos genéticos não aditivos, de interesse em complementações gênicas em programas interpopulacionais de melhoramento (Vencovsky e Cruz, 1989; Hallauer e Miranda Filho, 1988; Cruz *et al.*, 2006).

Tabela 11 - Estimativas dos efeitos das capacidades específicas de combinação (CEC) de cada cruzamento entre família S₃(Grupo I) x testador (Grupo II) e estimativas do erro padrão de rendimento de grãos (kg.ha⁻¹).

G I	Grupo II				G I	Grupo II			
	Angela	IAC125	P2	UENF14		Angela	IAC125	P2	UENF14
1	273,5	332,2	628,6	122,1	26	-21,06	232,4	-580,7	38,9
2	196,5	-269,1	846,5	1223,7	27	-42,8	-694,6	-110,3	-384,3
3	-603,9	976	-204,6	604,7	28	-682,2	-691,1	87,5	286,3
4	1463,8	58,6	-160,4	1169,4	29	-2092,6	-776,2	653,4	-117,3
5	26,3	504,6	-7,9	-952,8	30	774,0	-5,3	903	700,7
6	695,7	229,1	-662	396	31	589,7	681	398,5	-1104
7	1007,4	-233,3	-385,1	-169,1	32	216,7	32,06	-578,9	459,2
8	499,3	162,9	362,2	502,2	33	409,2	689,1	4,0	-131,2
9	771,9	1960,3	-5,7	-426,2	34	-590,7	-207,7	271	539
10	-87,8	-395,2	715,2	456,2	35	114,2	993,5	418	-747
11	-1094,3	996,7	418,2	257,3	36	82,6	79,4	965,5	-560,5
12	-586,6	-207,3	-314,6	-191,2	37	64,3	736,8	-397,7	8,5
13	1387,6	-775,3	746,3	-46,5	38	254,2	-218,8	97,6	-610
14	184,0	875,5	246,1	-573	39	-740,6	235,3	-792	6
15	871,0	21,3	636,2	533,7	40	344,7	-818,4	232,7	317
16	981,8	-234	-501,9	619,1	41	-459,7	251,9	1445	-59,4
17	819,4	-880	665,5	-922,7	42	142,7	470,9	228,1	-731
18	-281,3	555,3	1375	-653,4	43	-1023	-534,2	1785	-1084,4
19	-604,8	217,8	166,8	1719,6	44	-1096,6	-127,3	430,7	-563,6
20	-76,3	1712,5	-769	709,6	45	1106	943,0	-303,6	1011
21	1517,1	-1019,4	-985	842,2	46	359,6	205,2	-857,5	-1032
22	1149,8	-856,9	-1189	182,3	47	-502,9	3,06	-85,5	957
23	634,1	300,3	-12,2	630,1	48	-223,2	-36,9	-307,2	996
24	-1035,6	-376,8	1460	294,2	49	-1315	114,6	2359	-415
25	-343,5	747,9	155,4	-447,0	50	1235,2	-4,4	1074	38,7
Erro padrão S _{ij}		454,4							
Erro padrão S _{ii}		333,9							
Erro padrão S _{jj}		441,5							

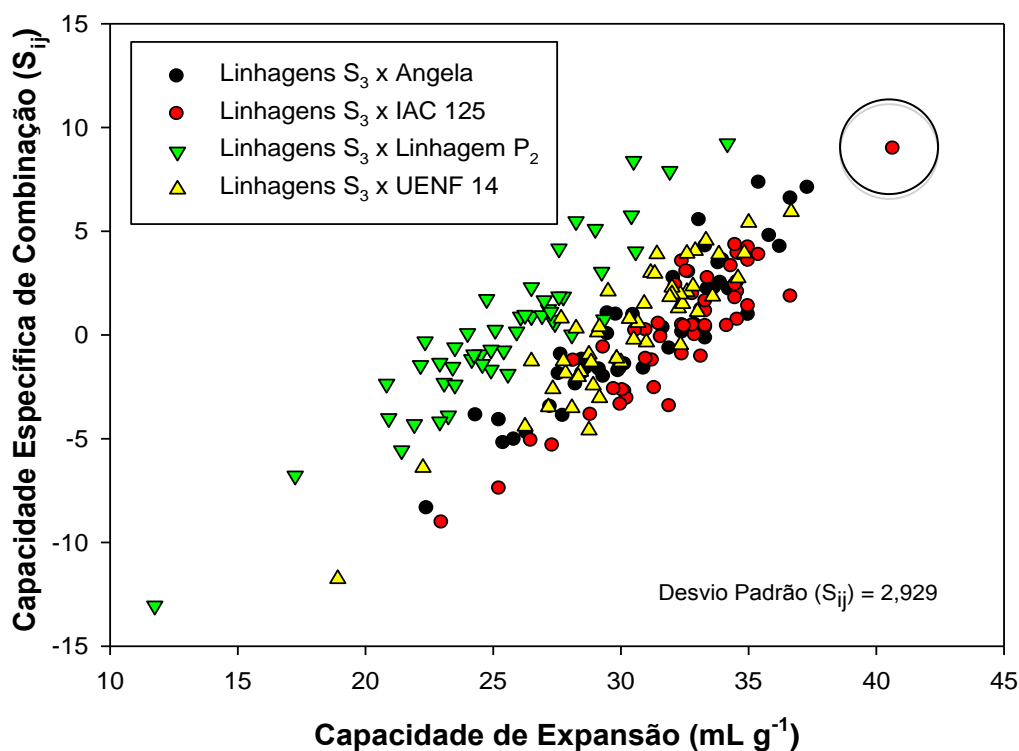
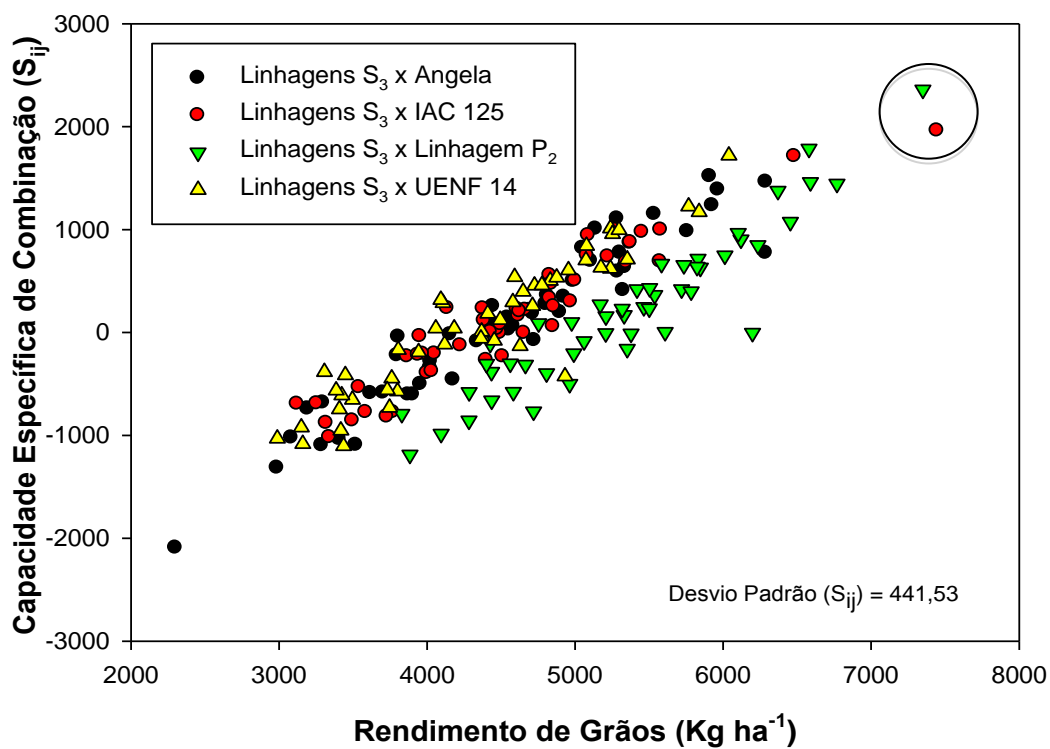


Figura 4. Gráfico de dispersão referente ao efeito das capacidades específicas de combinação (S_{ij}) de cada cruzamento S_3 x testador para rendimento de grãos (kg. ha^{-1}) e capacidade de expansão (mL g^{-1}).

Considerando a característica rendimento de grãos, os dois híbridos circulados na Figura 4, que apresentaram melhores estimativas dos efeitos da CEC, foram oriundos dos cruzamentos entre o testador P2 e a família 49 e entre o testador IAC 125 com a família 9. Estes híbridos, respectivamente, detiveram efeitos \hat{S}_{ij} de 2359 e 1960, além de apresentarem valores acima de 7500 kg.ha⁻¹ (Tabela 11 e Figura 4). Esses dois híbridos são muito interessantes por expressarem em seus genótipos elevados efeitos genéticos não aditivos, derivados das complementações alélicas de seus respectivos genitores, e certamente irão compor híbridos com elevada produtividade média de grãos, podendo ser úteis em programas interpopulacionais de melhoramento de milho-pipoca.

Outros híbridos também expressaram resultados satisfatórios, a exemplo do híbrido entre UENF 14 e a família 19 e entre Angela e a família 21, com índices de 1719 e 1517, respectivamente, e valores de produtividade em torno de 6000 kg.ha⁻¹ (Tabela 11 e Figura 4). De todos os cruzamentos possíveis, os de melhores desempenhos de CEC para o testador Angela foram para com as famílias 21, 4, 13, 50, 22 e 45. As famílias que se destacaram com o testador IAC 125 foram a 9, 20, 11, 35, 3 e 45. Para o testador P2, as famílias que apresentaram melhores efeitos de CEC foram a 49, 43, 24, 41, 18 e 50. As famílias de melhor combinação específica com o testador UENF 14 foram a 19, 2, 4, 45, 48 e 47 (Tabela 11).

Esses resultados indicam que combinações híbridas com boa produtividade média de grãos podem ser obtidas entre os testadores e as respectivas famílias citadas.

As estimativas dos efeitos da CEC para capacidade de expansão encontram-se na Tabela 12. Também na Figura 4, podem ser observados os gráficos de dispersão ilustrando os mesmos efeitos de CEC para CE.

Silva et al. (2010) avaliaram a habilidade combinatória de linhagens tropicais e temperadas de milho-pipoca e afirmaram, com base nas estimativas positivas de \hat{S}_{ij} , que a característica CE revelou dominância unidirecional, denotando que se os desvios de dominância expressarem índices negativos, pode-se concluir que os genes aditivos atuam exclusivamente para aumentos na capacidade de expansão.

De acordo com Pereira e Amaral Júnior (2001) e Simon *et al.* (2004), há

ocorrência de dominância unidirecional para capacidade de expansão, em que genes aditivos, de forma absoluta, representam a maior importância na expressão do caráter.

De acordo com os resultados da Tabela 12 e Figura 4, pode-se verificar que, entre as estimativas \hat{S}_{ij} obtidas para capacidade de expansão, a melhor combinação híbrida foi derivada do cruzamento entre a família 2 com o testador IAC 125, com índice próximo de 8,96 e valor de CE superior a 40 mL.g⁻¹. Os híbridos dos cruzamentos entre as famílias 19, 44 e 39 com o testador Angela e entre as famílias 26 e 22 com o testador UENF 14 obtiveram índices acima de 5 e valores de CE superiores a 35 mL.g⁻¹. Os híbridos obtidos com as famílias 2, 30 e 1 e o testador P2 apresentaram índices em torno de, respectivamente, 9,22; 8,37 e 7,88 com valores de capacidade de expansão de 30 a 35 mL.g⁻¹ (Tabela 12 e Figura 4). Em se tratando de complementações alélicas, decorrentes de efeitos não-aditivos, pode-se dizer que os híbridos derivados dos genitores anteriormente citados, com bons índices de CEC, são genótipos que expressaram boa heterose em relação à CE, devendo ser mais bem estudados.

As Tabelas 11 e 12 mostram que algumas famílias apresentaram estimativas (\hat{S}_{ij}) satisfatórias, concomitantemente da CEC para RG e CE.

Respectivamente para RG e CE, a família 19 revelou o melhor índice (1^o colocação) para UENF 14 (RG) e, também, para Angela (CE); a família 2 foi a 2^a colocada para UENF 14 e a 1^a para IAC 125; a família 49 foi a 1^a para P2 e a 2^a para IAC 125; a família 20 foi a 2^a para IAC 125 e a 4^a para UENF 14; a família 45, além de ocupar a 4^a melhor classificação para RG com a UENF 14 e a 5^a colocação para CE com o P2, também expressou efeitos positivos para diferentes testadores para rendimento de grãos, sendo a 4^a melhor com a UENF 14 e a 6^a com os testadores Angela e IAC 125; a família 22 foi a 5^a com Angela e a 2^a com a UENF 14; por fim, a família 50 ocupou a 6^a colocação para RG com o testador P2 e também obteve a mesma classificação para CE com o testador Angela.

É importante ressaltar que nem sempre elevados índices de CEC atribuídos aos híbridos conferem aos genitores boas indicações como *topcrosses*, pois, às vezes, o que ocorreu foi uma boa complementação alélica derivada de efeitos de dominância referente a um dos pais, enquanto no outro, pode-se verificar um efeito negativo de CGC. Portanto, é interessante observar como cada genitor se comporta individualmente e como está sua CGC em relação aos

demais genitores.

Tabela 12 - Estimativas dos efeitos das capacidades específicas de combinação (CEC) de cada cruzamento entre família S₃ (Grupo I) x testador (Grupo II) e estimativas do erro padrão de capacidade de expansão (mL.g⁻¹).

G I	Grupo II				G I	Grupo II			
	Angela	IAC125	P2	UENF14		Angela	IAC125	P2	UENF14
1	0,03	0,21	7,88	4,55	26	2,22	-2,67	-1,41	5,92
2	3,4	8,96	9,22	-0,94	27	-1,26	-1,24	1,84	2,35
3	-1,8	-0,11	-4,02	-1,84	28	-4,72	-2,62	0,88	-2,02
4	-2,39	1,19	0,87	3,88	29	-1,67	-1,16	-2,32	-1,3
5	3,01	0,52	2,28	0,12	30	5,52	3,53	8,37	0,79
6	-5,05	1,12	-0,94	-1,77	31	4,76	0,43	-0,71	1,95
7	4,2	-3,08	4,01	-1,31	32	0,32	-7,41	-2,40	-3,48
8	-3,9	0,02	3,03	1,29	33	3,6	1,76	0,94	-0,22
9	0,11	1,37	0,55	-3,52	34	2,49	1,60	-1,55	2,3
10	1,03	2,37	1,72	-1,27	35	-8,37	2,39	-1,17	0,58
11	-0,67	-2,57	-3,89	1,11	36	-3,48	-9,05	0,96	1,96
12	-2,02	-5,34	1,83	-4,40	37	-4,11	2,73	0,07	3,91
13	2,54	-0,94	-1,68	-2,43	38	-0,97	-0,62	-2,36	0,31
14	2,2	2,05	0,15	2,07	39	6,56	3,57	5,75	1,50
15	-1,6	-0,02	-0,76	1,49	40	-1,42	0,41	1,09	3,93
16	2,19	-3,37	-6,78	-0,35	41	-1,21	3,30	-1,35	-1,26
17	-1,89	4,19	0,72	0,38	42	-2,74	-1,06	-1,88	-3,04
18	0,95	-3,44	0,73	-4,6	43	-5,22	0,46	-0,94	-2,60
19	7,3	-1,25	-0,32	2,10	44	7,08	3,84	-13,05	0,77
20	0,94	1,95	-0,61	4,05	45	-3,88	3,04	5,47	3,89
21	2,3	-3,8	1,23	-11,76	46	2,73	3,92	5,09	-6,39
22	-1,62	-5,10	0,24	5,41	47	0,48	0,42	-5,56	1,85
23	-0,18	1,83	0,01	-0,48	48	3,88	0,39	1,66	1,83
24	-1,7	0,34	-4,3	-1,13	49	0,96	4,31	4,15	3,00
25	-1,63	0,72	-4,18	2,74	50	4,25	0,19	-1,47	2,95
Erro padrão S _{ij}		2,93							
Erro padrão S _{ii}		3,01							
Erro padrão S _{jj}		2,21							

Analisando de maneira geral, ainda a CEC para RG e CE, pode-se observar nos gráficos de dispersão expostos na Figura 4 um comportamento distinto especificamente dos híbridos obtidos entre as famílias S₃ com o testador P2, quando comparado com os demais híbridos, como se formassem um grupo distinto dos demais. Possivelmente, tal comportamento esteja relacionado à origem do testador por se tratar do único testador, que é uma linhagem (S₇), portanto, não relacionado, com base genética estreita e elevado nível de homozigose.

Uma outra observação diz respeito à forma como as estimativas entre os efeitos de CEC e os valores das características avaliadas, principalmente rendimento de grãos, se distribuem em toda análise combinatória, de modo semelhante a uma análise de regressão linear (Figura 4).

