

MELHORAMENTO GENÉTICO VEGETAL

CORRELAÇÃO ENTRE HETEROSE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ESTIMADAS POR CRUZAMENTOS DIALÉLICOS E MARCADORES MOLECULARES RAPD EM POPULAÇÕES DE MILHO-PIPOCA ⁽¹⁾

DANILO ANTONIO RINALDI ⁽²⁾; VALÉRIA CARPENTIERI PÍPOLO ^(2*); ANTONIO CARLOS GERAGE ⁽³⁾; CLAUDETE DE FÁTIMA RUAS ⁽²⁾; NELSON DA SILVA FONSECA JÚNIOR ⁽³⁾; AGNELO DE SOUZA ⁽²⁾; SILVIA GRACIELE HÜLSE DE SOUZA ⁽²⁾,
DEOCLÉCIO DOMINGOS GARBUGLIO ⁽²⁾

RESUMO

Com o objetivo de correlacionar a heterose, estimada através de cruzamentos dialélicos, com a divergência genética obtida pelo uso de marcadores moleculares RAPD, oito populações de milho-pipoca (1-PASHA, 2-PAPA, 3-PAAPC, 4-PO, 5-ZL, 6-CMS 042, 7-RS 20 e 8-CMS 43) foram inter cruzadas em esquema dialélico completo, sem recíprocos, no ano agrícola de 2002/2003, gerando 28 híbridos. A avaliação dos híbridos foi realizada no ano agrícola de 2003/2004, em Londrina e Ponta Grossa, PR, em um ensaio com trinta e oito tratamentos, constituídos de vinte e oito combinações híbridas, oito parentais e duas testemunhas (IAC 112 e IAC TC01). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições. Foram avaliados seis caracteres: massa de grãos, capacidade de expansão, altura de planta, altura de espiga, prolificidade e florescimento feminino. Foi utilizada a técnica de RAPD para a obtenção das estimativas de distâncias genéticas entre as populações. Os resultados inferem em correlações positivas e significativas entre a divergência genética detectada pelos marcadores RAPD e massa de grãos, altura de plantas, altura de espiga e prolificidade, dos vinte e oito híbridos avaliados no dialélico em estudo. Para capacidade de expansão, florescimento e heterose percentual não foi detectada correlação significativa com a divergência genética.

Palavras-chave: Zea mays, capacidade de expansão, dialélico, Gardner e Eberhart, RAPD.

ABSTRACT

CORRELATION BETWEEN HETEROSIS AND GENETIC DIVERGENCE ESTIMATED OF DIALLEL CROSSES AND RAPD MOLECULAR MARKERS IN POPULATIONS OF POPCORN

The objective of this study was to correlate the heterosis evaluated by diallel complete design with the genetic divergence estimated through the use of RAPD markers. Eight popcorn populations (1-PASHA, 2-PAPA, 3-PAAPC, 4-PO, 5-ZL, 6-CMS 42, 7-RS 20 and 8-CMS 43) were intercrossed on a complete diallel scheme, without reciprocal crosses, during 2002/2003 summer season, resulting in 28 hybrids. Hybrid evaluations were accomplished in the 2003/2004 summer season, at Londrina and Ponta Grossa,

⁽¹⁾ Recebido para publicação em 19 de outubro de 2005 e aceito em 7 de dezembro de 2006.

⁽²⁾ Universidade Estadual de Londrina (UEL), Caixa Postal 6001, 86051-990 Londrina (PR). E-mail: dnrinaldi@yahoo.com.br; pipolo@uel.br (*) Autora correspondente; ruas@sercomtel.com.br; agnelosouza@hotmail.com; silviahulse@yahoo.com.br; deocleciodg@yahoo.com.br

⁽³⁾ Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR, Área de Melhoramento e Genética Vegetal, Caixa Postal 481, 86001-970, Londrina (PR) Brasil. E-mail: milhoger@iapar.br; nsfj@iapar.br

PR, in a trial with thirty-eight treatments, including all hybrid combinations, eight parentals and two controls (IAC 112 and IAC TC01). Complete randomized blocks design with tree replications was used. Traits evaluated were grain yield, popping expansion, plant height, ear height, ear prolificity and female flowering. RAPD was also used to estimate genetic distances among populations. The results infer in positive and significant correlations among the genetic divergence detected by RAPD molecular markers and the traits grain yield, plants height, ear height and ear prolificity of all hybrids evaluated on present diallel. For popping expansion, flowering and percentage heterosis no significant correlations with genetic divergence were detected.

Key words: Zea mays, popping expansion, diallel, Gardner and Eberhart.

1. INTRODUÇÃO

O milho-pipoca é um alimento muito apreciado no Brasil e, atualmente, em consequência do aprimoramento e da popularização de máquinas elétricas e fornos de microondas para o pipocamento do milho, constata-se aumento crescente na produção e no consumo. Estima-se que a produção nacional seja de aproximadamente 20.000 t, e o consumo atual em torno de 81.000 t de grãos (GALVÃO et al., 2000; PEREIRA e AMARAL JUNIOR, 2001).

Um dos maiores problemas enfrentados pelos produtores de milho-pipoca é a falta de opções de cultivares no mercado que reúnam boas características agronômicas com alto índice de capacidade de expansão. Para o processo de obtenção de novas cultivares de milho pipoca a síntese de híbridos é uma etapa fundamental.

Os métodos de cruzamentos dialélicos são de grande importância para os programas de melhoramento, pois fornecem dados que permitem a predição de médias e um conhecimento adequado sobre a capacidade de combinação de genótipos de milho (HALLAUER et al., 1988). Recentemente, trabalhos utilizando cruzamentos dialélicos para avaliar a capacidade combinatória de populações de milho pipoca foram realizados por SCAPIM et al. (2002) e ANDRADE et al. (2002).

A avaliação da divergência genética é muito utilizada pelos melhoristas de milho para a seleção de parentais. Esse método visa selecionar aqueles materiais mais promissores, diminuindo os gastos e o tempo necessário para a realização de várias combinações híbridas, muitas vezes desnecessárias. Os esforços são, portanto concentrados naquelas combinações provenientes entre os materiais mais divergentes.