Analisando a Tabela 12, pode-se inferir que houve ocorrência de bidirecionalidade de dominância para CE, contrapondo-se às afirmações de Pereira e Amaral Júnior (2001) e Simon et al. (2004). No entanto, trabalhos recentes têm mostrado ocorrência de bidirecionalidade de dominância para CE, como o de Silva et al. (2010), Barreto et al. (2012), Rodovalho et al. (2012), Soni e Khanorkar (2013) e de Gonçalves et al. (2014).

Na concepção de Cruz *et al.* (2006), as estimativas dos efeitos de \hat{S}_{ij} *per se* não são suficientes para inferir sobre as melhores combinações, sendo necessário, para tanto, averiguar as estimativas dos efeitos de \hat{G}_i dos genitores, devendo ser favorável para pelo menos um deles.

Diante da concepção de Cruz et al. (2004), foi feito um comparativo entre as estimativas dos efeitos de \hat{G}_i e de \hat{S}_{ij} para todas as famílias S_3 avaliadas e se verificou que, entre as famílias de maiores estimativas de capacidade geral e específica de combinação, para a característica rendimento de grãos, três famílias apresentaram, concomitantemente, estimativas elevadas dos efeitos de \hat{G}_i e \hat{S}_{ij} . A família 9, além de ocupar a 1ª colocação para CGC, com \hat{G}_i de 1070.15 e também a 1ª posição para CEC, em combinação com o testador IAC 125, com \hat{S}_{ij} de 1960, foi a família com a 2ª melhor CEC entre os 200 híbridos *topcrosses* avaliados. A família 4 foi a 3ª colocada para CGC, com \hat{G}_i de 379.23 e ocupou a 2ª colocação para CEC, com o testador Angela, com \hat{S}_{ij} de 1463.8. Por último e não menos importante, a família 20 se posicionou como a 4ª melhor CGC, com \hat{G}_i de 354.95 e se destacou também como a 2ª melhor CEC, com o testador IAC 125, com \hat{S}_{ij} de 1712.5. Portanto, pode-se afirmar que, para rendimento de grãos, as famílias 9, 4 e 20 são genótipos promissores, pois contribuem para complementações alélicas tanto com efeitos aditivos quanto com efeitos de dominância.

5.4 CAPACIDADE DE DISCRIMINAÇÃO DOS *TOPCROSSES*

As estimativas de discriminação dos testadores, de acordo com os índices de performance (P) e discriminação (D) de Fasoulas (1983), para rendimento de grãos e capacidade de expansão, estão, respectivamente, nas Tabelas 13 e 14.

Com base no índice discriminatório D, de Fasoulas, pode-se verificar que o testador que melhor discriminou as famílias S_3 foi a variedade UENF 14, tanto para rendimento de grãos quanto para capacidade de expansão, com estimativas de 28,98 e 25,22, respectivamente (Tabelas 13 e 14).

Cabe ressaltar que o mérito da UENF 14 sobre os demais testadores foi mais expressivo para capacidade de expansão do que para rendimento de grãos, sendo que as diferenças entre os índices discriminatórios de todos os testadores foram muito pequenas (Tabela 13).

Para rendimento de grãos, é de grande importância ressaltar que as famílias S_3 *per se*, que obtiveram as melhores estimativas de capacidade geral de combinação, compuseram os melhores híbridos quando cruzadas com os testadores Angela, IAC 125 e UENF 14 (Tabelas 10 e 17). O testador P2, segundo menor valor do índice D, Tabela 13, não discriminou as famílias com melhores CGC entre os híbridos *topcrosses* mais produtivos, no entanto, produziu híbridos com a melhor média geral para rendimento de grãos, lembrando que este genitor apresentou a melhor capacidade geral de combinação entre os demais testadores, Tabela 10, o que torna coerente os resultados verificados em relação à capacidade de produzir bons híbridos com famílias que apresentaram índices de capacidades gerais de combinação muito baixos e até mesmo negativos, como, por exemplo, as famílias 49, 41 e 24 (Tabelas 10 e 11).

Portanto, faz-se necessário ressaltar que os híbridos obtidos do testador P2 expressam em alto grau o valor genético conferido por ele, sendo desaconselhável utilizá-lo como testador para a característica rendimento de grãos.

Entre os 10 híbridos mais produtivos, destacam-se quatro famílias S_3 cruzadas com o testador Angela, três famílias cruzadas com o testador IAC 125 e também três com o testador UENF 14. Figuras entre elas, as cinco famílias S_3 de maior CGC para RG (9, 33, 4, 20 e 16, em ordem decrescente de efeito \tilde{G}_i), respectivamente, para os híbridos Angela X S_3 , as famílias 4 (1ª classificação de performance), 9 (2ª), 16 (5ª) e 33 (9ª), para os híbridos IAC 125 X S_3 , as famílias 9 (melhor performance), 20 (2ª) e 33 (4ª) e para os híbridos UENF 14 X S_3 , as famílias 4 (3ª), 20 (4ª) e 16 (7ª) (Tabelas 10 e 13).

Tabela 13 – Capacidade de discriminação dos testadores, de acordo com o índice D e índice de performance P (Fasoulas, 1983), para rendimento de grãos ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) dos híbridos *topcrosses*, fundamentado no teste t de student (0,05) de comparações de médias.

Ordem	Angela			IAC 125			P2			UENF 14			
	S ₃	Média	P	S ₃	Média	P	S ₃	Média	P	S ₃	Média	P	
1	4	5113,81	73	9	7444,44	98	49	7349,70	86	2	6803,70	96	
2	9	5112,79	73	20	6481,48	84	41	6768,82	63	19	6039,06	67	
3	13	4790,06	55	11	5577,78	37	24	6589,84	51	4	5837,04	57	
4	50	4751,87	55	33	5574,07	37	43	6580,71	49	20	5352,94	39	
5	16	4583,67	47	3	5451,85	35	50	6454,00	45	47	5296,88	33	
6	22	4359,79	29	14	5374,07	33	18	6370,02	39	46	5251,93	33	
7	15	4195,29	24	31	5346,30	33	2	6235,66	37	16	5238,64	33	
8	23	4160,94	24	35	5274,07	27	30	6120,85	31	44	5238,64	33	
9	33	4150,85	22	37	5222,22	22	36	6102,33	31	23	5174,58	31	
10	30	4128,63	22	45	5088,89	20	13	6012,06	29	21	5076,77	31	
11	31	4111,77	22	25	5081,48	20	1	5846,00	22	30	5072,98	31	
12	45	4108,45	22	5	5000,00	16	10	5830,41	22	24	4976,69	29	
13	41	4002,19	16	23	4970,37	16	15	5823,77	22	3	4954,97	20	
14	7	3964,13	16	41	4855,56	14	31	5783,81	18	9	4932,24	20	
15	6	3930,67	14	4	4851,85	14	29	5734,88	18	31	4883,51	20	
16	17	3874,61	14	42	4840,74	14	11	5719,29	18	15	4875,67	20	
17	8	3811,64	14	1	4829,63	14	33	5608,96	10	8	4832,24	20	
18	3	3807,43	14	18	4829,63	14	17	5583,98	10	32	4775,59	20	
19	19	3775,24	10	19	4662,96	10	8	5537,81	10	10	4725,85	18	
20	40	3749,51	10	50	4655,56	10	9	5511,11	6	11	4712,71	18	
21	2	3722,37	10	46	4625,93	10	44	5504,05	6	6	4648,65	12	
22	46	3637,06	8	8	4618,52	8	40	5500,78	6	33	4628,03	10	
23	1	3627,61	8	6	4607,41	8	14	5464,69	6	34	4591,50	8	
24	20	3549,32	8	16	4511,11	6	35	5418,52	6	1	4493,86	6	
25	14	3539,23	8	36	4496,30	6	23	5377,78	6	50	4453,96	6	
26	32	3515,47	8	30	4492,59	6	4	5352,80	6	22	4409,94	6	
27	21	3488,01	8	15	4488,89	6	19	5331,96	6	13	4373,49	2	
28	37	3406,41	8	32	4474,07	6	42	5317,92	4	37	4368,27	2	
29	5	3378,44	6	47	4429,63	6	25	5208,96	4	40	4362,96	2	
30	42	3369,24	6	2	4400,00	4	5	5207,41	4	49	4183,59	0	
31	36	3356,21	6	49	4385,19	4	34	5168,99	4	29	4118,52	0	
32	11	3329,14	6	26	4377,78	4	47	5061,01	2	28	4107,41	0	
33	38	3270,52	2	44	4225,93	2	3	4991,22	0	39	4093,10	0	
34	34	3260,94	2	39	4137,04	2	38	4977,18	0	26	4058,67	0	
35	43	3252,00	2	12	4051,85	2	16	4963,14	0	12	3942,34	0	
36	35	3251,36	2	24	4033,33	2	37	4807,58	0	7	3805,22	0	
37	39	3181,63	2	10	4000,00	2	28	4754,18	0	14	3799,92	0	
38	10	3164,13	2	34	3970,37	2	20	4719,89	0	25	3760,86	0	
39	26	2980,99	2	48	3951,85	2	12	4664,51	0	41	3747,06	0	
40	18	2849,70	2	38	3940,74	2	32	4583,03	0	36	3730,64	0	
41	25	2846,64	2	13	3770,37	2	45	4562,19	0	18	3495,20	0	
42	49	2842,42	2	40	3729,63	0	6	4436,44	0	48	3448,15	0	
43	47	2780,35	2	29	3585,19	0	7	4434,88	0	38	3423,23	0	
44	27	2630,67	2	43	3540,74	0	27	4426,53	0	5	3416,92	0	
45	48	2622,24	2	22	3496,30	0	48	4401,55	0	35	3407,91	0	
46	12	2529,27	2	21	3340,74	0	26	4284,58	0	43	3385,69	0	
47	24	2231,31	2	28	3255,56	0	46	4283,21	0	27	3306,82	0	
48	28	2121,22	2	27	3122,22	0	21	4095,09	0	42	3159,77	0	
49	44	2113,30	2	7	2966,67	0	22	3883,98	0	17	3150,17	0	
50	29	1125,56	0	17	2651,85	0	39	3829,80	0	45	2988,30	0	
		D = 28,24			D = 26,53			D = 27,18			D = 28,98		

Tabela 14 – Capacidade de discriminação dos testadores, de acordo com o índice D e índice de performance P (Fasoulas, 1983), para capacidade de expansão (mL.g^{-1}) dos híbridos *topcrosses*, fundamentado no teste t de student (0,05) de comparações de médias.

Ordem	Angela			IAC 125			P2			UENF 14		
	S ₃	Média	P	S ₃	Média	P	S ₃	Média	P	S ₃	Média	P
1	44	37,33	33	21	41,33	92	2	34,17	82	40	34,83	51
2	39	36,67	24	2	40,67	90	1	31,92	53	25	34,58	49
3	7	36,25	22	45	40,00	73	7	30,58	37	4	33,83	41
4	31	35,83	16	23	36,67	24	30	30,50	37	47	33,58	37
5	19	35,42	14	48	36,25	20	39	30,42	35	1	33,33	31
6	18	35,00	10	44	35,42	12	18	29,33	20	11	33,00	27
7	48	34,67	8	9	35,00	10	8	29,25	18	20	32,92	24
8	13	34,58	6	39	35,00	10	46	29,00	14	27	32,83	24
9	16	34,25	6	25	34,58	8	45	28,25	10	14	32,58	22
10	34	34,00	6	14	34,58	8	23	28,08	8	37	32,58	22
11	33	33,92	6	46	34,58	8	12	27,75	8	15	32,42	18
12	2	33,83	6	33	34,50	8	27	27,58	6	22	32,33	16
13	21	33,75	6	35	34,50	8	49	27,58	6	23	32,33	16
14	26	33,67	4	49	34,50	8	9	27,42	6	31	32,33	16
15	14	33,42	4	41	34,33	8	16	27,33	6	8	32,25	16
16	23	33,33	4	47	34,17	8	40	27,25	6	34	32,00	14
17	50	33,33	4	37	33,42	6	21	27,17	6	48	31,92	14
18	30	33,08	2	6	33,33	6	48	27,00	2	45	31,42	12
19	47	32,92	2	24	33,33	6	33	26,92	2	50	31,33	12
20	5	32,67	2	34	33,33	6	5	26,50	2	49	31,17	10
21	9	32,42	0	40	33,33	6	28	26,50	2	16	31,00	10
22	43	32,33	0	42	33,17	6	36	26,25	2	39	30,92	8
23	46	32,08	0	4	33,17	6	4	26,08	2	26	30,75	8
24	35	32,00	0	8	33,00	6	14	25,92	2	35	30,67	8
25	45	32,00	0	15	32,92	6	42	25,58	2	44	30,33	8
26	11	31,92	0	20	32,83	4	15	25,42	2	7	30,00	8
27	32	31,67	0	31	32,83	4	22	25,08	2	24	29,83	8
28	25	30,92	0	36	32,67	4	13	24,92	2	19	29,50	8
29	20	30,50	0	30	32,42	4	31	24,92	2	17	29,17	8
30	40	30,17	0	13	32,42	4	10	24,75	2	42	29,17	8
31	42	30,17	0	43	32,42	4	26	24,58	2	5	29,08	6
32	15	30,00	0	10	32,17	4	6	24,50	2	13	28,92	6
33	27	29,92	0	18	31,92	2	43	24,25	2	29	28,83	6
34	24	29,92	0	3	31,58	2	35	24,17	2	2	28,75	4
35	49	29,83	0	5	31,50	2	37	24,00	2	18	28,75	4
36	1	29,50	0	17	31,42	2	20	23,50	2	6	28,42	4
37	10	29,50	0	11	31,33	2	32	23,50	2	28	28,33	4
38	12	29,33	0	27	31,25	2	44	23,50	2	38	28,25	4
39	29	29,17	0	1	31,00	2	34	23,42	0	9	28,08	4
40	22	28,67	0	29	31,00	2	11	23,25	0	3	27,83	4
41	3	28,50	0	50	30,58	0	29	23,08	0	41	27,75	4
42	41	28,50	0	7	30,25	0	25	22,92	0	30	27,67	4
43	4	28,25	0	26	30,08	0	41	22,92	0	43	27,33	4
44	8	27,75	0	16	30,00	0	19	22,33	0	32	27,17	4
45	38	27,67	0	28	29,75	0	50	22,17	0	10	26,50	2
46	17	27,58	0	38	29,33	0	24	21,92	0	12	26,25	2
47	36	27,25	0	19	28,17	0	47	21,42	0	36	24,42	2
48	28	26,33	0	12	27,33	0	3	20,92	0	33	24,08	2
49	6	25,83	0	22	26,50	0	38	20,83	0	46	22,25	0
50	37	25,25	0	32	25,25	0	17	17,25	0	21	18,92	0
	D = 7,51			D = 19,92			D = 16,08			D = 25,22		

Um resultado muito interessante, sobre o qual cabe comentário neste momento, é a respeito dos desempenhos das famílias 9 e 4 e 20 para a característica rendimento de grãos, uma vez que a família 9 apresentou as melhores estimativas dos efeitos de CGC e de CEC, com o testador IAC 125, a família 4 obteve a terceira melhor estimativa de CGC e foi a segunda melhor para CEC com o testador Angela e a terceira melhor CEC com o testador UENF 14 e, a família 20 deteve o quarto melhor efeito de CGC e foi a segunda melhor família para CEC com o testador IAC 125. Estes resultados, alicerçados nos índices propostos por Griffing (1956), Geraldi e Miranda Filho (1988), somados aos resultados anteriormente expostos, com base nos índices de Fasoulas (1983), aumentam significativamente a chance de encontrar nestas famílias citadas combinações híbridas promissoras, no que diz respeito ao caráter de rendimento de grãos.

Diante do exposto, pode-se constatar que dois testadores se destacaram. O primeiro deles foi a variedade Angela por ter, entre seus nove híbridos mais produtivos, quatro das cinco famílias de maiores capacidades gerais de combinação para esta característica, além do fato de ter a quinta melhor estimativa do efeito da capacidade específica de combinação (família 21 X Angela) e ser o segundo testador com melhor capacidade geral de combinação. O segundo testador a obter resultados satisfatórios foi o híbrido IAC 125 por ter, entre seus quatro híbridos *topcross* mais produtivos, três das cinco famílias de maiores CGC para RG, além de ter apresentado o segundo e quarto melhores índices de CEC, respectivamente, com as famílias 9 e 20 (Tabelas 10, 11 e 13).