O desenvolvimento de técnicas da biologia molecular permitiu a avaliação da divergência genética por meio de marcadores moleculares com algumas vantagens sobre os outros métodos, pois além de identificarem grande polimorfismo, sem interação ambiental, podem ser avaliados em qualquer estádio de desenvolvimento (WILLIAMS et al., 1990).

O objetivo deste estudo foi correlacionar a heterose, estimada por avaliações de cruzamentos dialélicos de um grupo de oito populações de milho pipoca, com a divergência genética obtida pelo uso de marcadores moleculares RAPD.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas oito populações de milho-pipoca do programa de melhoramento genético da Universidade Estadual de Londrina-UEL, procedentes de três gerações de seleção massal estratificada dentro de variedades locais, selecionadas em lavouras de agricultores no norte do Paraná (PÍPOLO et al., 2002), sendo elas: 1-PASHA, 2-PAPA, 3-PAAPC, 4-PO, 5-ZÉLIA (ZL) e 7-RS 20; e dois Compostos, 6-CMS 42 e 8-CMS 43, procedentes da EMBRAPA - CNPMS, Sete Lagoas(MG).

As oito populações de milho-pipoca foram inter cruzadas de acordo com um esquema dialélico completo, sem recíprocos, no ano agrícola de 2002/2003, nas áreas experimentais do Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR e da UEL em Londrina (PR), gerando 28 híbridos. A avaliação dos híbridos foi realizada no ano agrícola de 2003/04 no IAPAR em Londrina e Ponta Grossa (PR) e na UEL, Londrina (PR). O ensaio foi constituído de 38 tratamentos sendo 28 combinações híbridas, oito parentais e duas testemunhas (IAC 112 e IAC TC01). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com três repetições. As parcelas experimentais foram constituídas de duas linhas de 5 m de comprimento espaçadas de 0,9 m, consideradas como área útil da parcela, onde foram avaliados seis caracteres agrônômicos:

a) Massa de grãos (MG) - ajustado para kg ha^{-1} , com grau de umidade corrigido para 14,5%, a partir da pesagem dos grãos de todas as espigas colhidas na parcela.

b) Capacidade de expansão (CE) - Índice de expansão calculado pela divisão do volume de pipoca expandida pelo volume de grãos utilizados (40 cm^3).

c) Altura da planta (AP) - medida (cm) da superfície do solo até a inserção da folha bandeira.

d) Altura da espiga (AE) - medida (cm) da superfície do solo ao ponto de inserção da espiga superior.

e) Prolificidade (PROL) - determinada pela relação do número de espigas pelo estande final.

f) Florescimento Feminino (FF) - período (dias) decorrente da emergência à emissão dos estilogmas em mais de 50% das plantas da parcela útil.

Os dados foram submetidos à análise de variância individual e conjunta, com o auxílio do Programa Genes (CRUZ, 1997). A homogeneidade das médias estimadas foi analisada segundo o teste de SCOTT e KNOTT (1974) a 5% de probabilidade.

Para a avaliação do dialelo utilizou-se o modelo II de GARDNER e EBERHART (1966), seguindo as adaptações propostas por MORAIS et al. (1991), para análises considerando vários ambientes, conforme o modelo estatístico:

$$Y_{ijj'} = m + \frac{v_j + v_{j'}}{2} + e_i + \frac{ev_{ij} + ev_{ij'}}{2} + \theta \bar{h} + \bar{h}e_i + h_j + ch_{ij} + h_{j'} + ch_{ij'} + s_{jj'} + es_{ijj'} + \bar{e}_{ijj'}$$

Em que: $Y_{ijj'}$, é a média da variedade se $j = j'$ e do cruzamento se $j \neq j'$, no i -ésimo ambiente; e_i refere-se ao efeito de ambientes; ev_{ij} e $ev_{ij'}$ são os efeitos da interação ambiente x variedades; \bar{h} é o efeito de heterose média; $\bar{h}e_i$ refere-se ao efeito da interação ambiente x heterose média; \bar{h}_j e $\bar{h}_{j'}$ são os efeitos de heterose de variedades; ch_{ij} e $ch_{ij'}$ são os efeitos da interação ambiente x heterose de variedade; $s_{jj'}$ é o efeito de heterose específica, e $es_{ijj'}$ é o efeito da interação ambiente x heterose específica. Os parâmetros do modelo são definidos por analogia ao modelo de GARDNER e EBERHART (1966), em que, para $j = j'$ tem-se $\theta = 0$ e, para $j \neq j'$, $\theta = 1$.

As sementes foram colocadas para germinar em papel toalha umedecido. Após 7 dias, cada população foi representada por um bulk de folhas jovens de 15 plantas. O tecido foliar foi macerado em nitrogênio líquido e o DNA genômico extraído utilizando-se o protocolo de extração descrito por FERREIRA e GRATTAPAGLIA (1998). A quantificação do DNA ocorreu em fluorômetro Dyna-Quant (Hoefel-Pharmacia) e diluído a uma concentração final de 10 ng/ μ l.

As reações de amplificação foram feitas em um volume final de 15 μ l, contendo tampão 1X (75 mM de Tris-HCl pH 9,0, 50 mM de KCl e 2,0 mM de $(NH_4)_2SO_4$), 0,1 mM de cada dNTP, 0,5 mM de primer, 0,7 unidade de Taq DNA polimerase (Biotools) e 20 ng de DNA e água ultrapura para completar o

volume. As amplificações foram realizadas em termociclador modelo PT-100 (MJ Research, Massachusetts, USA), programado para uma etapa inicial de 3 minutos a 94°C, 47 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1,45 minutos a 38°C, 2 minutos a 72°C e uma etapa final de 6 minutos a 72°C. Após a amplificação, o volume total foi inserido em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio (0,5 μ g μ L⁻¹). Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em tampão TAE (Tris-acetato 0,04M e EDTA 0,01M pH 7.5) a 100 V por 3 horas. Os produtos da amplificação foram visualizados em luz ultravioleta e as imagens dos géis, transferidas para um microcomputador para análises.