Com relação à característica capacidade de expansão, o testador UENF 14 foi o genitor que mais discriminou os híbridos *topcrosses*, expressando maior amplitude do valor de D em relação aos demais testadores, indicando que ter sido capaz de discriminar um número maior de médias para CE (Tabela 14). Apesar de ser o genitor masculino com maior índice D, a variedade UENF 14 apresentou resultados modestos para o caráter em questão, sendo o terceiro melhor testador para efeitos de CGC, Tabela 10, e seus híbridos *topcrosses* ocuparam a terceira melhor média geral de CE (Tabela 7). No entanto, o testador UENF 14 obteve, entre seus seis melhores híbridos, dois formados pela composição com duas famílias S_3 , que se destacaram, respectivamente, como o quarto e quinto

melhores efeitos de capacidade geral de combinação (famílias 11 e 25) (Tabela 10).

O testador Angela produziu bons híbridos *topcrosses*, com a segunda melhor média geral para o caráter CE (Tabela 7). Entre esses híbridos, o sexto melhor híbrido obtido, com a família 18, se destacou pelo fato de esta família apresentar a melhor estimativa de efeito da capacidade geral de combinação (Tabela 10). Este testador também apontou a família 23, segunda melhor CGC, como a 16^a melhor combinação híbrida. A variedade BRS Angela, neste estudo, obteve o segundo melhor efeito de capacidade geral de combinação entre os demais testadores avaliados (Tabela 10).

O testador IAC 125 foi o único genitor a produzir híbridos *topcrosses* com valores de CE acima de 40 mL.g⁻¹, com melhor média geral para o caráter, Tabela 7, e também, em relação aos demais testadores, apresentou o melhor efeito de capacidade geral de combinação (Tabela 9). Entre os dez melhores híbridos produzidos pelo IAC 125, dois deles (4^o e 9^o colocados) foram derivados de cruzamentos com duas famílias S₃ (23 e 25, respectivamente), que apresentaram o segundo e o quinto melhor índice de CGC (Tabelas 10 e 14).

O testador P2, apesar de ter entre seus dez melhores híbridos *topcrosses*, dois híbridos compostos pelas duas famílias S₃ de melhor efeito de capacidade geral de combinação (famílias 18 e 23), não se mostrou um testador muito interessante para capacidade de expansão, pois, além de ser o genitor com menor efeito de CGC, também deteve média geral para CE abaixo da média geral das famílias S₃ *per se*. Outro resultado que deve ser ressaltado é que este testador (P2) está associado a três dos cinco maiores efeitos de CEC, com famílias que apresentaram efeitos negativos de CGC para o caráter, o que reflete mérito apenas para o testador e não para as famílias S₃ envolvidas.

5.5 ESTIMATIVAS DE CORRELAÇÃO ENTRE MÉDIAS DE FAMÍLIAS S₃

A Tabelas 15 e 16 mostram, respectivamente, os resultados das correlações estimadas entre os próprios híbridos *topcrosses* e entre as famílias S₃ e os híbridos *topcrosses* pelo coeficiente de correlação de Spearman (r).

As estimativas de r , entre os híbridos *topcrosses*, verificados na Tabela 15, indicam que houve poucas coincidências entre os testadores em classificar as famílias S_3 , tanto para rendimento de grãos quanto para capacidade de expansão.

As maiores coincidências, em termos de classificação das capacidades combinatórias, foram verificadas para RG entre os híbridos oriundos dos testadores Angela e UENF 14 (0,26) e entre Angela e IAC 125 (0,23). As menores coincidências observadas, também para RG, ocorreram para os híbridos provenientes dos testadores Angela e P2 (-0,004) e entre P2 e UENF 14 (0,007)(Tabela 15).

Tabela 15. Correlações de Spearman entre híbridos *topcrosses* para rendimento de grãos ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) e capacidade de expansão ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$).

	r (Spearman)					
	Rendimento de Grãos			Capacidade de Expansão		
	IAC 125	P ₂	UENF 14	IAC 125	P ₂	UENF 14
Angela	0,23	-0,004	0,26	0,10	0,19	0,05
IAC 125	-	0,17	0,16	-	0,01	0,12
P2		-	0,007		-	-0,03

As baixas estimativas obtidas dos coeficientes de correlação, para rendimento de grãos, observadas na Tabela 15, indicam que a classificação das famílias S_3 tenha variado de acordo com o testador utilizado. O sinal negativo para RG, exibido na correlação entre os híbridos dos testadores Angela e P2, sugere uma possível inversão de ranqueamento para ambos.

Para CE, os testadores Angela e P2 foram os que mais coincidiram (0,19) em classificar as famílias S_3 , e os testadores menos coincidentes foram IAC 125 e P2 (0,01) e P2 com UENF 14 (-0,03), Tabela 15, sugerindo que o sinal negativo obtido entre os testadores P2 e UENF 14 decorre de uma inversão de ranqueamento na classificação dos híbridos derivados de ambos.

Ainda considerando a característica CE, com respaldo nos resultados de correlação exibidos na Tabela 15, pode-se inferir que as correlações de menor magnitude, em relação à característica RG, sugerem menor coincidência classificatória, afirmando, novamente, a possibilidade de ocorrência de determinadas discrepâncias entre os testadores.

Uma observação interessante e já muito citada em diversos trabalhos com milho-pipoca é referente à correlação negativa entre os caracteres RG e CE,

como pode ser verificado na Tabela 15, em que a estimativa de r para os testadores Angela e P2 foi a menor para rendimento de grãos (-0,004) e a maior para capacidade de expansão, para os mesmos testadores (0,19). Guardando as devidas amplitudes, o mesmo se repete para Angela e UENF 14 e para IAC 125 e P2.

De acordo com os resultados, ainda referentes à Tabela 15, pode-se inferir que foi conveniente utilizar diferentes testadores para avaliar as capacidades combinatórias das famílias S_3 e, observando os índices significativos de capacidade específica de combinação (Figura 4), pode-se afirmar que cada testador provavelmente manifestou de forma diferenciada suas características na composição dos híbridos, em função de cada família avaliada. Tal constatação é coerente ao atentar para o fato de os testadores utilizados no estudo terem bases genéticas diferentes e relações distintas com as famílias S_3 avaliadas.

As estimativas de r apresentadas na Tabela 16 revelam que os híbridos derivados do testador IAC foram os que mais coincidiram nas classificações das famílias S_3 *per se* para rendimento de grãos (0,18). No entanto, pode-se constatar que, apesar de ter a maior coincidência, ainda assim as estimativas de r são consideradas baixas para indicar com segurança a existência de coincidência nas classificações em relação às famílias S_3 *per se*. Barreto *et al.* (2012) também obtiveram baixas estimativas de correlação entre híbridos derivados do IAC 125 e 49 famílias S_2 de milho-pipoca.

Tabela 16. Correlações de Spearman entre híbridos *topcrosses* e famílias S_3 para rendimento de grãos ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) e capacidade de expansão ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$).

Híbridos	r (Spearman)	
	Famílias S_3 <i>per se</i>	
	Rendimento de Grãos	Capacidade de Expansão
Angela	0,009	-0,12
IAC 125	0,18	-0,19
P ₂	-0,07	-0,17
UENF 14	0,01	-0,13

Os híbridos obtidos do testador P2 apresentaram a menor correlação (-0,07) em relação à classificação das famílias S_3 *per se* para rendimento de grãos.

A característica capacidade de expansão não apresentou qualquer correlação positiva entre a classificação dos híbridos e as famílias S_3 *per se*.

5.6 ESTIMATIVAS DE HETEROSE NOS HÍBRIDOS *TOPCROSSES*

As Tabelas 17 e 18 apresentam os resultados referentes às estimativas de heterose em relação aos testadores *per se* para rendimento de grãos e capacidade de expansão, respectivamente.

A estimação da heterose relativa recebe este nome, pois é necessário fazer uma aferição relativa a um referencial, neste caso, o testador *per se*. Para cada característica avaliada, foi feito o cálculo da diferença entre a média do híbrido *topcross* e a média do testador correspondente e, em seguida, este desvio foi dividido novamente pela média do testador em questão.

É muito importante ressaltar que caso seja feita a opção por utilizar como referencial de aferição a família *per se*, ao invés do testador *per se*, a interpretação dos resultados, estimativas do percentual de heterose, deve ser feita de maneira atenciosa para evitar que famílias de baixo valor genético chamem a atenção pela grande heterose manifestada em seus *topcrosses*, principalmente quando a característica avaliada é muito afetada pela depressão endogâmica, como, por exemplo, o rendimento de grãos. Neste caso, para evitar cometer equívocos quanto à escolha de um testador, é importante observar o desempenho *per se* da família envolvida no cruzamento.

Analisando as estimativas de heterose do testador UENF 14, pode-se perceber que para rendimento de grãos, Tabela 17, com exceção dos híbridos obtidos com as famílias 2, 19 e 4, com valores respectivos de 35, 20 e 16%, todos os demais híbridos apresentaram valores próximos de zero ou negativos. Tais estimativas já eram esperadas, uma vez que as famílias S_3 em análise foram obtidas da população UENF 14 e, em tese, teriam seus rendimentos médios inferiores ao rendimento médio da população original, em razão da depressão endogâmica apresentada. É válido ressaltar que a população em questão (UENF 14) é uma variedade de polinização aberta e obteve RG médio de $5048,15 \text{ kg.ha}^{-1}$, no ano agrícola de 2013/2014, sendo conduzida de forma adicional aos experimentos avaliados.

Outro testador que apresentou valores reduzidos e até negativos de heterose relativa para RG, foi a variedade Angela, com exceção dos híbridos obtidos com as famílias 4 e 9 (27% para ambas) e 13 (20%), denotando

contribuição na redução do rendimento médio de grãos para testadores de base genética ampla, relacionados ou não com as famílias endogâmicas.

Em contrapartida, os testadores de base genética estreita apresentaram respostas satisfatórias para RG, com estimativas de heterose relativa positivas e, em alguns híbridos, com elevada magnitude. Analisando o testador IAC 125, observou-se uma grande amplitude de percentuais de heterose com híbridos apresentando de -0,24 (família 17) até 1,13 (família 9) (Tabela 17).

Podem ser destacadas, para o testador IAC 125, as famílias S_3 de número 9 (1,13 ou 113%), 20 (0,86) e 33 (0,60) com altos índices de heterose para RG por apresentarem elevados índices de CGC (Tabelas 17 e 10, respectivamente).

A linhagem P2 foi o testador que expressou a melhor complementaridade alélica com as famílias S_3 , resultando em 100% dos híbridos *topcrosses* com valores positivos de heterose relativa. O híbrido com menor estimativa de h (%) foi derivado do cruzamento entre P2 e a família 39 (0,17), e o híbrido com maior heterose, entre os 200 *topcrosses* produzidos, foi entre P2 e a família 49 (1,25). No entanto, cabe lembrar que é importante observar também os valores de CGC dos genitores *per se* envolvidos no cruzamento e, no caso, apenas o testador P2 apresentou estimativa \tilde{G}_i positiva (563,46), já a família 49 expressou um índice negativo de \tilde{G}_i (-143,48), o que, provavelmente, explica a elevada heterose relativa observada no híbrido.

Entre os melhores híbridos obtidos com o testador P2, estão os oriundos da família 41 (1,07), 50 (0,98) e 2 (0,91), pois, além de terem valores elevados de heterose também apresentaram efeitos de \tilde{G}_i positivos, respectivamente, 189, 246 e 255. Além destes híbridos derivados de P2, também se destacaram os obtidos dos cruzamentos com as famílias 9 (69%), 33 (72%), 4 (64%), 20 (45%) e 16 (52%), por expressarem os mais altos valores de CGC (Tabelas 17 e 10).

Considerando as estimativas de heterose média para a característica capacidade de expansão, de maneira geral, todos os testadores apresentaram baixos valores, sendo o testador IAC 125 o que menos contribuiu, em média, para acréscimo na capacidade expansiva dos grãos. O melhor híbrido produzido por este testador foi com a família 21, com 20% de heterose relativa, que foi considerado um bom híbrido por também apresentar efeito positivo de capacidade geral de combinação (0,63) (Tabelas 18 e 10).

Tabela 17 – Estimativas do percentual de heterose (h) em relação aos testadores *per se* e média geral dos híbridos *topcrosses* em cada cruzamento, para rendimento de grãos (RG)(kg.ha⁻¹).

Famílias	Angela		IAC 125		P2		UENF 14		S ₃
	RG	h	RG	h	RG	H	RG	h	RG
1	4802,68	-0,03	4829,63	0,38	5846,00	0,79	4493,86	-0,11	1083,16
2	4897,44	-0,01	4400,00	0,26	6235,66	0,91	6803,70	0,35	1105,99
3	4982,50	0,00	5451,85	0,56	4991,22	0,53	4954,97	-0,02	3336,03
4	6288,89	0,27	4851,85	0,39	5352,80	0,64	5837,04	0,16	1087,27
5	4553,51	-0,08	5000,00	0,43	5207,41	0,60	3416,92	-0,32	1972,26
6	5105,75	0,03	4607,41	0,32	4436,44	0,36	4648,65	-0,08	1193,67
7	5139,21	0,04	2966,67	-0,15	4434,88	0,36	3805,22	-0,25	856,63
8	4986,72	0,00	4618,52	0,32	5537,81	0,70	4832,24	-0,04	914,41
9	6287,87	0,27	7444,44	1,13	5511,11	0,69	4932,24	-0,02	2584,78
10	4339,21	-0,13	4000,00	0,15	5830,41	0,79	4725,85	-0,06	1212,79
11	4504,21	-0,09	5577,78	0,60	5719,29	0,75	4712,71	-0,07	1639,73
12	3704,34	-0,25	4051,85	0,16	4664,51	0,43	3942,34	-0,22	1934,81
13	5965,13	0,20	3770,37	0,08	6012,06	0,84	4373,49	-0,13	1201,89
14	4714,30	-0,05	5374,07	0,54	5464,69	0,67	3799,92	-0,25	1397,17
15	5370,37	0,08	4488,89	0,29	5823,77	0,78	4875,67	-0,03	670,57
16	5758,75	0,16	4511,11	0,29	4963,14	0,52	5238,64	0,04	1824,31
17	5049,68	0,02	2651,85	-0,24	5583,98	0,71	3150,17	-0,38	1322,49
18	4024,78	-0,19	4829,63	0,38	6370,02	0,95	3495,20	-0,31	817,10
19	4950,32	0,00	4662,96	0,34	5331,96	0,63	6039,06	0,20	907,00
20	4724,39	-0,05	6481,48	0,86	4719,89	0,45	5352,94	0,06	1516,09
21	4663,09	-0,06	3340,74	-0,04	4095,09	0,26	5076,77	0,01	1309,49
22	5534,87	0,12	3496,30	0,00	3883,98	0,19	4409,94	-0,13	1830,10
23	5336,01	0,08	4970,37	0,42	5377,78	0,65	5174,58	0,03	1330,50
24	3406,39	-0,31	4033,33	0,16	6589,84	1,02	4976,69	-0,01	1416,30
25	4021,71	-0,19	5081,48	0,46	5208,96	0,60	3760,86	-0,26	1377,17
26	4156,07	-0,16	4377,78	0,25	4284,58	0,31	4058,67	-0,20	1222,49
27	3805,75	-0,23	3122,22	-0,11	4426,53	0,36	3306,82	-0,34	1016,30
28	3296,30	-0,34	3255,56	-0,07	4754,18	0,46	4107,41	-0,19	1159,73
29	2300,64	-0,54	3585,19	0,03	5734,88	0,76	4118,52	-0,18	2655,96
30	5303,70	0,07	4492,59	0,29	6120,85	0,88	5072,98	0,00	576,16
31	5286,84	0,07	5346,30	0,53	5783,81	0,77	4883,51	-0,03	1814,48
32	4690,55	-0,05	4474,07	0,28	4583,03	0,40	4775,59	-0,05	1586,06
33	5325,93	0,07	5574,07	0,60	5608,96	0,72	4628,03	-0,08	2050,84
34	4436,01	-0,11	3970,37	0,14	5168,99	0,58	4591,50	-0,09	1116,90
35	4426,44	-0,11	5274,07	0,51	5418,52	0,66	3407,91	-0,32	938,08
36	4531,29	-0,09	4496,30	0,29	6102,33	0,87	3730,64	-0,26	1316,70
37	4581,48	-0,08	5222,22	0,50	4807,58	0,47	4368,27	-0,13	1531,31
38	4445,59	-0,10	3940,74	0,13	4977,18	0,53	3423,23	-0,32	1324,51
39	4356,70	-0,12	4137,04	0,19	3829,80	0,17	4093,10	-0,19	1060,13
40	4924,59	-0,01	3729,63	0,07	5500,78	0,69	4362,96	-0,14	2012,79
41	5177,27	0,04	4855,56	0,39	6768,82	1,07	3747,06	-0,26	1720,61
42	4544,32	-0,08	4840,74	0,39	5317,92	0,63	3159,77	-0,37	1627,61
43	4427,07	-0,11	3540,74	0,01	6580,71	1,02	3385,69	-0,33	1083,97
44	3288,38	-0,34	4225,93	0,21	5504,05	0,69	5238,64	0,04	1364,24
45	5283,53	0,06	5088,89	0,46	4562,19	0,40	2988,30	-0,41	701,68
46	4812,13	-0,03	4625,93	0,33	4283,21	0,31	5251,93	0,04	1275,96
47	3955,43	-0,20	4429,63	0,27	5061,01	0,55	5296,88	0,05	1414,41
48	3797,32	-0,23	3951,85	0,13	4401,55	0,35	3448,15	-0,32	1235,22
49	4017,50	-0,19	4385,19	0,26	7349,70	1,25	4183,59	-0,17	708,89
50	5926,95	0,19	4655,56	0,33	6454,00	0,98	4453,96	-0,12	974,34
Média	4684,2	-0,06	4501,81	0,29	5331,56	0,63	4418,26	-0,12	1386,62
Média <i>per se</i>	4962,96		3488,89		3262,96		5048,15		

Tabela 18 - Estimativa do percentual de heterose (h) em relação aos testadores e média dos híbridos *topcrosses* em cada cruzamento, para capacidade de expansão (CE) (mL.g^{-1}).

Famílias	Angela		IAC 125		P2		UENF 14		S ₃
	CE	h	CE	h	CE	h	CE	h	CE
1	29,50	-0,02	31,00	-0,10	31,92	0,48	33,33	0,18	16,58
2	33,83	0,12	40,67	0,18	34,17	0,58	28,75	0,02	21,50
3	28,50	-0,06	31,58	-0,08	20,92	-0,03	27,83	-0,01	28,67
4	28,25	-0,07	33,17	-0,04	26,08	0,21	33,83	0,20	23,50
5	32,67	0,08	31,50	-0,09	26,50	0,23	29,08	0,03	30,83
6	25,83	-0,15	33,33	-0,03	24,50	0,14	28,42	0,01	29,08
7	36,25	0,20	30,25	-0,12	30,58	0,42	30,00	0,07	26,08
8	27,75	-0,08	33,00	-0,04	29,25	0,36	32,25	0,14	27,08
9	32,42	0,07	35,00	0,01	27,42	0,27	28,08	0,00	29,33
10	29,50	-0,02	32,17	-0,07	24,75	0,15	26,50	-0,06	19,00
11	31,92	0,06	31,33	-0,09	23,25	0,08	33,00	0,17	32,17
12	29,33	-0,03	27,33	-0,21	27,75	0,29	26,25	-0,07	31,67
13	34,58	0,14	32,42	-0,06	24,92	0,15	28,92	0,03	29,33
14	33,42	0,10	34,58	0,00	25,92	0,20	32,58	0,16	23,17
15	30,00	-0,01	32,92	-0,05	25,42	0,18	32,42	0,15	27,67
16	34,25	0,13	30,00	-0,13	27,33	0,27	31,00	0,10	28,50
17	27,58	-0,09	31,42	-0,09	17,25	-0,20	29,17	0,04	25,00
18	35,00	0,16	31,92	-0,07	29,33	0,36	28,75	0,02	35,25
19	35,42	0,17	28,17	-0,18	22,33	0,03	29,50	0,05	28,67
20	30,50	0,01	32,83	-0,05	23,50	0,09	32,92	0,17	19,92
21	33,75	0,12	41,33	0,20	27,17	0,26	18,92	-0,33	32,75
22	28,67	-0,05	26,50	-0,23	25,08	0,16	32,33	0,15	25,08
23	33,33	0,10	36,67	0,06	28,08	0,30	32,33	0,15	30,42
24	29,92	-0,01	33,33	-0,03	21,92	0,02	29,83	0,06	30,75
25	30,92	0,02	34,58	0,00	22,92	0,06	34,58	0,23	30,25
26	33,67	0,11	30,08	-0,13	24,58	0,14	30,75	0,09	24,83
27	29,92	-0,01	31,25	-0,09	27,58	0,28	32,83	0,17	25,50
28	26,33	-0,13	29,75	-0,14	26,50	0,23	28,33	0,01	30,33
29	29,17	-0,04	31,00	-0,10	23,08	0,07	28,83	0,02	28,92
30	33,08	0,09	32,42	-0,06	30,50	0,41	27,67	-0,02	11,67
31	35,83	0,18	32,83	-0,05	24,92	0,15	32,33	0,15	22,92
32	31,67	0,05	25,25	-0,27	23,50	0,09	27,17	-0,04	33,17
33	33,92	0,12	34,50	0,00	26,92	0,25	24,08	-0,14	24,33
34	34,00	0,12	33,33	-0,03	23,42	0,08	32,00	0,14	21,83
35	32,00	0,06	34,50	0,00	24,17	0,12	30,67	0,09	28,83
36	27,25	-0,10	32,67	-0,05	26,25	0,22	24,42	-0,13	30,25
37	25,25	-0,17	33,42	-0,03	24,00	0,11	32,58	0,16	21,42
38	27,67	-0,09	29,33	-0,15	20,83	-0,03	28,25	0,00	23,08
39	36,67	0,21	35,00	0,01	30,42	0,41	30,92	0,10	15,50
40	30,17	0,00	33,33	-0,03	27,25	0,26	34,83	0,24	25,17
41	28,50	-0,06	34,33	0,00	22,92	0,06	27,75	-0,01	23,67
42	30,17	0,00	33,17	-0,04	25,58	0,19	29,17	0,04	34,17
43	32,33	0,07	32,42	-0,06	24,25	0,12	27,33	-0,03	29,42
44	37,33	0,23	35,42	0,03	23,50	0,09	30,33	0,08	25,17
45	32,00	0,06	40,00	0,16	28,25	0,31	31,42	0,12	16,17
46	32,08	0,06	34,58	0,00	29,00	0,34	22,25	-0,21	20,00
47	32,92	0,09	34,17	-0,01	21,42	-0,01	33,58	0,19	30,25
48	34,67	0,15	36,25	0,05	27,00	0,25	31,92	0,13	21,67
49	29,83	-0,01	34,50	0,00	27,58	0,28	31,17	0,11	28,33
50	33,33	0,10	30,58	-0,11	22,17	0,03	31,33	0,11	19,17
Média	31,46	0,04	32,82	-0,05	25,68	0,19	29,85	0,06	25,96
Média <i>per se</i>	30,25		34,50		21,58		28,17		

O testador Angela foi o segundo genitor que menos contribuiu com valores de heterose, com média geral de 4%. O melhor híbrido produzido por este testador foi com a família 7, com 20% de heterose e efeito significativo de CGC (1,27).

Os híbridos derivados do testador UENF 14, de maneira geral, também pouco acrescentaram à média do caráter. Uma razão que pode explicar as baixas estimativas de heterose para este testador se refere ao fato de a média *per se* da variedade UENF 14 estar muito próxima da média dos híbridos, respectivamente, 28,17 e 29,85. Outro fato que ajudou a reduzir os percentuais de heterose foi que a média geral das famílias S_3 ficou próxima dos valores anteriormente citados (25,96), o que, provavelmente, resultou em híbridos com menor vigor que o testador *per se*.

Assim como para RG, o testador P2 também foi o que apresentou maiores percentuais de estimativas de heterose relativa para capacidade de expansão, com híbridos chegando a 58% (família 2). No entanto, os híbridos que se destacaram para este testador não apresentaram altos índices de CGC, portanto, não merecem atenção. Seguindo a concepção de conciliar heterose relativa com efeitos de capacidade geral de combinação, as famílias 18, 23, e 42 obtiveram percentuais respectivos de 0,36, 0,30 e 0,19, com efeitos de CGC de 3,3, 2,77 e 2,16 (Tabelas 18 e 10), o que mais uma vez atesta o potencial destas famílias em expressar seus efeitos de aditividade para o caráter em questão.

Comparando a produtividade média dos híbridos *topcrosses* em relação às famílias S_3 *per se*, pode-se verificar que o rendimento de grãos obtido para as 50 famílias S_3 , em média, está em torno dos 1.350 kg.ha⁻¹ (Tabela 7), com algumas famílias chegando no máximo a 2.500 kg.ha⁻¹ (Figura 1) e que todos os 200 híbridos *topcrosses* produzidos apresentaram rendimento médio em torno de 4.700 kg.ha⁻¹ (Tabela 7), com alguns chegando a 7.500 kg.ha⁻¹ (Figura 4), o que, em média, corresponde a mais de três vezes o rendimento das famílias S_3 . Estes dados revelam uma expressiva heterose manifestada pelos híbridos *topcrosses*, indicando que a composição de híbridos de milho-pipoca com base em famílias endogâmicas provenientes da variedade UENF 14 é uma opção rentável em termos de produtividade média de grãos.

Uma consideração interessante, após a análise da heterose relativa, em comparação com a capacidade combinatória, é que, por trás da mera análise dos

percentuais estimados de heterose relativa, estão presentes dois fatores preponderante em meio ao contexto, a herança dos caracteres e a base genética dos testadores.

É importante ponderar os níveis de heterose com o tipo de característica, uma vez que testadores que conferem elevada estimativa de heterose para rendimento de grãos de certa forma tendem a ser indesejáveis pela possibilidade de estarem transmitindo aos híbridos genes dominantes que irão atuar negativamente, mascarando o mérito das famílias e reduzindo a variabilidade genética. Em contrapartida, a predominância da ação aditiva no controle genético do caráter capacidade de expansão atenua o efeito da natureza do testador no que diz respeito à sua base genética. Portanto, fica claro que uma escolha acertada do testador deve recair sobre a frequência de genes favoráveis, de efeito aditivo (não dominante), inerentes à capacidade geral de combinação.

A obtenção das estimativas de heterose existente entre os híbridos *topcrosses* e os parentais envolvidos explicita, teoricamente, o quanto os testadores e as famílias *per se* se complementam, ou seja, pode-se verificar o padrão de complementaridade alélica entre estes genótipos. Em termos práticos, de posse das estimativas de heterose, pode-se inferir que uma complementaridade satisfatória, em parte, permite verificar qual a perspectiva de êxito no desenvolvimento de futuros híbridos procedentes do cruzamento entre linhagens hipotéticas extraíveis dos testadores e linhagens oriundas das famílias S_3 avaliadas, em questão. Baseando-se nesta lógica, as maiores estimativas de heterose referentes a determinadas combinações entre famílias endogâmicas e um testador em particular corresponderiam à geração de melhores híbridos, obtendo linhagens deste testador.

No entanto, nem sempre as populações que se destacam na avaliação *per se* são as que conseguem bons desempenhos quando em combinações híbridas (Hallauer, 1990)

5.7 ESCOLHA DO TESTADOR

A escolha do melhor testador está vinculada à sua capacidade de produzir bons resultados com as famílias de elevado valor genético. Tal atribuição pode estar relacionada à capacidade de combinação das famílias, em que a

capacidade geral de combinação assumiria o maior peso na ordem de escolha, uma vez que esta estimativa permite inferir sobre os efeitos aditivos existentes entre famílias e testadores utilizados.

No intuito de facilitar a visualização dos dados para escolha do melhor testador para as 50 famílias S_3 avaliadas, foram montadas as Tabelas 19 e 20, respectivamente, para rendimento de grãos e capacidade de expansão.

Na Tabela 19, estão listadas as nove famílias S_3 de melhor rendimento de grãos para cada testador avaliado, em comparação com as sete famílias que obtiveram os melhores índices de capacidade geral de combinação, com a finalidade de elucidar qual testador promoveu os melhores híbridos com as famílias de melhores índices de CGC.

Entre os testadores utilizados, a linhagem P2 apresentou apenas um híbrido, de elevado rendimento de grãos, combinando com uma das sete famílias S_3 de maiores índices de capacidade geral de combinação, a família 2 (Tabela 19).

O testador Angela foi o genitor que mais classificou, concomitantemente, híbridos de alto rendimento com famílias S_3 de elevado índice de capacidade geral de combinação. Das sete famílias S_3 com maiores índices de CGC, cinco que compuseram os híbridos *topcrosses* de maiores rendimentos, entre os 50 produzidos com este testador, em ordem decrescente de produtividade, foram as famílias 4, 9, 16, 23 e 33.

Dos nove híbridos *topcrosses* provenientes do IAC 125 que apresentaram melhores médias de rendimento de grãos, três foram formados com famílias que obtiveram elevados índices de CGC, as famílias 9, 20 e 33.

O testador UENF 14 também figurou três híbridos *topcrosses* com alta produtividade média de grãos, combinados com famílias de elevado efeito de CGC, as famílias 2, 4 e 20.

Assim, pode-se afirmar que o testador Angela discriminou mais coerentemente as famílias S_3 , de acordo com seus méritos genéticos, para RG.

Tabela 19 – Ordem classificatória das famílias S₃ com relação aos respectivos valores de capacidade geral de combinação (CGC) e os nove híbridos *topcrosses* de maiores índices com os testadores, para rendimento de grãos.

Famílias S ₃	CGC (S ₃)	Híbridos <i>topcrosses</i>			
		Angela	IAC 125	P2	UENF 14
2	7°			7°	1°
4	3°	1°			3°
5			5°		
9	1°	2°	1°		
11			3°		
13		3°			
14			6°		
15		7°			
16	5°	5°			7°
18				6°	
19					2°
20	4°		2°		4°
22		6°			
23	6°	8°			9°
24				3°	
30				8°	
31			7°		
33	2°	9°	4°		
35			8°		
36				9°	
37			9°		
41				2°	
43				4°	
44					8°
46					6°
47					5°
49				1°	
50		4°		5°	

A Tabela 20 elenca as sete famílias S₃ que expressaram os melhores resultados entre os nove melhores híbridos *topcrosses* para o caráter capacidade de expansão.

Entre os nove híbridos de melhor índice de capacidade de expansão obtidos com o testador Angela, apenas um (sexto mais expansivo) foi formado por uma família de elevado índice de capacidade geral de combinação, a melhor família para tal efeito, a família 18.

Tabela 20 – Ordem classificatória das famílias S₃ com relação aos respectivos valores de capacidade geral de combinação (CGC) e os nove híbridos *topcrosses* de maiores índices com os testadores, capacidade de expansão.

Famílias S ₃	CGC (S ₃)	Híbridos <i>topcrosses</i>			
		Angela	IAC 125	P2	UENF 14
1				2°	5°
2			2°	1°	
4					3°
7		3°		3°	
8				7°	
9	7°		7°		
11	4°				6°
13		8°			
14					9°
16		9°			
18	1°	6°		6°	
19		5°			
20					7°
21			1°		
23	2°		4°		
25	5°		9°		2°
27					8°
30				4°	
31		4°			
39		2°	8°	5°	
40					1°
42	3°				
44		1°	6°		
45			3°	9°	
46				8°	
47	6°				4°
48		7°	5°		

Para o testador IAC 125, três híbridos (quarto, sétimo e nono) de maior capacidade de expansão foram compostos por famílias que apresentaram índices elevados de CGC, as famílias 23, 25 e 9.

O testador P2, assim como o testador Angela, classificou apenas um híbrido com elevada capacidade de expansão (sexto melhor híbrido) com a família 18, que foi a de melhor índice de CGC para o caráter.

Dos híbridos provenientes do testador UENF 14 que apresentaram as maiores médias de CE, três foram formados por famílias com efeitos de CGC significativamente altos, as famílias 11, 25 e 47 (Tabela 20).

Com base nos resultados contidos na Tabela 20, os testadores IAC 125 e UENF 14 se destacaram por apresentarem três híbridos *topcrosses*, classificados com altos índices de CE, dentro de cada grupo (testador), obtidos do cruzamento com famílias S₃, que detiveram elevados índices de CGC. No entanto, os híbridos provenientes do testador IAC 125 promoveram média geral mais elevada para o caráter CE, em relação aos híbridos produzidos pelos cruzamentos com o testador UENF 14. Portanto, é mais coerente que a escolha do melhor testador, para a característica capacidade de expansão, recaia sobre o IAC 125.

5.8 ESTIMATIVA DA DEPRESSÃO ENDOGÂMICA

A Tabela 22 mostra as estimativas do percentual de depressão endogâmica (DP) das famílias S₃ em relação à população original UENF 14, para as características dias para florescimento (dias), altura de planta (cm), altura de espiga (cm), rendimento de grãos (kg.ha⁻¹) e capacidade de expansão (mL.g⁻¹).

Entre as cinco características avaliadas, dias para florescimento não sofreu depressão endogâmica, ao contrário, expressou índice negativo (-0,26%), sugerindo que à medida que sucessivas autofecundações são processadas na variedade UENF 14, há tendência de aumentar o número de dias para o florescimento.

O segundo caráter menos afetado pelo acúmulo de alelos recessivos decorrentes do processo de depressão foi CE, com apenas 6,24%. Uma possível explicação para os baixos percentuais de depressão endogâmica para CE consiste no fato de haver uma menor complexidade genética do caráter e pela predominância de efeitos gênicos aditivos. Vários trabalhos afirmam a predominância destes efeitos no controle gênico da CE (Dofing et al., 1991; Pacheco et al., 1998; Larish e Brewbaker, 1999; Pereira e Amaral Júnior, 2001).