Nas reações de RAPD foram utilizados 26 primers decanucleotídeos (Operon Technologies, California, USA) pré-selecionados (Tabela 1). Foi construída uma matriz de similaridade onde cada banda foi tratada como um caráter único sua presença designada por 1 (um) e a ausência por 0 (zero). Utilizou-se o programa NTSYS versão 2.1 (ROHLE, 2000) para avaliar as associações genéticas entre as populações. Com base no coeficiente de similaridade de Jaccard (JACCARD, 1901) foram feitas comparações duas a duas, entre os genótipos. A estimativa da similaridade genética (SG) entre cada par de genótipos foi efetuada utilizando a expressão $\frac{a}{a+b+c}$.

Em que, a = presença das bandas nos dois indivíduos (1,1); b = indica ausência e presença de bandas, respectivamente (0,1) e c = indica presença e ausência de bandas respectivamente (1,0). A representação simplificada das distâncias foi feita por meio de um dendrograma obtido pelo método UPGMA.

Tabela 1. Lista dos 26 primers utilizados nas oito populações analisadas

OPAD 05	OPY 11
OPAD 06	OPAW 06
OPAR 05	OPAW 11
OPAR 11	OPAW 18
OPAR 15	OPAW 19
OPAR 16	OPW 03
OPAT 08	OPW 08
OPAT 13	OPW 09
OPAV 13	OPW 17
OPAV 19	OPAX 07
OPAU 12	OPAX 10
OPAU 19	OPAX 14
OPP 05	OPAX 16

Para verificar a confiabilidade do dendrograma obtido foi feita a análise co-fenética, que informa o grau de concordância entre o dendrograma obtido e a matriz de dissimilaridade/similaridade original através do estabelecimento de uma correlação entre os valores reais da matriz e os valores do dendrograma. A análise co-fenética foi realizada usando o teste de correspondência de Mantel (MANTEL, 1967).

O procedimento de *bootstrap* foi aplicado para calcular a variância das similaridades genéticas obtidas a partir dos marcadores e, assim, verificar a consistência do dendrograma obtido. O coeficiente de variância foi obtido a partir de 1000 sorteios de bootstraps a partir do Simple Matching Coefficient (GOVER, 1985), usando o programa DBOOT, versão 1.1 (COELHO, 2001b). Na avaliação do dendrograma, com base em estimativas de similaridades genéticas por meio de sorteios de bootstrap, foi utilizado o programa BOOD 3.0 (COELHO, 2001a).

A relação entre as distâncias genéticas de Jaccard e as médias observadas no dialelo foram

avaliadas pela correlação de Pearson, utilizando o Programa Genes (CRUZ, 1997). Foram estimadas também as correlações entre a distância genética dos parentais e a heterose apresentada pelos intercruzamentos. A significância das correlações foi verificada pelo teste t.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quadrados médios obtidos pela análise de variância conjunta para os caracteres massa de grãos (PG), capacidade de expansão (CE), altura de planta (AP), altura de espiga (AE), prolificidade (PRO) e florescimento (FF), em três ambientes são apresentados na tabela 2.

Os coeficientes de variação (CV%) oscilaram entre 2,54% para FF, e 16,03% para PG (Tabela 2), revelando elevados níveis de precisão experimental para ensaios desenvolvidos em campo. Esses valores enquadram-se nos limites aceitáveis, sendo considerados como baixos e médios segundo as classificações propostas por GOMES (1985) e SCAPIM et al. (1995).

Tabela 2. Quadrado médio, CV (%), valor médio e heterose média de seis caracteres em 8 populações de milho-pipoca, avaliados em três ambientes no Estado do Paraná, no ano agrícola de 2003/04 e analisados segundo dialelo completo, modelo II de GARDNER e EBERHART (1966), seguindo as adaptações de MORAIS et al. (1991)

F.V.	GL	MG	CE	AP	AE	PRO	FF
		kg ha ⁻¹	v/v	cm	cm	esp/planta	dias
Ambientes (Amb)	2	415,49 **	126,41 **	34647,83 **	6880,41 **	0,247 **	994,35 **
Tratamentos (Trat)	35	6,32 **	1,94 ns	530,20 **	401,25 **	0,046 **	9,63 **
Parentais (Par)	7	21,63 **	6,29 **	2265,18 **	1656,63 **	0,147 **	34,66 **
Heterose (H)	28	2,49 *	0,85 ns	96,46 ns	87,41 ns	0,021 ns	3,37 ns
Heterose Média (\bar{h})	1	34,15 **	0,89 ns	405,48 *	310,34 ns	0,068 ns	11,99 *
Heterose Parentais (h.Par)	7	2,56 ns	0,41 ns	45,29 ns	54,36 ns	0,027 ns	3,92 ns
Heterose Específica (hi,j)	20	0,88 ns	1,00 ns	98,92 ns	87,83 ns	0,016 ns	2,75 ns
Trat. x Amb.	70	1,12 ns	0,59 ns	45,31 ns	47,98 ns	0,015 ns	1,30 ns
Par. x Amb	14	1,34 ns	1,08 ns	35,76 ns	52,70 ns	0,020 ns	2,27 ns
Heterose x Amb.	56	1,07 ns	0,46 ns	47,70 ns	46,80 ns	0,013 ns	1,06 ns
x Amb	2	3,13 ns	0,04 ns	15,79 ns	20,65 ns	0,009 ns	0,12 ns
\bar{h} . Par x Amb	14	0,87 ns	0,12 ns	53,51 ns	47,02 ns	0,015 ns	1,56 ns
hi,j x Amb	40	1,03 ns	0,60 ns	47,26 ns	48,03 ns	0,013 ns	0,93 ns
RESIDUO	222	1,49	1,36	91,20	100,87	0,026	2,60
Média Geral		2410	21,97	214	109	1,36	63
Média Parentais		2077	21,55	211	106	1,31	64
Média Híbridos		2505	22,10	215	110	1,37	63
Média Testemunhas		2432	24,82	219	105	1,46	61
CV (%)		16,03	13,18	4,45	9,25	11,85	2,54
Heterose média		427,69	21,79	4,66	4,08	0,06	-0,801

*, **: significativo a 5% e a 1% pelo teste F respectivamente. ns: não significativo (P<0,05),
MG x105 CE x104

Diferenças altamente significativas ($P < 0,01$) entre os tratamentos foram detectadas pelo teste F para efeitos de ambientes, híbridos e parentais, considerando todos os caracteres avaliados, exceto para CE, com diferença significativa ao nível de 5% para híbridos. A alta significância detectada para o efeito de ambientes já era esperada, considerando as condições edafoclimáticas distintas de Ponta Grossa e Londrina.