De acordo com as estimativas do percentual de depressão endogâmica (DP), as alturas de espiga e de planta sofreram diminuição, respectivamente, de 9,34 e 12,52%. Simon et al. (2004), ao avaliarem a influência dos efeitos da DP em oito populações de milho-pipoca, entre compostos, híbrido comercial, população melhorada e não melhoradas, também obtiveram baixas estimativas para altura de planta e de espiga. Lima et al., (1984) explicam as menores estimativas de DP destas características, em relação ao rendimento de grãos,

pelo ponto de vista dos efeitos genéticos, segundo os quais os efeitos gênicos de dominância para o caráter altura são menos importantes. Portanto, em relação à altura de planta e de espiga, há maior contribuição dos locos em homozigose (efeito aditivo) do que dos locos em heterozigose, em razão da menor complexidade genética da característica. Hallauer et al. (2010) também relataram resultados semelhantes em populações de milho normal.

A característica mais afetada pelo processo endogâmico foi rendimento de grãos, com mais de 70%, reduzido em média mais de 3500 kg em relação à população original, o que realmente chama muito atenção e, em parte, explica a produção de híbridos *topcrosses* com elevados rendimentos. Os altos valores de DP podem ser explicados pela maior ação dos efeitos gênicos de dominância, ou seja, houve contribuição dos locos em heterozigose (desvios devidos à dominância) em relação às médias de rendimento de grãos da população base (UENF 14), o que é esperado de uma população em que a seleção tem sido maior para tal característica. A elevada magnitude desta estimativa implica, indiretamente, existência de heterogeneidade genética na população original.

Tabela 22 – Estimativa do percentual de depressão endogâmica (DP) das famílias S₃ em relação à população original UENF 14.

População	Características avaliadas				
	DF	AP	AE	RG	CE
UENF 14	62	188,75	103,75	5.048,15	28,17
Famílias S ₃	62,16	165,125	94,058	1.484,75	26,41
Depressão	-0,0026	0,1252	0,0934	0,706	0,0624

DF – dias para florescimento; AP – altura de planta; AE – altura de espiga; RG – rendimento de grãos e CE – capacidade de expansão.

5.9 ANÁLISE DOS DADOS MOLECULARES

5.9.1 DIVERGÊNCIA GENÉTICA FUNCIONAL

A Tabela 23 traz as informações referentes ao número de alelos (Na), número de alelos efetivos (Ne), conteúdo de informação polimórfica (PIC) e função putativa para cada um dos 25 *locos* SSR-EST avaliados.

Para o estudo da divergência genética entre as 43 famílias S₃ de milho-pipoca, obtidas da variedade UENF 14, foram utilizados 25 marcadores gênicos

(SSR-EST) polimórficos. Para os 25 locos avaliados, foram identificados 72 alelos, com auxílio do *Fragment Analyser (Advanced Analytical)*, tendo o número de alelos por loco variado de dois a cinco, com média de 2,88.

Tabela 23 – *Primers* SSR-ESTs e respectivo número de alelos (Na), número de alelos efetivos (Ne), conteúdo de informação polimórfica (PIC) e função putativa.

Loco	Na	Ne	PIC	Função putativa
umc2174	3	2,17	0,43	* <i>NADPH-dependente redutase</i>
umc1153	5	2,92	0,58	*Não caracterizada
umc1680	4	3,75	0,68	*Não caracterizada
umc1071	3	1,40	0,25	* <i>Glutathione S-transferase 12</i>
umc1780	3	2,08	0,40	*Não caracterizada
umc1760	3	2,55	0,53	*Não caracterizada
umc1327	3	2,60	0,54	* <i>U6 snRNA-associated Sm-like protein LSm4</i>
umc2165	3	1,97	0,41	* <i>Putative leucine-rich repeat transm, prot, K,</i>
umc1393	3	1,86	0,41	*Não caracterizada
umc1450	2	1,66	0,32	* <i>Induced Stolen tip protein TUB8</i>
umc1221	2	1,54	0,29	*Não caracterizada
umc1336	2	1,93	0,36	* <i>Methionine adenosyltransferase isoform 1</i>
umc1415	3	2,10	0,42	*Não caracterizada
umc1506	2	1,72	0,33	*Não caracterizada
umc1594	2	1,40	0,24	* <i>Non-specific lipid-transfer protein 3</i>
umc1656	2	1,28	0,19	*Não encontrada
umc2059	3	2,08	0,45	*Não encontrada
umc2152	3	2,53	0,53	*Não caracterizada
umc2246	2	1,08	0,07	*Não caracterizada
umc2292	5	2,57	0,54	*Não caracterizada
umc1448	3	2,26	0,46	*Não caracterizada
gnl4	2	1,94	0,36	*Não encontrada
y1	5	2,68	0,55	* <i>Chloroplast phytoene synthase</i>
umc1867	2	1,86	0,35	*Não caracterizada
umc1380	2	1,99	0,37	*Não caracterizada
Média	2,88	2,08	0,40	
Total	72			

**Zea mays*

O conteúdo de informação polimórfica (PIC) quantifica o polimorfismo genético presente em cada loco da população em estudo e indica o nível de informação nos locos e seu potencial para detectar diferenças entre genótipos, com base em suas relações genéticas (Rajendran et al., 2014).

Segundo Botstein et al. (1980), um loco pode ser classificado como altamente informativo ($PIC > 0,5$), moderadamente informativo ($0,5 > PIC > 0,25$) e não informativo ($PIC < 0,25$).

A Tabela 23 mostra que, dos 25 locos microssatélites, sete (28%) podem ser considerados altamente polimórficos, 15 (60%) foram moderadamente polimórficos e três (12%) não apresentaram conteúdo informativo. O valor máximo de PIC observado foi de 0,68 para o loco umc1680 e o menor valor foi atribuído ao loco umc2246 (0,07). A média do PIC para todos os locos foi de 0,40, indicando que o nível de polimorfismo observado foi tido como moderado. Zhang e colaboradores (2014) afirmam que diversos trabalhos de diversidade envolvendo marcadores SSR-ESTs apresentam baixo a médio nível de polimorfismo, o que, de certa forma, torna aceitáveis os resultados obtidos no presente trabalho. A causa desse baixo índice polimórfico tem sido atribuída à seleção praticada contra as possíveis variações em regiões conservadas dos marcadores SSR-ESTs (Scott et al., 2000).

Valores absolutos de PIC podem indicar o poder discriminatório de locos microssatélites, uma vez que estão diretamente relacionados à variabilidade da região para os genótipos analisados. Porém, Warburton *et al.* (2002) relataram que um maior poder discriminatório nem sempre está relacionado a microssatélites com valores superiores de PIC e que a composição da população é um dos fatores que influenciam o poder informativo de um marcador.

Dos sete locos apresentados na Tabela 23, tidos como altamente polimórficos, dois apresentam uma função putativa dentro da espécie *Zea mays*, um c1327 (0,54) e y1 (0,55), respectivamente, *U6 snRNA-associated Sm-like protein LSm4* e *Chloroplast phytoene synthase*.

Com o objetivo de quantificar a diversidade genética dentro de populações, algumas medidas descritivas como número de alelos, índice de Shannon (I) e heterozigosidade observada são comumente utilizadas e tornam possível promover inferências sobre a estrutura destas populações.

A Tabela 24 apresenta os parâmetros de diversidade genética, índice de Shannon (I), heterozigosidade observada (Ho) e esperada (HE) e o coeficiente de endogamia (F) para os quatro testadores e as 43 famílias parcialmente endogâmicas S₃.

De acordo com Amaral et al. (2013), o índice de Shannon, também conhecido como índice de diversidade Shannon-Wiener, o grau de diversidade genética de um determinado genótipo aumenta à medida que seu índice se aproxima da unidade.

Pode-se verificar na Tabela 24 que, com base nas estimativas do índice I, os genótipos analisados apresentaram um elevado grau de diversidade genética, com uma variação de 0,99 (Angela) a 1,30 (família 23), com média geral de 1,12. Estes resultados atestam que há uma grande variabilidade genética, principalmente nas famílias S_3 em estudo e, conseqüentemente, na variedade UENF 14, o que amplia os horizontes a nível de potencial exploratório desta população e infere uma possibilidade real de ganhos genéticos significativos com a composição de futuros híbridos entre as famílias S_3 com linhagens obtidas de testadores, ora avaliados.

Galvão (2014) avaliou a diversidade genética dentro e entre populações de milho comum (Cimmyt e Piranão) e obteve estimadores dos índices de Shannon acima de 1, inclusive com média de 1,04 para a população Piranão.

Para todos os locos analisados, a heterozigosidade média observada (H_o) foi menor que a heterozigosidade esperada (H_e). A H_o variou entre 0,20 (família 25) e 0,56 (IAC 125). Os valores observados para H_e foram elevados, variando de 0,58 (família 47) a 0,70 (famílias 23, 37 e 45), com média geral de 0,65 (Tabela 24).

Silva et al. (2009) utilizaram 30 marcadores SSR para avaliar a diversidade e a estrutura genética de 31 populações de milho-pipoca do banco de germoplasma da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e verificaram que a heterozigosidade média observada variou entre 0,071 e 0,3, sendo o genótipo BOZM 260 (Cimmyt) o que apresentou maior proporção de plantas heterozigotas observadas (0,3).

Na Figura 5 está disponível a representação gráfica, tomada como exemplo ilustrativo, do loco *umc1071* em um genótipo heterozigoto, podendo visualizadas as três possíveis formas alélicas (AA, Aa e aa).

Tabela 24 – Parâmetros de diversidade genética dos testadores e das famílias S₃ com base nos 25 locos SSR-ESTs analisados.

Genótipos	I	Ho	He	F
Angela	0,99	0,40	0,61	0,35
IAC 125	1,03	0,56	0,59	0,06
P2	1,05	0,46	0,65	0,30
UENF14	1,18	0,44	0,67	0,35
1	1,13	0,29	0,66	0,57
4	1,12	0,38	0,65	0,43
6	1,11	0,29	0,65	0,56
9	1,05	0,28	0,60	0,54
10	1,10	0,33	0,64	0,49
11	1,15	0,28	0,65	0,58
12	1,15	0,28	0,65	0,58
13	1,18	0,24	0,68	0,65
14	1,15	0,32	0,68	0,53
15	1,02	0,24	0,60	0,61
17	1,20	0,28	0,69	0,60
18	1,06	0,28	0,62	0,55
19	1,23	0,28	0,69	0,60
20	1,12	0,24	0,62	0,62
21	1,03	0,28	0,61	0,55
22	1,14	0,32	0,67	0,53
23	1,30	0,33	0,70	0,53
24	1,13	0,26	0,66	0,61
25	1,04	0,20	0,63	0,69
26	1,15	0,24	0,68	0,65
27	1,13	0,29	0,66	0,56
28	1,10	0,42	0,63	0,35
29	1,17	0,32	0,69	0,55
30	1,05	0,32	0,65	0,52
32	1,14	0,28	0,67	0,59
33	1,06	0,36	0,62	0,42
34	1,08	0,24	0,63	0,63
35	1,16	0,28	0,66	0,58
36	1,14	0,33	0,67	0,51
37	1,24	0,24	0,70	0,66
38	1,15	0,36	0,68	0,48
39	1,17	0,28	0,66	0,58
40	1,05	0,29	0,64	0,55
41	1,10	0,52	0,65	0,20
42	1,14	0,28	0,67	0,59
43	1,05	0,44	0,61	0,28
44	1,13	0,40	0,66	0,41
45	1,24	0,36	0,70	0,49
46	1,07	0,48	0,63	0,25
47	1,03	0,29	0,58	0,51
48	1,20	0,28	0,67	0,59
49	1,06	0,28	0,62	0,55
50	1,14	0,36	0,66	0,46
Média Geral	1,12	0,32	0,65	0,51

I – índice de Shannon; Ho e He – heterozigiosidade observada e esperada; F – coeficiente de endogamia.

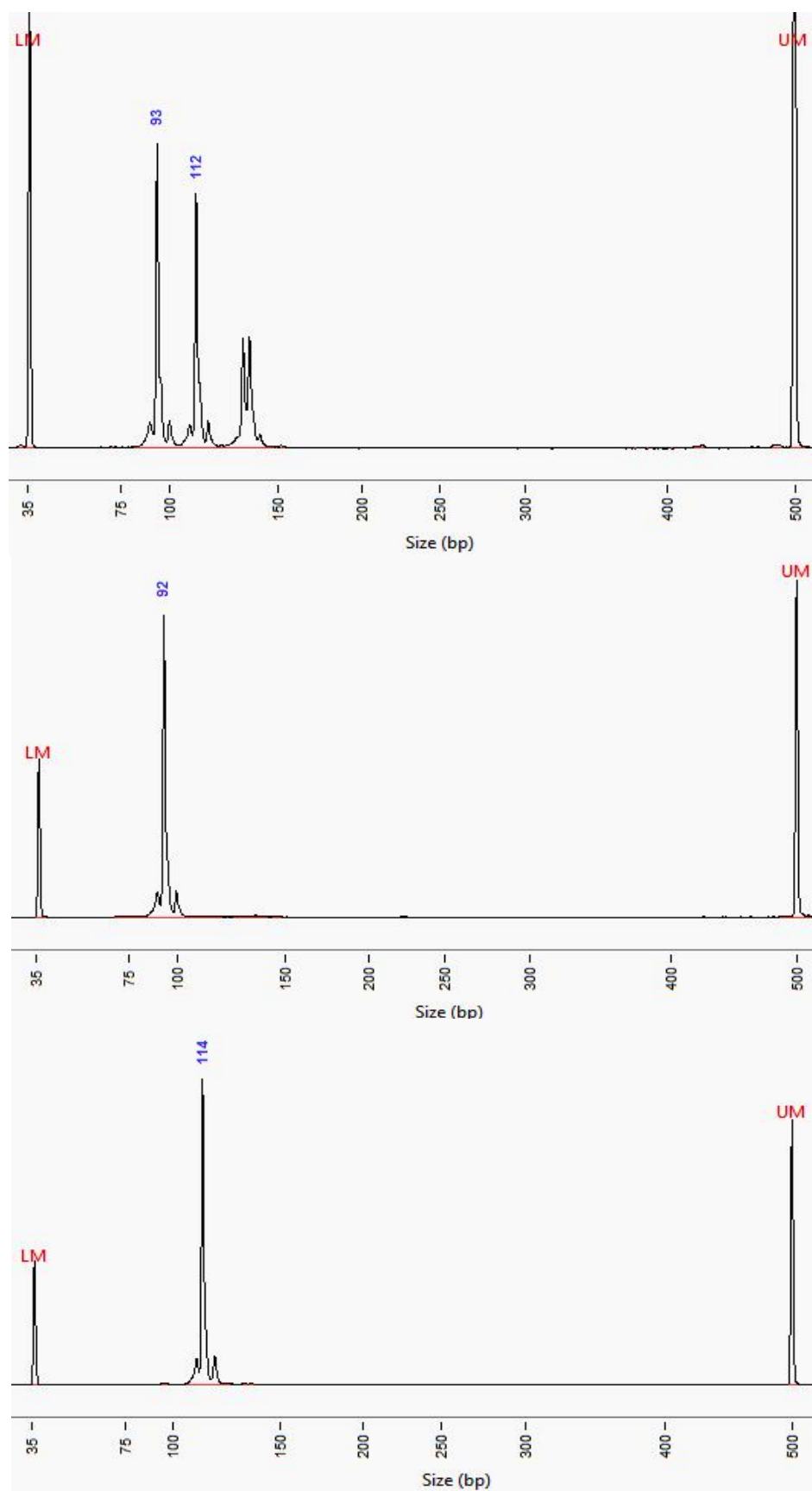


Figura 5 – Representação gráfica do loco *umc1071* em um genótipo heterozigoto e suas três formas alélicas (alelo menor: 92-93bp e alelo maior: 112-114bp).

A Figura 6 mostra o gel do mesmo loco *umc1071* para ilustrar um dos padrões de bandas da população em estudo (quatro testadores e 43 famílias S_3).

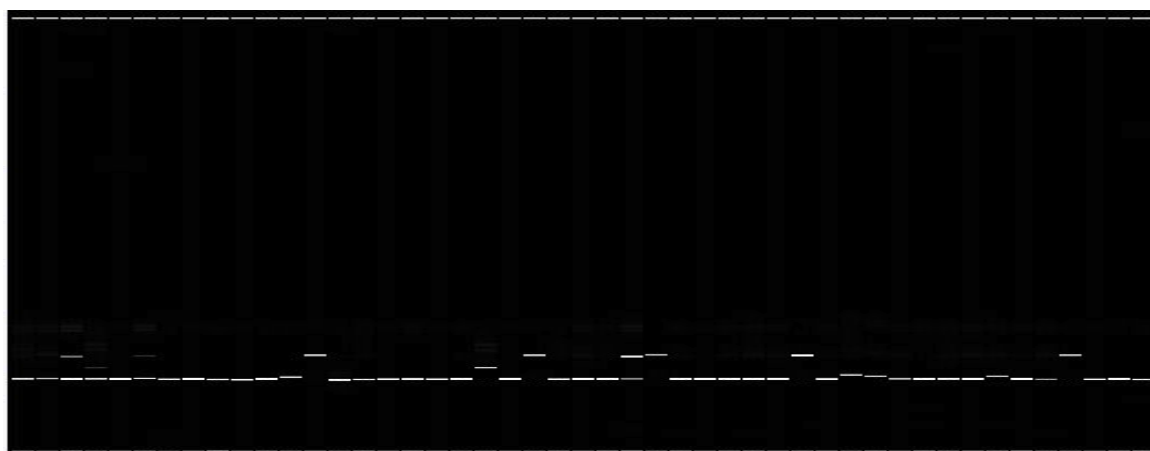


Figura 6 – Gel virtual gerado pelo *Fragment Analyzer*, do loco *umc1071* na população em estudo - quatro testadores (Angela, IAC 125, UENF 14 e P2) e 43 famílias S_3 .

Apesar de o milho-pipoca pertencer à mesma espécie que o milho comum, estudos comparativos a respeito do grau de diversidade genética nos locos SSR entre ambos apontam para um menor número de alelos por locos e também menores valores de heterozigosidade média do milho-pipoca em relação ao milho comum (Liu *et al.*, 2005). Uma proposta que tenta explicar por que o milho-pipoca apresenta diversidade genética menor do que a do milho comum recai sobre o provável centro de origem do milho pipoca estar estabelecido como sendo localizado na América Central e do Sul (Erwin, 1949; Brunson, 1955).

A análise do coeficiente de endogamia (F) verificado entre os testadores e famílias S_3 revelou valores variando de 0,06 (IAC 125) a 0,69 (família 25), com média geral de 0,51 (Tabela 24).

A estimativa de F é considerada, em estudos de genética de populações, um parâmetro dos mais importantes, pois estima o balanço entre homozigotos e heterozigotos, sendo que os valores médios obtidos estão relacionados com a riqueza alélica observada nas populações (Galvão *et al.*, 2014).

Por uma análise comparativa entre os valores de heterozigosidade observados (H_o) e do coeficiente de endogâmica (F) para testadores e famílias S_3 , verifica-se que eles apresentaram, em média, respectivamente, valores de 0,47 e 0,31 para H_o e 0,27 e 0,53 para F . O valor mais baixo de H_o encontrado

para as famílias S_3 (0,31) é reflexo da maior fixação de alelos, indicado pelo maior coeficiente de endogâmica (0,53).

Em programas de melhoramento que visam ao desenvolvimento de linhagens, a análise do coeficiente de endogamia (F) permite inferir informações importantes sobre o nível de homozigose dos genótipos.

A Figura 7 apresenta o dendrograma obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA.

O dendrograma foi obtido da matriz de distâncias genéticas dos quatro testadores e das 43 famílias S_3 . Com base na média geral das distâncias observadas, foi determinado o ponto de corte de 0,20.

Analisando o dendrograma, é possível verificar a formação de um grande grupo com 22 genótipos (21 famílias e o testador Angela), um outro grupo com 5 famílias, três grupos com quatro famílias (os testadores UENF 14 e IAC 125 agruparam-se isoladamente dentro de dois destes grupos) e um grupo menor com apenas duas famílias. Cinco famílias e o testador P2 não se agruparam com nenhum outro genótipo.

De acordo com o agrupamento feito, pode-se inferir que a família 24 e o testador P2 apresentam menor similaridade genética em relação aos demais e que a realização de cruzamentos entre estes genótipos pode ser uma alternativa promissora para a potencialização da heterozigose, supondo uma estratégia voltada à seleção e exploração da heterose.

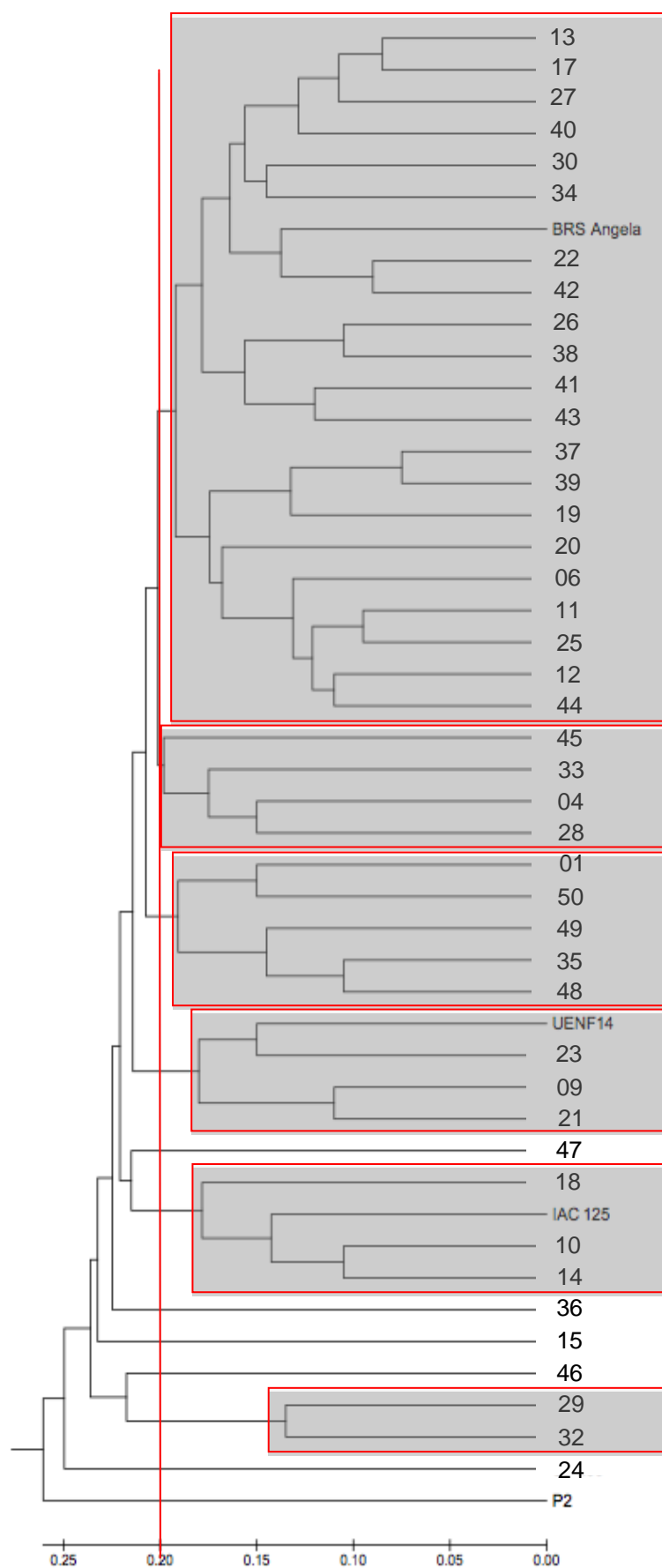


Figura 7 – Dendrograma obtido pelo método hierárquico UPGMA dos quatro testadores e das 43 famílias S_3 e ponto de corte determinado com base na média geral das distâncias (0,20).

5.9.2 CORRELAÇÃO ENTRE CAPACIDADE COMBINATÓRIA E HETEROSE COM DIVERGÊNCIA GENÉTICA

A Tabela 25 apresenta as estimativas de correlação entre as divergências genéticas obtidas por marcadores SSR-ESTs e a capacidade específica de combinação (\tilde{S}_{ij}) e heterose relativa (%) dos híbridos *topcrosses* formados.

Comparando a correlação entre as distâncias genéticas obtidas com a capacidade específica de combinação, pode-se verificar que apenas a característica rendimento de grãos apresentou estimativa positiva, porém, baixa, para os híbridos do testador IAC 125 (0,31). As demais correlações foram não significativas e/ou negativas, considerando as características RG e CE.

Quando são obtidos valores baixos ou negativos para as correlações entre divergência genética obtidas por marcadores moleculares e capacidade específica de combinação, pode-se inferir que existe indicativo para evitar cruzamentos entre linhagens com distâncias moleculares pequenas entre elas (Paterniani et al., 2008)

Tabela 25. Estimativas dos coeficientes de correlação de Spearman (r) entre divergência genética e capacidade específica de combinação (\tilde{S}_{ij}) e heterose relativa para rendimento de grãos ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) e capacidade de expansão ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$).

Híbridos	r (Spearman)	
	Famílias S ₃ – Capacidade Específica de Combinação (\tilde{S}_{ij})	
	Rendimento de Grãos	Capacidade de Expansão
Angela	-0,15	0,07
IAC 125	0,31	0,05
P ₂	-0,12	0,04
UENF 14	0,03	-0,07
Híbridos	Famílias S ₃ – Heterose (%)	
	Rendimento de Grãos	Capacidade de Expansão
	Angela	-0,09
IAC 125	0,25	0,03
P ₂	-0,15	-0,11
UENF 14	0,02	-0,13

Guimarães et al. (2007) correlacionaram a capacidade combinatória com a divergência genética entre linhagens de milho comum e, com base nas estimativas obtidas, afirmaram que, de maneira geral, altas estimativas de divergência genética entre linhagens não implicam altos valores de CEC e não

se correlacionam com a produtividade do híbrido. Portanto, não é possível prever sobre a CEC para produtividade de grãos nos cruzamentos, baseando-se na divergência genética entre as linhagens envolvidas.

Em se tratando da correlação entre distância genética e heterose para RG, mais uma vez os híbridos provenientes do testador IAC 125 foram os únicos a apresentar correlação positiva, apesar da baixa magnitude (0,25). Para CE, os híbridos do testador Angela obtiveram correlação baixa, porém positiva (0,24).

Segundo Charcosset et al. (1991), a predição das heteroses dos híbridos F1 embasada em marcadores moleculares seria mais eficiente se as marcas a serem utilizadas fossem selecionadas de acordo com suas associações com o caráter a ser estudado, pois a introdução de marcas não ligadas aos locos do caráter pode levar à diluição na relação entre heterose e a heterozigosidade, com o avanço das gerações (Guimarães et al., 2007).

Liu e Wu (1998) afirmaram que, apesar da importância dos parâmetros, nem a diversidade genética nem a heterozigosidade são um bom indicador para a previsão da heterose, independentemente da localização dos SRR genômicos.

Conclui-se, pois, que as correlações obtidas entre a divergência genética das famílias S_3 e os parâmetros de CEC e de heterose, dos híbridos *topcrosses*, para RG e CE, expressaram baixas estimativas. No entanto, espera-se que a magnitude dos valores de r possa ser elevada à medida que o número de marcas polimórficas seja introduzido na população em questão (famílias S_3), ou seja, possivelmente, apenas 25 locos SSR-EST não foram suficientemente necessários para correlacionar a diversidade genética apresentada pelas famílias S_3 , com as significativas CEC e heterose, manifestadas pelos híbridos obtidos destas famílias com os testadores.

6. CONCLUSÕES

As conclusões a respeito do estudo da capacidade combinatória, entre as famílias S_3 com os quatro testadores (BR Angela, IAC 125, P2 e UENF 14), que resultaram na escolha do melhor testador, tiveram por base informações obtidas da análise das características rendimento de grãos e capacidade de expansão. Para tanto, foram consideradas as estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos, as estimativas das capacidades gerais e específicas de combinação, a capacidade de discriminação de cada testador, as estimativas de correlações entre testadores e de testadores com famílias S_3 *per se* e as estimativas de heterose dos híbridos *topcrosses* em relação ao testador *per se*.

Com respaldo na análise conjunta dos parâmetros, concluiu-se que o melhor testador na avaliação das 50 famílias S_3 , para rendimento de grãos, foi a variedade BRS Angela e, para capacidade de expansão, o híbrido *topcross* IAC 125.

Diante dos resultados, pode-se concluir que linhagens obtidas dos testadores BRS Angela e IAC 125, respectivamente, para RG e CE, são estratégias interessantes quando combinadas com famílias S_3 derivadas da variedade UENF 14, para produção de híbridos de milho-pipoca para as regiões Norte e Noroeste Fluminense.

A análise da divergência genética entre as famílias S_3 e entre os híbridos *topcrosses* foi fundamentada nas distâncias genéticas obtidas por 25 marcadores gênicos polimórficos (SSR-EST). Com base na matriz de distâncias genéticas

obtidas pelo índice ponderado, foi feito o agrupamento hierárquico UPGMA. Diante do dendrograma obtido e dos valores do Índice de Shannon (I), concluiu-se que existe uma elevada divergência genética entre os testadores e entre as famílias S₃.

De acordo com as estimativas de correlação simples entre as distâncias genéticas e a capacidade específica de combinação e heterose, concluiu-se que houve baixa correlação, tanto para rendimento de grãos quanto para capacidade de expansão, e que um número maior de marcas polimórficas se faz necessário para averiguar com maior precisão as correlações entre a diversidade genética apresentada pelas famílias S₃ com as significativas CEC e heterose, manifestadas pelos híbridos obtidos destas famílias com os testadores.

A respeito das estimativas de depressão endogâmica, obtidas para os caracteres agronômicos avaliados, pode-se concluir que a característica dias de florescimento (dias) não sofreu qualquer efeito depressivo e as características capacidade de expansão (CE), alturas de espiga (AE) e de planta (AP) foram pouco influenciadas pela depressão endogâmica, respectivamente, com estimativas de 6,24, 9,24 e 12,52%. O caráter mais afetado pelo aumento gradativo da homozigose foi rendimento de grãos (RG), com 70,6%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aekatasanawan, C. (2001) Baby corn. *In: Hallauer, A.R.(ed.) Specialty corns. 2. ed. Iowa: CRC Press, p. 275-292.*
- Aguiar, C.G., Schuester, I., Amaral Júnior, A.T. do, Scapim C., Vieira E. (2008) Heterotic groups in tropical maize germplasm by test-crosses and simple sequence repeat markers. *Genetics and Molecular Research, 7:1233-1244.*
- Agriannual (2015) *Anuário da Agricultura Brasileira*. FNP consultoria & comércio, M&S Mendes & Scotini. Editora FNP, 521p.
- Allard, R.W. (1960) *Principies of plant breeding*. New York: John Wiley, 381p.
- Almeida, I.P.C, Silva, P.S.L., Negreiros, M.Z., Barbosa, Z. (2005). Baby corn, green ear, and grain yield of corn cultivars. *Horticultura Brasileira, 23(4): 960-964.*
- Amaral Júnior, A.T., Goncalves, L.S.A., Freitas Júnior, S.P., Candido, L.S., Vitorazzi, C., Pena, G.F., Ribeiro, R.M., Silva, T.R.C.,Pereira, M.G.,Scapim, C.A., Viana, A.P., Carvalho, G.F.(2013) UENF 14: a new popcorn cultivar. *Crop Breeding and Applied Biotechnology, 13:218.*

- Amaral L.P., Ferreira R.A., Lisboa G.S., Longhi S. J., Watzlawick L.F. (2013) Variabilidade espacial do Índice de Diversidade de Shannon-Wiener em Floresta Ombrófila Mista. *Scientia Forestalis*, 41: 083-093.
- Amaral Júnior, A.T., Oliveira, E.C., Gonçalves, L.S.A., Scapim, C.A., Candido, L.S., Silva, T.R.C., Vittorazzi, C., Cunha, K.S. (2011) Assessment of genetic diversity among maize accessions using inter simple sequence repeats (ISSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 69:15462-15469.
- Amorim, E.P., Souza, J.C. (2005) Híbridos de milho inter e intrapopulacionais obtidos a partir de populações S₀ de híbridos simples comerciais. *Bragantia*, Campinas, 64(3): 561-567.
- Baktash, F.Y., Younis, M.A., Alyounis, A.H., Al-ithawi, S.A. (1981) Correlation coefficient between top crosses and diallel crosses in corn. *Mesopotamia Journal of Agriculture*, Mosul, 15:51-58.
- Barbosa, A.M.M., Geraldi, I.O., Benchimol, L.L., Garcia, A.A.F., Souza, C.L., Souza, A.P. (2003) Relationship of intra- and interpopulation tropical maize single cross hybrid performance and genetic distances computed from AFLP and SSR markers. *Euphytica*, Netherlands, 130:87-99.
- Barreto, R.R., Scapim, C.A., Amaral Júnior, A.T., Rodovalho, M.A., Vieira, R.A., Schuelter, A.R. (2012) Avaliação da capacidade de combinação de famílias S₂ de milho-pipoca por meio de diferentes testadores. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, 33(3):873-890.
- Barreto, R.R. (2008) *Avaliação Da Capacidade De Combinação De Famílias S₂ De Milho-pipoca*. Tese (Mestrado em Agronomia) – Maringá –PR, Universidade Estadual de Maringá – UEM, 74p.
- Beadle, G.W. (1978) Teosinte and the origin of maize. In: Walden, D.B. (ed.) *Maize breeding and genetics*. 8. New York, John Wiley & Sons, p. 113-141.
- Bernardo, R. (1991) Correlation between testcross performance of lines at early

and late selfing generations. *Theoretical and applied genetics*, Berlin, 82:17-21.