Para todos os caracteres diferenças significativas do efeito de parentais evidenciam que os parentais não constituem grupo homogêneo. Segundo HALLAUER et al. (1988) o efeito de variedades está relacionado aos componentes aditivos das médias e o da heterose relaciona-se aos componentes de dominância.

Com o efeito de heterose e seus desdobramentos, para a fonte de variação MG, detectou-se significância ($P < 0,05$) para heterose total ($h_{i,j}$) e alta significância ($P < 0,01$) para heterose média (\bar{h}), constatando-se que o desempenho dos híbridos foi superior, em média, ao obtido pelas populações *per se*. Para as características AP e FF foram detectadas diferenças significativas ($P < 0,05$) para \bar{h} . VENCOVSKY (1970) cita que quando o quadrado médio da \bar{h} é significativo, a variância das frequências gênicas entre as variedades é suficientemente grande em pelo menos parte dos locos com dominância, e as variedades nessas condições são divergentes para esses locos. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas nas interações entre ambientes e híbridos, parentais e heteroses, indicando comportamento constante dos parentais e seus híbridos nos ambientes estudados.

As médias dos caracteres agrônômicos dos parentais, testemunhas e dos híbridos foram agrupados pelo teste de SCOTT e KNOTT (1974) a 5% de probabilidade (Tabela 3). Verifica-se que, para MG, houve a separação em três grupos, e na população ZL ocorreu a menor produtividade formando um grupo isolado. Observa-se que a produção de grãos dos cruzamentos ficou compreendida entre um máximo de 3323 kg ha⁻¹ (CMS 42 x CMS 43) e um mínimo 1836 kg ha⁻¹ (PASHA x ZL). Destaca-se, ainda, que nos cruzamentos cuja população CMS 43 estava como parental houve valores expressivos de produtividade, e a heterose % média ficou compreendida entre 11,76% (PO x CMS 43) e 67,31 (ZL x CMS 43). Ainda no cruzamento entre ZL x CMS 43 ocorreu também alta produtividade (3.010 kg ha⁻¹).

Ainda para MG, os valores de 3323 kg ha⁻¹ no cruzamento CMS 42 x CMS 43 e 2787 kg ha⁻¹ no cruzamento PAPA x CMS 42 foram superiores aos parentais e equivalentes à testemunha IAC 112, segundo o teste de Scott e Knott.

Segundo Vencovsky (1970), a capacidade específica de combinação (s_{ij}) é interpretada como o desvio de um híbrido em relação ao que seria esperado nas capacidades gerais de combinação de seus parentais. Os maiores valores são para as variedades mais divergentes nas frequências dos genes com dominância, embora sejam também influenciados pela frequência gênica média do dialelo. No presente estudo, foram obtidos valores de s_{ij} , variando de -310,73 kg ha⁻¹ (CMS 42 x RS 20) a 338,60 kg ha⁻¹ (PASHA x CMS 42).

Embora na CE dos híbridos tenha ocorrido variação de 18,46, para o híbrido 6x8 (CMS 42 x CMS 43) a 25,69 para o híbrido 5x8 (ZL x CMS 43), não houve diferença significativa. Entre os parentais, na população CMS 42 houve menor CE, 16,10. ZINSLY e MACHADO (1987) preconizam que o valor mínimo da capacidade de expansão de uma variedade comercial deve ser 15 e GAMA et al. (1990) consideram que um bom cultivar de milho-pipoca deve ter capacidade de expansão acima de 25. A média geral de CE obtida neste trabalho foi de 22,13. Segundo PACHECO et al. (1998), LARISH e BREWBAKER (1999), PEREIRA e AMARAL JUNIOR (2001) e SIMON (2000), há predominância de efeitos aditivos e alta herdabilidade no sentido restrito para essa característica. Esses autores relatam que existe potencial de ganho genético para CE através de melhoramento intrapopulacional.

Os valores de AP ficaram compreendidos em um intervalo de 195 cm.planta⁻¹ a 240 cm planta⁻¹ e AE de 91 cm planta⁻¹ a 129 cm planta⁻¹. Para PRO, observaram-se nos genótipos valores de 1,17 a 1,57 espigas/planta. Verificou-se que os híbridos com maior PG tiveram maiores valores de PRO. Para FF houve variação de 61 a 67 dias, com média de 63 dias para híbridos; inferior à média observada nos parentais, 64 dias.

Com relação aos valores dos efeitos de variedades (v_i), efeitos de heterose de variedades (h_i) e capacidade geral de combinação (g_i), para PG, destacaram-se as populações CMS 42 e CMS 43, com valores altos e positivos de v_i e h_i implicando, assim, altos valores de g_i (Tabelas 4 e 5). Esse é um dos fatores que explicam a presença dessas populações em todas as combinações com maiores valores de PG. MIRANDA FILHO e VENCOVSKY (1984) relataram ser o efeito de variedades (v_i), o mais importante para a seleção de populações quando o efeito de heterose de variedades for não significativo. Todavia, argumentam também que o efeito de heterose de variedades (h_i) tem importância quando se observam valores de heterose negativos. CRUZ e VENCOVSKY (1989) citam que haverá maior g_i na população que possuir maior frequência de alelos favoráveis. Na população ZL, embora tenha se observado um valor considerável de h_i (154,9 kg ha⁻¹), houve valor altamente negativo de v_i , o que prejudicou a g_i dessa população.