Bordallo, P.N., Pereira, M.G., Amaral Júnior, A.T., Gabriel, A.P.C. (2005) Análise dialéctica de génotipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. *Horticultura Brasileira*, 23:123-127.

Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32:314-331

Breda, F.C., Euclides, R.F., Pereira, C.S. (2004) Endogamia e limite de seleção em populações selecionadas obtidas por simulação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33(6):2017-2025.

Bruce, A.B. (1910) The Mendelian theory of heredity and the augmentation of vigor. *Science*, 32:627-628.

Brunson, A.M. (1955) *Popcorn, in Corn and Corn Improvement*. Madison: Sprague, American Society of Agronomy, 423p.

Brunson, A.M. (1937) Popcorn breeding. *Yearbook Agricultural*, 1:395-404.

Buchweitz, E.D. (2010) *Potencial Heterótico De Linhagens S3 E S4 De Milho (Zea mays L.) Para Obtenção De Híbridos*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Jaboticabal – SP, Universidade Estadual Paulista – UNESP, 78p.

Cabrera, A.C., Souza Junior, C.L., Souza, A.P. (2005) Use of partly inbred S3 lines for the development of maize single-crosses. *Maydica*, Bergamo, 50(2): 113-121.

Caixeta, E.T., Oliveira, A.C.B., Brito, G.G., Sakiyama, N.S. (2006) Marcadores Moleculares. In: Borém, A., Caixeta, E.T. (eds.) *Tipos de marcadores moleculares*. Viçosa: Jard, p. 09-78.

- Ceresini, P.C., Silva, C.L. S.P., Missio, R.F., Souza, E.C., Fischer, C.N., Guilherme, I.R., Gregorio, I., da Silva, E.H.T. , Cicarelli, R.M.B. , da Silva, M.T.A., Garcia, J.F., Avelar, G.A., Neto, L.R.P., Marçon, A.R., Junior, M.B., Marini, D.C. (2005) Satellyptus: analysis and database of microsatellites from ESTs of *Eucalyptus*. *Genetics and Molecular Biology*, 28:589-600.
- Charcosset, A., Lefort-Buson, M., Gallais, A. (1991) Relationship between heterosis and heterozygosity at marker locos: a theoretical computation. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, 81:571- 575.
- Chaves, L.J., Miranda Filho, J.B. de (1997) Predicting variety composite means without diallel crossing. *Brazilian Journal of Genetics*, 20: 501-506.
- Conab (2015) - Companhia Nacional De Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos (2014/2015) – 6º levantamento. Brasília, 106p.
- Comstock, R.E., Robinson, H.F. (1948) The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance. *Biometrics*, 4: 254-266.
- Cruz, C. D. (2013) GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*, Maringá 35: 271-276.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2006) *Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético*. 3. ed. Viçosa: UFV, 586p.
- Cruz, J.C., Pereira Filho, I.A. (2005) Cultivares de milho disponíveis no mercado de sementes do Brasil para a safra 2005/2006: <http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/index.php>.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2004) *Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético*. 2. ed. Viçosa: UFV, 390p.

- Cruz, C.D. Regazzi, A.J. (1997) *Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético*. 1. ed. Viçosa: UFV, 390p.
- Cruz, C.D., Castoldi, F.L. (1991) Decomposição da interação genótipo x ambiente em partes simples e complexas. *Revista Ceres*, 38(219): 422-430.
- Cruz, C.D., Torres, R.A.A., Vencovsky, R. (1989) An alternative approach to the stability analysis proposed by silva and barreto. *Revista Brasileira de Genética*, 12(3):567-580.
- Daros, M., Amaral Júnior, A.T., Pereira, M.G., Santos, F.S., Gabriel, A.P.C., Freitas Júnior, S.P. (2004) Recurrent selection in inbred popcorn families. *Scientia Agricola*, Piracicaba-SP, 61(6):609-614.
- Daros, M., Amaral Júnior, A.T., Pereira, M.G. (2002) Genetic gain for grain yield and popping expansion in full-sib recurrent selection in popcorn. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2(3):339-344.
- Davenport, C.B. (1908). Degeneration, albinism and inbreeding. *Science*, 28:454-45.
- Davis, R.L. (1934) Maize crossing values in second generation lines. *Journal of Agricultural Research*, Lahore, 48: 339-359.
- Davis, R.L. (1927) Report of the plant breeder. *Puerto Rico Agr. Exp. Sta. Ann. Reporter*. p. 14-15.
- Desenbahia (2011) -*Boletim Anual do Mercado de Grãos: Milho Safra 2010/11 e Expectativas 2011/12*.
- Dofing, S.M., D`Croz-Mason, N., Thomas-Compton, M.A. (1991) Inheritance o expansion volume and yield in two popcorn x dent corn crosses. *Crop Science*, Madison, 31:715–718.

- East, E.M. (1936) Heterosis. *Genetics*, 21:375-397.
- Erwin, A.T. (1949) The origin and history of popcorn, zea mays l. Var. Indurate (sturt) bailey mut. Everta (sturt) Erwin. *Agronomy Journal*, 41(2):53-56.
- Eujayl I., Sorrells, M.E., Baum, M., Wolters, P., Powell, W. (2002) Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the a and b genomes of wheat. *Theor Appl Genet*, 104(2–3):399–407.
- Falconer, D.S., MacKay, T.F.C. (1996) *Introduction to quantitative genetics*. 4. ed. Longman Scientific & Technical, Burnt Mill, Harlow, United Kingdom.
- Falconer, D.S. (1989) *Introduction of quantitative genetics*. 3. ed., Harlow, Longman Sci & Tech, 438p.
- Falconer, D.S. (1987). *Introdução à genética quantitativa*. Trad. de Martinho de Almeida e Silva e José Carlos Silva. Viçosa: UFV, 279p.
- Falconer, D.S. *Introduction to quantitative genetics* (1964). 2.ed. New York: Ronald Press, 365p.
- Fasoulas, A.C. (1983) Rating cultivars and trials in applied plant breeding. *Euphytica*, Dordrecht, 32(3):939-943.
- Ferreira, E.A., Paterniani, M.E.A.Z., Duarte, A.P., Gallo, P.B., Sawazaki, E., Azevedo Filho, J.A., Guimarães, P.S.(2009) Desempenho de híbridos top crosses de linhagens S₃ de milho em três locais do estado de São Paulo, *Bragantia*, 68:319-327.
- Freitas Junior, S.P., Amaral Junior, A.T., Rangel, R.M., Viana, A.P. (2009a) Genetic gains in popcorn by full-sib recurrent selection. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9:1-7.
- Freitas Junior, S.P., Amaral Junior, A.T., Rangel, R.M., Viana, A.P. (2009b) Genetic gain prediction on UNB-2U popcorn population under recurrent

selection by using different selection indexes. *Semina Ciências Agrárias*, 30:803-814.

Freitas Junior, S.P, Amaral Júnior, A.T., Pereira, M.G., Cruz, C.D., Scapim, C.A. (2006) Capacidade combinatória em milho-pipoca por meio de dialelo circulante. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 41:1599-1607.

Galinat, W.C. (1974) Intergenomic mapping of maize, teosinte and *Tripsacum*. *Evolution*, 27:644-55.

Galinat, W.C. (1977) The origin of corn. In: Sprague, G.F. (ed.) *Corn and corn improvement*. New York: Academic Press, 48p.

Galvão, K.S.C. (2014) *Seleção recorrente recíproca em milho (Zea mays L.): avaliações fenotípicas e moleculares*. Tese (Doutorado Em Genética E Melhoramento De Plantas) – Campos Dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual Do Norte Fluminense – UENF, 97p.

Galvão, J.C.C., Sawazaki E., Miranda, G.V. (2000) Comportamento de híbridos de milho-pipoca em Coimbra, Minas Gerais. *Revista Ceres*, Viçosa, (270):201-218.

Gama, E.E.G., Santos, M.X., Ferrão, R.G., Meireles, W.F., Pacheco, C.A.P., Parentoni, S.N., Guimarães, P.E.O. (2003) Potencial genético de um sintético de milho de grão duro para formação de híbridos. *Ciência Rural*, Santa Maria, 33(4):615-619.

Garbuglio, D.D., Gerage, A.C., Araújo, P.M. de, Fonseca Júnior, N.S., Shioga, P.S. (2007) Análise de fatores e regressão bissegmentada em estudos de estratificação ambiental e adaptabilidade em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42:183-191.

- Gauch, H.G. and Zobel, R.W. (1996) AMMI analysis of yield trials. *In: Kang, M.S. and Gauch, H.G. (eds.) Genotype by Environment Interaction*. New York: CRC Press, p. 416.
- Geraldi, I.O., Miranda Filho, J.B. (1988) Adapted models for the analysis of combining ability of varieties in partial diallel crosses. *Brazilian Journal of Genetics*, Ribeirão Preto, 2:419-430.
- Gonçalves, L.S.A., Freitas Júnior, S.P., Amaral Júnior, A.T., Scapim, C.A., Rodrigues, R., Marinho, C.D., Pagliosa, E.S. (2014) Estimating combining ability in popcorn lines using multivariate analysis. *Chilean journal of agricultural research*, 74(1):10-15.
- Good, R.L., Hallauer, A.R. (1977) Inbreeding depression in maize by selfing and full-sibbing. *Crop Sci.*, 17:935-940.
- Goodnam, M.M., Smith, J.S.C. (1987) Botânica. *In: Paterniani, E. e Viegas, G.P. (eds.) Melhoramento e Produção de Milho*. 1. ed. Campinas: Fundação Cargil, p. 41-78.
- Griffing, A.R. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing system. *Australian Journal of Biological Science*, Victoria, 9:463-493.
- Griffiths, A.J.F., Miller, J.H., Suzuki, D.T., Lewontin, R.C., Gelbart, W.M. (2000) *Introdução à genética*. 7. ed. Ganabara Koogan, 794p.
- Guimarães, P.S., Paterniani, M.E.A.G.Z., Lüders, R.R., Souza, A.P., Laborda, P.R., Oliveira, K.M. (2007) Correlação da heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 42(6):811-816.
- Hallauer, A.R., Carena, M.J., Miranda Filho, J.B. (2010) *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. 6. ed. Springer, 663p.

- Hallauer, A.R. (1990) Methods used in developing maize inbreds. *Maydica*, 35:1-16.
- Hallauer, A.R., Miranda Filho, J.B. (1988) *Quantitative genetics in maize breeding*. Ames: Iowa State University Press, 468p.
- Hallauer, A.R. (1985) Compendium of recurrent selection methods and their application. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 3:01-33.
- Hallauer, A.R., Miranda Filho, J.B. (1981) *Quantitative genetics in maize breeding*. Ames: Iowa State University Press, 468 p.
- Hallauer, A. R., Lopes Perez, E. (1979) Comparisons among testers for valuating lines of corn. *Proceeding of the Annual Hybrid Corn Industry Research Conference*, Washington, D.C., 34:57-75.
- Hallauer, A.R.,Sears, J.H. (1973) Changes in Quantitative Traits Associated with Inbreeding in a Synthetic Variety of Maize. *Crop Science*, 13(3):327-330.
- Hazel, L.N. (1943) The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics*, Austin, 28:476–490.
- Jenkins, M.T., Brunson, A. M. (1932) Methods of testing inbred lines of corn in crossbreed combinations. *Journal of the American Society of Agronomy*, Madison, 24:523-530.
- Jenkins, M.T. (1935) The effect of inbreeding and of selection within inbred lines of corn upon the hybrids made after successive generations of selfing. *Journal of Science*, 3:429-450.
- Jensen, S.D. (1983) Combining ability studies in elite U.S. maize germoplasm. *Proceeding of the Annual Hibrid Corn Sorghum Industry Conference*, Washington, D.C., 38: 87-96.

- Johnson, I.J., Hayes, H.K. (1936) The combining ability of inbred lines of Golden Bantam sweet corn. *Journal of American Society of Agronomy*, Madison, 28:246-252.
- Jones, D.F., Singleton, W.R. (1934) Crossed sweet corn. *Conn. Agr. Exp. Stn. Bull.* 361:487–536.
- Jones, D.F. (1918) The effect of inbreeding and crossbreeding upon development. *Corn. Agr. Exp. Stn. Bul.*, 207:5-100.
- Keeble, F. and Pellew, C. (1910) The mode of inheritance of stature and the time of flowering in peas (*Pisum sativum*). *Journal of Genetics*, 1:47-56.
- Kerr, W.E. (1969) *Melhoramento e genética*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 301p.
- Knapp, S.J., Stroup, W.W., Ross, W.M. (1985) Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. *Crop Science*, Madison, 25(1):192-194.
- Krug, C.A., Viégas, G.P., Paolieri, I. (1943) Híbridos comerciais de milho. *Bragantia*, Campinas, 3:367-551.
- Laborda, P.R., Oliveira, K.M., Garcia, A.A.F., Paterniani, M.E.A.G.Z., Souza, A.P. (2005) Tropical maize germoplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? *Theoretical and Applied Genetics*, 111:1288-1299.
- Laborda, P.R. (2003) *Diversidade Genética entre Linhagens de Milho Tropical. Estudo com Base em Marcadores Moleculares*. Tese (Mestrado em Genética Vegetal e Melhoramento) – Campinas, SP – Universidade de Campinas - UNICAMP, 103p.
- Larish, L.B., Brewbaker, J. L. (1999) Diallel analyses of temperate and tropical popcorn. *Maydica*. 44:279-284.

- Lima, M.W.O.P., Souza, E.A., Ramalho, M.A.P. (2000) Procedimentos para a escolha de populações de milho para a extração de linhagens. *Bragantia*, Campinas, 59(2): 153-158.
- Lima, M., Miranda Filho, J.B., Gallo, P.B. (1984) Inbreeding depression in Brazilian populations of maize (*Zea mays* L.). *Maydica*, Bergamo, 29:203-215.
- Lima, M., Zinsly, J.R., Vencovsky, R., Melo, M.R.C. (1971) Resultados parciais de um programa de melhoramento do milho (*Zea mays* L.) visando ao aumento da produtividade, caracteres agrônômicos e capacidade de expansão. *In: Relatório Científico do Departamento e Instituto de Genética, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ*, 5:84-93.
- Lira, M. A. (1983) *Seleção entre e dentro de famílias de meio-irmãos para produção e capacidade de expansão e correlações entre alguns caracteres em milho-pipoca (Zea mays L.)*. Tese (Mestrado em Fitotecnia) - Lavras - MG, Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, 62p.
- Liu, K., Muse, S.V. (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21:2128–2129.
- Liu, X.C., Wu, J.L. (1998) SSR heterogenic patterns of parents for marking and predicting heterosis in rice breeding. *Mol. Breeding*, 4:263-268.
- Lonquist, J.H, Rumbaugh, M.D.(1958) Relative importance of test sequence for general and specific combining in corn breeding. *Agronomy Journal*, Madison, 50:541-544.
- Menkir A, Goldsbrough P., Ejeta G (1997). RAPD based assessment of genetic diversity in cultivated races of sorghum. *Crop Sci.* 37: 564-569.
- Machado, P.F. (1997) *Efeitos das condições de colheita e secagem sobre a capacidade de expansão de milho-pipoca*. Tese (Mestrado em Fitotecnia) – Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa - UFV, 41p.

- Mangesdorf, P.C. (1974) *Corn its origin, evolution and improvement*. Cambridge: Harvard University Press, 262p.
- Matzinger, D.F. (1953) Comparison of three types of testers for evaluation of inbred lines of corn. *Agronomy Journal*, Madison, 45:493-495.
- Mendes de Paula, T.O., Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Scapim, C.A., Peternelli, L.A., da Silva, V.Q.R. (2010) Pi statistics underlying the evaluation of stability, adaptability and relation between the genetic structure and homeostasis in popcorn. *Acta Scientiarum*, Maringá, 32(2):269-277.
- Meneghetti, A.M. (2010) *Aspectos ambientais e agrônômicos da cultura do minimilho sob aplicação de água residuária de suinocultura tratada após lagoa de estabilização*. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Cascavel – PR, Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, 240p.
- Miranda, G.V., Souza, L.V., Galvão, J.C.C., Guimarães, L.J.M., Melo, A.V., Santos, I.C. (2008) Genetic variability and heterotic groups of Brazilian popcorn populations. *Euphytica*: DOI 10.1007/s10681-007-9598-9.
- Miranda, G.V., Coimbra, R.R., Godoy, C.L., Souza, L.V., Guimarães, L.J.M., Melo, A.V. (2003) Potencial de melhoramento e divergência genética de cultivares de milho-pipoca. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília– DF, 38(6): 681-688.
- Miranda Filho, J.B. de, Gorgulho, E.P. (2001) Cruzamentos com testadores e dialelos. *In: Nass et al. (ed.). Recursos genéticos e melhoramento: plantas*. Rondonópolis: Fundação MT, p. 649-671.
- Miranda Filho, J.B., Viégas, G.P. (1987) Milho híbrido. *In: Parteniani, E., Viégas, G. P. (eds.). Melhoramento e produção de milho*. 1. ed. Campinas: Fundação Cargill, p. 275-340.