Tabela 3. Médias de MG (kg ha⁻¹), CE (v/v), AP (cm), AE (cm), PRO (espiga/planta) e FF (dias) agrupadas pelo teste de SCOTT e KNOTT a 5% de probabilidade, heterose percentual média (%) e capacidade específica de combinação (s_{ij}) para MG, dos cruzamentos entre 8 populações de milho-pipoca. Paraná, 2003/2004.

Cruzamento		MG			CE	AP	AE	PRO	FF	
P ₁	P ₂	kg	h%	s _{ij}	v/v	cm	cm	esp/pla	dias	
1	x	2	2248 b	19,50	68,57	22,94 a	209 c	94 b	1,307 b	64 b
1	x	3	1986 b	10,73	-61,65	22,00 a	210 c	104 b	1,172 b	64 b
1	x	4	2160 b	-4,36	-65,53	23,85 a	200 c	103 b	1,380 a	63 c
1	x	5	1836 b	6,62	-258,83	23,96 a	214 c	105 b	1,273 b	66 a
1	x	6	2977 a	38,58	338,60	21,62 a	227 b	113 a	1,449 a	64 b
1	x	7	2232 b	4,92	9,32	22,17 a	201 c	102 b	1,238 b	63 c
1	x	8	2927 a	30,43	-30,49	24,85 a	234 a	124 a	1,461 a	64 b
2	x	3	1962 b	9,77	-149,61	21,48 a	195 c	91 b	1,274 b	62 c
2	x	4	2486 b	14,90	197,16	21,68 a	205 c	108 b	1,300 b	62 c
2	x	5	2158 b	21,57	-0,67	24,49 a	208 c	104 b	1,249 b	64 b
2	x	6	2787 a	27,27	84,88	18,43 a	221 b	117 a	1,367 a	63 c
2	x	7	2162 b	8,47	-125,18	21,87 a	205 c	97 b	1,179 b	60 c
2	x	8	2946 a	44,36	-75,15	21,81 a	218 b	110 b	1,487 a	64 b
3	x	4	2167 b	1,88	9,39	24,23 a	215 c	110 b	1,402 a	63 c
3	x	5	2072 b	29,66	44,84	21,83 a	210 c	95 b	1,388 a	62 c
3	x	6	2581 b	21,90	9,77	22,61 a	234 a	124 a	1,426 a	65 b
3	x	7	2340 b	18,37	184,25	24,04 a	206 c	104 b	1,326 b	61 c
3	x	8	2852 a	27,59	-37,00	22,43 a	224 b	117 a	1,512 a	64 b
4	x	5	2208 b	15,36	3,54	20,79 a	210 c	107 b	1,270 b	64 b
4	x	6	2584 b	-3,27	-163,81	20,06 a	226 b	122 a	1,430 a	63 c
4	x	7	2381 b	1,32	48,71	21,04 a	199 c	105 b	1,410 a	62 c
4	x	8	3037 a	11,76	-29,46	20,89 a	221 b	111 b	1,502 a	64 b
5	x	6	2816 a	47,21	198,74	21,87 a	225 b	113 a	1,463 a	63 c
5	x	7	2140 b	32,21	-61,77	22,93 a	207 c	102 b	1,387 a	62 c
5	x	8	3010 a	67,31	74,14	25,69 a	240 a	126 a	1,444 a	67 a
6	x	7	2435 b	0,12	-310,73	19,05 a	210 c	112 a	1,231 b	61 c
6	x	8	3323 a	41,43	-157,45	18,46 a	238 a	129 a	1,516 a	67 a
7	x	8	3320 a	48,50	255,40	21,84 a	221 b	121 a	1,572 a	63 c
1	PASHA		1999 b	-	-	23,17 a	207 c	104 b	1,292 b	63 c
2	PAPA		1861 b	-	-	20,12 a	197 c	91 b	1,180 b	61 c
3	PAA.PC		1722 b	-	-	24,02 a	206 c	93 b	1,282 b	65 b
4	PO		2363 b	-	-	22,80 a	202 c	101 b	1,547 a	63 c
5	ZL		1336 c	-	-	24,40 a	207 c	104 b	1,051 b	66 a
6	CMS 42		2471 b	-	-	16,10 b	243 a	135 a	1,363 a	66 a
7	RS.20		2151 b	-	-	21,25 a	192 c	92 b	1,251 b	62 c
8	CMS 43		2713 b	-	-	20,57 a	231 a	125 a	1,527 a	67 a
T 1	IAC 112		2888 a	-	-	24,67 a	232 a	112 b	1,64 b	61 c
T 2	IAC TC01		1976 b	-	-	24,95 a	206 c	98 b	1,27 b	61 c

Médias seguidas de uma mesma letra na vertical, não diferem entre si, pelo teste de agrupamento de médias de Scott e Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Matriz de divergência genética entre as 8 populações de milho-pipoca, analisadas duas a duas para oito populações de milho pipoca no ano agrícola de 2003/2004

	PASHA	PAPA	PAAPC	PO	ZL	CMS 42	RS 20	CMS 43
PASHA	-							
PAPA	0.19	-						
PAAPC	0.23	0.21	-					
PO	0.27	0.25	0.30	-				
ZL	0.30	0.27	0.24	0.19	-			
CMS 42	0.31	0.30	0.34	0.30	0.33	-		
RS 20	0.35	0.35	0.37	0.28	0.31	0.35	-	
CMS 43	0.36	0.35	0.39	0.31	0.35	0.29	0.40	-

Tabela 5. Valores de efeito de variedades (v_i), efeito de heterose de variedades (h_i) e capacidade geral de combinação (g_i) de seis caracteres estimados segundo modelo II de GARDNER e EBERHART (1966)