- Moterle, L.M., Braccini, A.L., Scapim, C.A., Pinto, R.J.B., Gonçalves, L.S.A., Amaral Júnior, A.T. Do, Silva, T.R.C. (2011) Combining ability of tropical maize lines for seed quality and agronomic traits. *Genetics and Molecular Research*, 10:2268-2278.
- Mulamba, N.N., Mock, J.J. (1978) Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. *Egypt J.Gen. Cytol. Alexandria*, 7:40–51.
- National Academic Science (1972). *Genetic vulnerability of major crops*. Washington: 307p.
- Pacheco, C.A.P., Gama, E.G.G., Parentoni, S.N., Santos, M.X., Lopes, M.A., Ferreira, A.S., Fernandes, F.T., Guimarães, P.E.O, Correa, L.A., Meirelles, W.F., Feldman, R.O, Magnavaca, R. (2001) BRS Angela – variedade de milho-pipoca. Sete Lagoas: EMBRAPA - Milho e Sorgo, 6p.
- Pacheco, C.A.P., Gama, E.P., Guimarães, P.E.O., Santos, M.X., Ferreira, A.S. (1998) Estimativas de parâmetros genéticos nas populações CMS-42 e CMS-43 de milho-pipoca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 33(12):1995-2001.
- Paterniani, M.E.A.G.Z., Guimarães, P.S., Luders, R.R., Gallo, P.B., Souza, A.P., Laborda, P.R., Oliveira, K.M. (2008) Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. *Bragantia*, 67:639-648.
- Paterniani, M.E.A.G.Z. (2001) Use of heterosis in maize breeding: History, Methods and Perspectives. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 1(2):159-178.
- Paterniani, E., Campos, M.S. (1999) Melhoramento do milho. Borém, A. (org) *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa: UFV, p. 429-485.

- Paterniani, E., Miranda Filho, J.B. (1987) Melhoramento de populações. *In*: Paterniani, E., Viegas, G.P. (eds). *Melhoramento e produção do milho*. Campinas, Fundação Cargill, v. 1, p.217-274.
- Payne, K.T., Hayes, H.K. (1949) A comparison of combining ability in F3 and F2 lines of corn. *Agronomy Journal, Madison*, 41:383-388.
- Pereira, M.G., Amaral Júnior, A.T. (2001) Estimation of genetic components in popcorn based on the nested design. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 1:3-10.
- Pimentel Gomes, F. (2000) *Curso de estatística experimental*. 14. ed. Piracicaba: Nobel, 477p.
- Pimentel Gomes, F. (1990) *Curso de estatística experimental*. 12. ed. São Paulo: Nobel, 467p.
- Pinto, R.J.B. (2009) *Introdução ao melhoramento genético de plantas*. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 350p.
- Rajendran, A., Muthiah, A., Joel, J., Shanmugasundaram, P., Raju, D. (2014) Heterotic grouping and patterning of quality protein maize inbreds based on genetic and molecular marker studies. *Turkish Journal of Biology*, 38: 10-20.
- Ramalho, M.A.P. (2000) *Experimentação em Genética e Melhoramento de Plantas*.Lavras: EditoraUFLA, 326P.
- Ramos, H.C.C., Pereira, M.G., Silva, F.F., Gonçalves, L.S.A., Pinto, F.O., de Souza Filho, G.A., Pereira, T.S.N. (2011) Genetic characterization of papaya plants (*Carica papaya* L.) derived from the first backcross generation. *Genetics and Molecular Research*, 10:393-403.
- Rangel, R.M., Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Freitas Júnior, S.P., Cândido, L.S.(2011) Análise biométrica de ganhos por seleção em

população de milho-pipoca de quinto ciclo de seleção recorrente. *Revista Ciência Agronômica*, 42:473-481.

Rangel, R.M., Amaral Júnior, A.T., Scapim, C.A., Freitas Júnior, S.P., Pereira, M.G. (2008) Genetics and parameters in parents and hybrids of circulant diallel in popcorn. *Genetics and Molecular Research*, 7(4):1020-1030.

Rangel, R.M., Amaral Júnior, A.T., Viana, A.P., Freitas Júnior, S.P., Pereira, M.G. (2007) Prediction of popcorn hybrid and composites means. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7(3):287-295.

Raposo, F.V. (2002) *Seleção Recorrente Recíproca em Populações Derivadas de Híbridos Simples de Milho*. Tese (Doutorado). Lavras – MG, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 106p.

Raup, D.S., Gardingo, J.R., Moreno, L.R., Hoffman, J.P.M., Matiello, R.R., Borsato, A.V. (2008) Minimilho em conserva: avaliação de híbridos. *Acta Amazônica*, Manaus, 38(3): 509-516.

Ribeiro, R.M., Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Candido, L.S., Silva, T.R.C., Pena, G.F. (2012) Genetic progress in the UNB-2U population of popcorn under recurrent selection. *Genetics and Molecular Research*, 11:1417-1423.

Richey, F.D. (1947) Corn breeding gamete selection, the Oenothera method and relative miscellany. *Agronomy Journal*, Madison, 39.

Rodvalho, M.A., Scapim, C.A., Pinto, R.J.B., Barreto, R.R., Ferreira, F.R.A., Clóvis, L.R. (2012) Comparação de testadores em famílias S₂ obtidas do híbrido simples de milho-pipoca IAC-112. *Biosci. Journal*, Uberlândia, 28(2):145-154.

- Rodvalho, M.A. (2008) Comparação de Testadores em Famílias S2 Obtidas do Híbrido Simples de Milho-pipoca IAC-112. Tese (Mestrado em Agronomia) – Maringá – PR, Universidade Estadual de Maringá – UEM, 64p.
- Rosinha, R.O. (2000) *Estratégias competitivas e reestruturação da indústria de sementes no Brasil: a análise do segmento do milho*. Tese (Mestrado em Administração) – Belo Horizonte, MG - Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, 143p.
- Santos, F.S., Amaral Junior, A.T., Freitas Junior, S.P., Rangel, R.M., Scapim, C.A., mora, f. (2008) Genetic gain prediction of the third recurrent selection cycle in a popcorn population. *Acta Scientiarum*, 66:651-655.
- Santos, F.S., Amaral Júnior, A.T., Freitas Júnior, S.P., Rangel, M.R., Pereira, M.G. (2007) Predição de ganhos genéticos por índices de seleção na população de milho-pipoca UNB-2U sob seleção recorrente. *Bragantia*, 66(3):389-396.
- Sawazaki, E. (2010) Milho-pipoca, CD-ROM dos *Anais do XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo*, Goiânia, GO, Brasil.
- Sawazaki, E. (2001) A cultura do milho-pipoca no Brasil. *O Agrônomo*. Campinas, 53(2):11–13.
- Sawazaki, E., Paterniani, M.E.A.G.Z., Castro, J.L., Gallo, P.B., Galvão, J.C.C., Saes, L.A. (2000) Potencial de linhagens de populações locais de milho-pipoca para síntese de híbridos. *Bragantia*. 59(2):143-151.
- Sawazaki, E. (1995) Melhoramento do milho-pipoca. Campinas: Instituto Agrônomo, 21p.
- Scapim, C.A., Pacheco, C.A.P., Amaral Júnior, A.T., Vieira, R.A., Pinto, R.J.B., Conrado, T.V. (2010) Correlations between the stability and adaptability statistics of popcorn cultivars. *Euphytica*, 174:209–218.

- Scapim, C.A., Royer, M.R., Pinto, R.J.B., Amaral Júnior, A.T., Pacheco, C.A.P., Moterle, L.M. (2008) Comparison of testers in the evaluation of combining ability of S₂ families in popcorn. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas-MG, 7:91-100.
- Scapim, C.A., Braccini, A.L., Pinto, R.J.B., Amaral Júnior, A.T., et al. (2006) Average genetic components and inbreeding depression in popcorn populations. *Cienc. Rural*, 36:36-41.
- Scapim, C.A., Pacheco, C.A., Tonet, A., Braccini, A.L., Pinto, R.J.B. (2002) Análise Dialélica e Heterose de Populações de Milho-Pipoca. *Bragantia*, Campinas, 61(3):219-230.
- Scapim, C. A., Oliveira, V.R.A. de Lucca e Braccini, Cruz, C.D., Andrade, C.A., Vidigal, M.C.G.. (2000) Yield stability in mayze (*Zea mays* L.) and correlations among the parameters of the Eberhart and Russel, Lin and Binns and Huehn models. *Genetics and Molecular Biology*. 23(2):387-393.
- Scapim C.A., Carvalho, C.G.P., CRUZ, C.D. (1995) Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília-DF, 30(5):683-686.
- Scott, K.D., Eggler, P., Seaton, G., Rossetto, M., Ablett, E.M., (2000) Analysis of SSRs derived from grape ESTs. *Theoretical and Applied Genetic*, 100:723–726.
- Seifert, A.L., Carpentieri-Pípolo, V., Ferreira, J.M., Gerage, A.C. (2006) Análise combinatória de populações de milho-pipoca em *topcrosses*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 41(5):771-778.
- Senior, M.L., Murphy, J.P., Goodman, M.M., Stuber, C.W. (1998) Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Science*, 38:1088-1098.

- Sharopova, N.; McMullen, M.D.; Schultz, L.; Schroeder, S.; Sanchez-Villeda, H.; Gardiner, J.; Bergstrom, D.; Houchins, K.; Melia-Hancock, S.; Musket, T.; Duru, N.; Polacco, M.; Edwards, K.; Ruff, T.; Register, J.C.; Brouwer, C.; Thompson, R.; Velasco, R.; Chin, E.; Lee, M.; Woodman-Clikeman, W.; Long M.J.; Liscum, E.; Cone, K.; Davis, G.; Coe, E.H. Jr. (2002) *Plant Molecular Biology*, 48:463-81.
- Shull, G.H. (1909). A pure line method in corn breeding. *Reporter American Breeder's Association*. 5:51-59.
- Silva, V.Q.R., Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Freitas Júnior, S.P., Ribeiro, R.M. (2011) Heterotic parameterizations of crosses between tropical and temperate lines of popcorn. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 33:243-249.
- Silva, V.Q.R., Amaral Júnior, A.T. do, Gonçalves, L.S.A., Freitas Júnior, S.P., L.S. Candido, C. Vittorazzi, L.M. Moterle, R.A. Vieira and C.A. Scapim (2010) Combining ability of tropical and temperate inbred lines of popcorn. *Genetics and Molecular Research*, 9(3):1742-1750.
- Silva, T.A., Pinto, R.J.B., Scapim, C.A., Mangolin, C.A., MACHADO, M.F.P.S., CARVALHO, M.S.N. (2009) Genetic divergence in popcorn genotypes using microsatellites in bulk genomic DNA. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9:31-36.
- Silva, V.Q.R. (2009) *Melhoramento de milho-pipoca: capacidade combinatória de linhagens, parametrização heterótica e herança de características agronômicas*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual Norte Fluminense “Darcy Ribeiro” – UENF, 220p.
- Silveira, F.T., Moro, J.R. (2009) Utilização de linhagens parcialmente endogâmicas S3 para a obtenção de híbridos simples de milho. *Revista Biotecnologia*, Taubaté, 15: 10-14.

- Simon, G.A., Scapim, C.A., Pacheco, C.A.P., Pinto, R.J.B., Braccini, A.L., Tonet, A. (2004) Depressão por endogamia em populações de milho pipoca. *Bragantia*, Campinas, 63(1):55-62.
- Smith, O.S. (1986) Covariance between line per se and a testcross performance. *Crop Science*, Madison, 26(3):540-543.
- Smith, H.F. (1936) A discriminant function for planta selection. *Ann. Eugen.* 7:240–250.
- Soni, N.V., Khanorkar, S.M. (2013) Association of genetic divergence with heterosis, combining ability and mean value for quantitative traits in popcorn (*Zea mays* Var. Everta), *The Bioscan*, 8(4):1363-1367.
- Souza Jr., C.L., Barrios, S.C.L., Moro, G.V. (2010) Performance of maize single-crosses developed from populations improved by a modified reciprocal recurrent selection. *Sci. Agric.* 67: 198-205.
- Souza Jr, C.L. (2001) Melhoramento de espécies alógamas. In: NASS, L.L., Valois, A.C.C., Melo, I.S. de, Valadares-Ingliš, M.C. *Recursos genéticos e melhoramento*. Rondonópolis: Fundação MT, p.159-199.
- Souza Jr, C.L. (1992) Interpopulation Genetic Variances And Hybrid Breeding Programs. *Brazilian Journal of Genetics*, 15(3):643-656.
- Souza Sobrinho, F. de, Ramalho, M.A.P., Souza, J.C. de (2002) Alternatives for obtaining double cross maize hybrids. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, 1(1): 70-76.
- Sprague, G.F., Tatum, L.A. (1942) General vs specific combining ability in single crosses of corn. *J Am Soc Agron*, 34:923-932
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H. (1980) *Principles and procedures of statistics: a biometrical approach*. 2. ed. New York: McGraw-Hill.

- Storck, L., Vencovsky, R. (1994) Stability analysis based on a bi-segmented discontinuous model with measurement errors in the variables. *Revista Brasileira de Genética*. 17(1):75-81.
- Taramino, G. and Tingey, S. (1996) Simple sequence repeats for germplasm analysis and mapping in maize. *Genome*, 39:277-287.
- Theil, H. (1950) A rank-invariant method of linear and polynomial regression analysis: indagationes mathematicae. 12:85-91.
- Tracy, W.F. (2001) Sweet corn. *In: Hallauer, A.R. Specialty corn*. Boca Raton. p.155-198.
- Troyer, A.F. (1999) Background of U.S. hybrid corn. *Crop Science*, Madison, 39(3): 601-626.
- Tsunechiro, A. (2004) Evolução da Produtividade da Cultura do Milho no Brasil. *Anais do XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo*, Cuiabá. Resumo Expandido. CD-Rom
- Vencovsky, R., Barriga, P. (1992) *Genética Biométrica no Melhoramento*. Ribeirão Preto: SBG, 496p.
- Vencovsky, R., Cruz, C.D. (1989) Comparação de alguns métodos de análise dialélica. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, 12(2):425-438.
- Viégas, G.P., Miranda Filho, J.B. Milho híbrido. (1978) *In: Paterniani, E. (Ed.). Melhoramento e produção do milho no Brasil*. Campinas: Fundação Cargill, p. 257-298.
- Vilarinho, A.A., Viana, J.M.S., Câmara, T.M.M., Santos, J.F. (2002) Seleção de progênies endogâmicas S_1 e S_2 em um programa de melhoramento intrapopulacional de milho pipoca. *Acta Scientiarum*, 24:1419-1425.

- Vilela, F.O., Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Barbé, T.C, Gravina, G.A. (2011) Stability of F_{7:8} snap bean progenies in the Northern and Northwestern regions of Rio de Janeiro State. *Horticultura Brasileira*, 29:84-90.
- Vilela, F.O., Amaral Júnior, A.T., Pereira, M.G., Scapim, C.A., Viana, A.P., Freitas Júnior, S.P. (2008) Effect of recurrent selection on the genetic variability of the unb-2u popcorn population using rapid markers. *Acta Scientiarum Agronomy*, 30:25-30.
- Warburton, M.L. (2002) Genetic characterization of CIMMYT inbred maize lines and open pollinated populations using large scale fingerprinting methods. *Crop Science*, Madison, 42(6):1832-1840.
- Weatherwax, P. (1954) Indian corn in old America. New York, USA: The MacMillan Co, 253p.
- Yu, K., Park, S.J., Poysa, V. (1999) Abundance and variation of microsatellite DNA sequences in beans (*Phaseolus* and *Vigna*). *Genome*, 42:27-34.
- Zhang, M., Mao, W., Zhang, G., Wu, F. (2014) Development and Characterization of Polymorphic EST-SSR and Genomic SSR Markers for Tibetan Annual Wild Barley. *PLoS ONE* 9(4): e94881.
- Ziegler, K.E., Ashman, B. (1994) Popcorn. In: Hallauer, A. (ed). *Specialty corns*. Iowa: CRC Press, 7:189-223.
- Zinsly, J.R., Machado, J.A. (1987) Milho-pipoca. In: Paterniani, E., Viégas, G. P. (eds.) *Melhoramento e Produção do Milho*. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill. p.413-421.