	MG			CE			AP			AE			FF			PRO		
	v_i	h_i	g_i	v_i	h_i	g_i	v_i	h_i	g_i	v_i	h_i	g_i	v_i	h_i	g_i	v_i	h_i	g_i
PASHA	-77,6	-155,8	-194,6	1,6	0,3	1,1	-4,1	-0,1	-2,2	-1,7	-2,9	-3,7	-1,5	1,4	0,6	-0,02	-0,04	-0,05
PAPA	-216,3	-22,4	-130,6	-1,4	0,4	-0,3	-13,3	-1,2	-7,9	-15,0	-0,1	-7,6	-3,0	0,6	-0,9	-0,13	-0,01	-0,07
PAAPC	-355,2	-84,6	-262,2	2,5	-0,6	0,7	-4,3	-0,3	-2,5	-13,0	2,7	-3,8	1,4	-1,0	-0,3	-0,03	0,00	-0,02
PO	286,3	-228,1	-84,9	1,2	-1,0	-0,4	-8,5	-1,0	-5,3	-4,5	2,0	-0,3	-1,4	0,2	-0,6	0,24	-0,10	0,02
ZL	-741,3	154,9	-215,8	2,8	-0,3	1,1	-3,5	2,7	1,0	-1,2	-1,9	-2,5	2,1	-0,2	0,9	-0,26	0,11	-0,02
CMS 42	394,4	131,1	328,3	-5,5	0,6	-2,1	31,8	-3,9	12,0	29,5	-4,4	10,4	1,6	-0,3	0,5	0,05	0,02	0,05
RS 20	74,3	-124,3	-87,2	-0,3	-0,1	-0,3	-18,4	-0,5	-9,8	-13,9	2,8	-4,1	-2,4	-0,6	-1,8	-0,06	-0,01	-0,04
CMS 43	635,6	329,2	646,9	-1,0	0,7	0,2	20,5	4,3	14,6	19,8	1,7	11,6	3,3	0,0	1,6	0,22	0,04	0,15

Para CE, nas populações CMS 42 e CMS 43 verificaram-se valores relativamente baixos para g_i , resultado de valores negativos do efeito v_i . Em fato explica os resultados nas combinações, cujas essas populações não contribuíram para o aumento da CE. Na população ZL, com o maior valor demonstrado para CE, ocorreu um dos menores valores de g_i para PG, o que era previsto, em virtude da existência de correlação negativa entre essas características (VERMA e SINGH 1979; DOFING et al., 1991; SILVA et al., 1993; ANDRADE, 1995; SAWAZAKI, 1996; SIMON, 2000; PIPOLO et al., 2002).

Em vista da alta participação da SQ de parentais dentro da SQ de tratamentos (85%, 83% e 72%, respectivamente), para os caracteres AP, AE e FF, tem maior importância o valor do efeito de variedades (v_i). Como para esses caracteres a ênfase é a obtenção de cultivares de ciclo precoce e porte baixo, a preferência deve recair sobre as populações com os menores valores de v_i , verificados nas populações RS 20 (-18,4; -13,9 e -2,4 respectivamente) e PAPA (-13,3; -15,0 e -3,0 respectivamente). Segundo HALLAUER et al. (1988) para os caracteres AP e FF, valores negativos e menores para estimativas de parâmetros são altamente desejáveis, pois contribuem por meio do modelo aditivo reduzindo a média de AP e FF das populações. Para PRO, os valores de v_i foram muito próximos e

apenas as populações PO e CMS 43 houve valores expressivos de 0,24 e 0,22 respectivamente.

A diversidade genética foi estimada utilizando-se marcadores RAPD. Os 26 *primers*, utilizados geraram um total de 250 fragmentos amplificados - bandas (Tabela 1), com média de 9,62 bandas por *primer*. Desses, 189 foram polimórficos (7,27 bandas por iniciador) e 61 foram monomórficos (2,35 bandas por iniciador). O nível de polimorfismo (75,6%) obtido foi superior a alguns relatos encontrados na literatura, como MELO (2000) que, trabalhando com híbridos de milho, obteve 61,46% de bandas polimórficas. É importante considerar que o nível de polimorfismo a ser obtido depende do grau de divergência entre os genótipos estudados.

As 250 bandas utilizadas podem ser consideradas suficientes para uma avaliação adequada da divergência genética. De acordo a figura 1, através do método *bootstrap*, observou-se que ocorre uma estabilização do coeficiente de variação das distâncias genéticas (5,2%) entre os parentais.

Partindo das 189 bandas polimórficas obtidas, foi montada a matriz de distâncias genéticas, pelo complemento do coeficiente de similaridade de Jaccard, relacionando todos os pares de parentais.

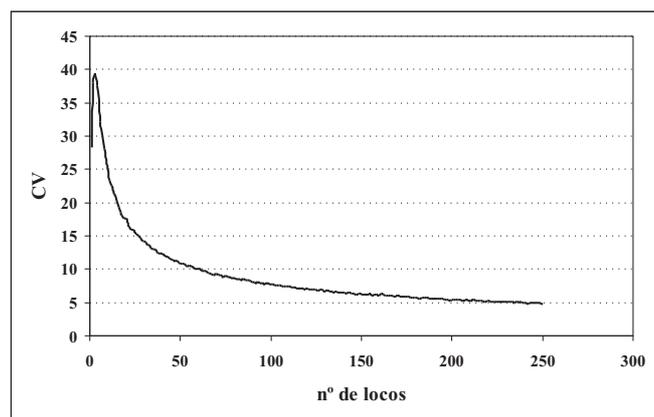


Figura 1. Coeficiente de variação para o número de marcadores, estimados a partir de 1000 sorteios *bootstrap*.

Na figura 2, está representado o agrupamento dos parentais, conforme o método de UPGMA por meio de um dendrograma, onde se observa a distribuição das populações, formando quatro grupos distintos de divergência.

Com base na tabela 4, validou-se a utilização da análise de divergência genética por marcadores RAPD, uma vez que a menor divergência (0,19) foi observada em cruzamentos entre as populações pertencentes aos mesmos grupos de divergência (PASHA x PAPA) 1 x 2 e (PO x ZL) 4 x 5. Esses resultados já eram esperados, pois nas associações entre as populações pertencentes ao mesmo grupo de divergência observaram-se médias de divergência genética menores do que a associação entre grupos distintos. A maior divergência (0,40) foi observada no

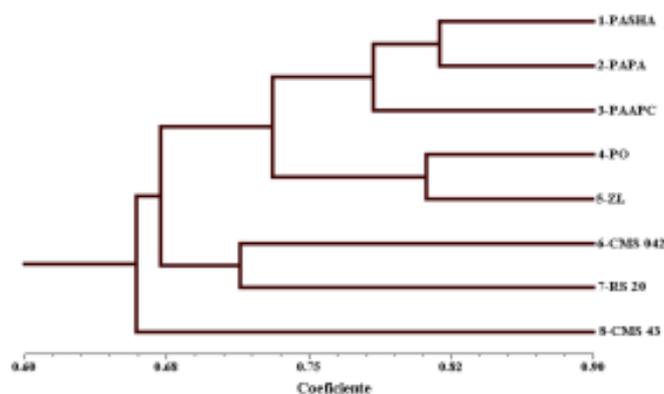


Figura 2. Agrupamento por UPGMA das 8 populações de milho pipoca baseado nas similaridades genéticas de Jaccard a partir dos dados de RAPD.

cruzamento (RS 20 x CMS 43) 7 x 8, populações pertencentes a grupos de divergência distintos.

Considerando as distâncias genéticas detectadas pelos marcadores RAPD, o primeiro grupo de divergência é composto pelas populações 1, 2 e 3; o segundo grupo pelas populações 4 e 5; o terceiro pelas populações 6 e 7; e o último formado pela população 8.

As correlações entre as divergências genéticas detectadas por RAPD e as médias observadas em cruzamento dialélico foram positivas e significativas para as características PG ($r=0,5196$), AP ($r=0,4038$), AE ($r=0,5111$) e PRO ($r=0,4276$). Para as características CE ($r=0,1436$), FF ($r= -0,0045$) e heterose percentual para PG ($r=0,3126$), não foram observadas significâncias para as correlações pelo teste t (Tabela 6).

Tabela 6. Correlação entre a divergência genética detectada por RAPD e as médias dos cruzamentos dialélicos para os caracteres: Massa de grãos (MG), Capacidade de Expansão (CE), Altura de Plantas (AP), Altura de Espigas (AE), Florescimento Feminino (FF) e Prolificidade (PRO).

	Ambiente 1	Ambiente 2	Ambiente 3	Conjunta
Divergência x Massa de grãos	0,4768 **	0,5156 **	0,3081 ns	0,5196 **
Divergência x h% Massa de grãos	0,1923 ns	0,0453 ns	0,2924 ns	0,3126 ns
Divergência x Capacidade de Expansão	0,0387 ns	-0,1223 ns	0,2305 ns	0,1282 ns
Divergência x h% Capacidade de Expansão	0,4124 *	0,2658 ns	0,3693 ns	0,5075 **
Divergência x Altura de Plantas	0,3626 ns	0,2769 ns	0,4707 *	0,4038 *
Divergência x Altura de Espigas	0,3883 *	0,4452 *	0,5019 **	0,5111 **
Divergência x Florescimento Feminino	-0,0002 ns	0,0041 ns	-0,0197 ns	-0,0045 ns
Divergência x Prolificidade	0,2713 ns	0,1078 ns	0,4732 *	0,4276 *
Massa de Grãos x Capacidade de Expansão	-0,4478 *	-0,1389 ns	-0,0113 ns	-0,2542 ns
Massa de Grãos x h% MG	0,6017 **	0,5334 **	0,8850 **	0,6528 **
Massa de Grãos x Sij	0,3853 *	0,5891 **	0,6880 **	0,3480 ns
h% MG x Sij MG	0,6702 **	0,7170 **	0,5920 **	0,4657 *
Divergência x Sij MG	0,0972 ns	0,2194 ns	-0,1534 ns	0,0910 ns

** , * : Significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

De acordo com os resultados verificados no dialelo para PG pôde-se notar que as combinações com maiores valores foram decorrentes de combinação de materiais presentes em grupos de divergência distintos (6 x 8, 7 x 8, 4 x 8, 5 x 8, 1 x 6, 2 x 8, 1 x 8, 3 x 8, 5 x 6 e 2 x 6). A maior média observada para PG foi na combinação 6 x 8 com 3.323 kg ha⁻¹, com divergência genética entre os parentais de 0,40. LANZA et al. (1997), utilizando linhagens endogâmicas de milho tropical, também observaram correlações positivas entre as distâncias genéticas com base em RAPD e a produtividade de grãos de híbridos simples de milho.

Os altos valores de divergência genética constatados para a população 8 (CMS 43), em relação às demais populações avaliadas, confirmam-se pela sua presença em todas as combinações dialélicas com elevados valores de PG, valores altos e positivos de v_i e h_i e, conseqüentemente, altos valores de g_i para essa característica. Os maiores valores de g_i também aparecem quando consideramos as características AP, AE e PRO.

4. CONCLUSÕES

1. Os resultados inferem em correlações positivas e significativas entre a divergência genética, detectada pelos marcadores moleculares RAPD, e os caracteres massa de grãos, altura de planta, altura de espiga e prolificidade dos vinte e oito híbridos avaliados no dialelo em estudo.

2. Para os valores de capacidade de expansão, florescimento e heterose percentual não são constatadas correlações significativas com a divergência genética.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e à CAPES pelo suporte financeiro, por meio de bolsa de estudos durante a realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, R.A. **Cruzamentos dialélicos entre seis variedades de milho-pipoca**. 1995. 79p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, UFV, 1995.

ANDRADE, R.A.; CRUZ, C. D.; SCAPIM, C. A.; SILVÉRIO, L.; PINTO, R. J. B.; TONET, A. Análise dialélica da capacidade combinatória de variedades de milho-pipoca. *Acta Scientiarum*, Maringá, v.24, n.5, p.1197-1204, 2002.

COELHO, A.S.G. **BOOD**: Avaliação de dendrogramas baseada em estimativas de distancias/similaridades genéticas através

do procedimento de bootstrap. Versão 3.0. Goiânia: Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, 2001b.

COELHO, A.S.G. **DBOOT**: Avaliação dos erros associados a estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap com número variável de marcadores, versão 1.1. Goiânia: Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, 2001a.

CRUZ, C.D. **Programa Genes**: Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1997. 442p.

CRUZ, C.D.; VENCOSKY, R. Comparação de alguns métodos de análise dialélica. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.12 p. 425-438, 1989.

DOFING, S.M.; D`CROZ-MANSON, N.; THOMAS COMPTON, M.N. Inheritance of expansion volume and yield in two popcorn x dent-corn crosses. *Crop Science*, Madison, v. 31, n. 3, p. 715-18, 1991.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise dialélica**. 3.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1998. 220p. (Documento 2)

GALVÃO, J.C.C.; SAWAZAKI, E.; MIRANDA, G.V. Comportamento de híbridos de milho-pipoca em Coimbra, Minas Gerais. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 47, n. 270, p. 201-218, 2000.

GAMA, E.E.G.; MAGNAVACA, R.; SILVA, J.B.; SANS, L.M.A.; VIANA, P.A.; PARENTONI, S.N.; PACHECO, C.A.P.; CORREA, L.A.; FERNANDES, F.T. Milho-pipoca. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 14, n. 165, 1990. p. 12-16.

GARDNER, C.O.; EBERHART, S.A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics*, Washington, v. 22, n. 3, p. 439-452, 1966.

GOMES, F.P. **Curso de Estatística Experimental**. São Paulo: USP/ESALQ, 1985. 467p.

GOVER, J.C. Measures of similarity, dissimilarity, and distance. In: KOTS, S.; JOHNSON, N.L. *Sciences Encyclopedia of Statistical*, New York, v. 5, p 397-405, 1985.

HALLAUER, A.R.; RUSSEL, W.A.; LAMKEY, K.R. Corn breeding. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. **Corn and corn improvement**. 3. ed. Madison, 1988. p.463-564.

JACCARD, P. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. *Bulletin de la Société Voudoise des Sciences Natureller*, Payot, v.37, p.547-579. 1901.

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

- LARISH, L.L.B.; BREWBAKER, J.L. Diallel analysis of temperate and tropical popcorns. **Maydica**, Bergamo v.44, p.279-284, 1999.
- MANTEL, M. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, Chestnut, v.27, p.209-220, 1967.
- MELO, W.M.C. **Divergência genética e capacidade de combinação entre híbridos de milho**. 2000, 73f. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- MIRANDA FILHO, J.B.; VENCOVSKY, R. Analysis of diallel crosses among open-pollinated varieties of maize (*Zea mays* L.). **Maydica**, Bergamo, v.29, p.217-234, 1984.
- MORAIS, A.R.; OLIVEIRA, A.C.; GAMA, E.E.G.; SOUZA JÚNIOR, C.L. A method for combined analysis of the diallel crosses repeated in several environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.3, p.371-381, 1991.
- PACHECO, C.P.; GAMA, E.E.G.; GUIMARÃES, P.E.O.; SANTOS, M.X.; FERREIRA, A.S. Estimativas de parâmetros genéticos nas populações CMS-42 e CMS-43 de milho pipoca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.12, p. 1995-2001, 1998.
- PEREIRA, M.G.; AMARAL JÚNIOR, A.T. Estimation of Genetic components in popcorn based on nested Design. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 3-10, 2001.
- PIPOLO, V.C.; TAKAHASHI, H.W.; ENDO, R. M.; PETEK, M. R.; SEIFERT, A. L. Correlações entre caracteres quantitativos em milho pipoca. **Horticultura Brasileira**, Brasília v. 20, n. 4, p. 551-554, 2002.
- ROHLF, F.J. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, version 2.1 . Owner manual. 2000.
- SAWAZAKI, E. **Parâmetros genéticos em milho-pipoca**. 1996, 157f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, Piracicaba, 1996.
- SCAPIM, C.A.; CARVALHO, C.G.P.; CRUZ, C.D. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 5, p. 683-686, 1995.
- SCAPIM, C.A.; PACHECO, C.A.P.; TONET, A.; BRACCINI, A.L.; PINTO, R.J.B. Análise dialélica e heterose de populações de milho pipoca. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n.3, p. 219-230, 2002.
- SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis methods for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p.507-512, 1974.
- SILVA, W.J.; VIDAL, B.C.; MARTINS, M.E.Q.; VARGAS, H.; PEREIRA, A.C.; ZERBETTO, M.; MIRANDA, L.C.M. What makes popcorn pop. **Nature**, London, v. 362, p. 417, 1993.
- SIMON, G.A. Depressão por endogamia em populações de milho-pipoca (*Zea mays* L.), 2000, 53 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá - UEM.
- VENCOVSKY, R. **Alguns aspectos teóricos e aplicados relativos a cruzamentos dialélicos de variedades**. 1970, 59p. Livre Docência - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, Piracicaba.
- VENDRUSCOLO, E.C.G.; SCAPIM, C.A.; PACHECO, C.A.P.; OLIVEIRA, V.R.O.; BRACCINI, A. de L.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho-pipoca na região Centro Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.1, p.123-130, 2001.
- VERMA, R.K.; SINGH, T.P. Inter-relations among certain quantitative traits in popcorn. **Mysore Journal Agricultural Science**, Madison, v. 13, p.15-18, 1979.
- WILLIAMS, J.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.G.; RAFALKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 18, n.22, p.6531-6535, 1990.
- ZINSLY, J.R.; MACHADO, J.A. Milho-pipoca. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. **Melhoramento e produção do milho**. 2 ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987.v.2, p.413-421.