MELHORAMENTO GENÉTICO VEGETAL - Artigo

Dissimilaridade genética e definição de grupos de recombinação em progênies de meios-irmãos de milho-verde

Genetic dissimilarity and definition of recombination clusters among green corn half-sib progenies

Danilo Fernando Guimarães Silva¹, Caroline de Jesus Coelho¹, Cristiane Romanek¹, José Raulindo Gardingo², Anderson Rodrigo da Silva³, Brenda Luiza Graczyki¹, Eduardo Augusto Teixeira Oliveira¹, Rodrigo Rodrigues Matiello^{1,2*}

- 1. Universidade Estadual de Ponta Grossa Programa de Pós-Graduação em Agronomia Ponta Grossa (PR), Brasil.
- 2. Universidade Estadual de Ponta Grossa Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade Ponta Grossa (PR), Brasil.
- 3. Instituto Federal Goiano Agronomia Urutaí (GO), Brasil.

RESUMO: O presente trabalho objetivou estimar a divergência genética entre progênies de meios-irmãos de milho visando direcionar a recombinação entre progênies contrastantes e superiores para a produção de milho-verde. Noventa e seis progênies foram avaliadas no delineamento de blocos casualizados com 3 repetições, sendo mensuradas 18 características associadas à adaptação agronômica e ao rendimento de milho-verde. A divergência genética foi estimada a partir da distância quadrada generalizada de Mahalanobis e as progênies agrupadas pelos métodos UPGMA e de Tocher. A análise de variância conjunta evidenciou variabilidade genética entre as progênies para as características. O método UPGMA foi mais sensível que o de Tocher, pois levou à formação de 11 grupos geneticamente dissimilares em comparação com os 5 de Tocher. O agrupamento identificou progênies superiores e contrastantes para a produção de milho-verde. A recombinação dessas progênies possibilitará incrementar a variabilidade genética e a frequência de alelos favoráveis à produção de milho-verde.

Palavras-chave: Zea mays L., rendimento de espigas, potencial, UPGMA, Tocher.

ABSTRACT: The present study aimed to estimate the genetic divergence among corn half-sib progenies seeking to direct recombination between contrasting and superior progenies for green corn production. Ninety-six progenies were evaluated in a randomized block design with 3 replications, and 18 characteristics associated with agronomic adaptation and green corn yield were measured. The genetic divergence was estimated using generalized square Mahalanobis distance and the progenies grouped by UPGMA and Tocher's methods. The joint analysis of variance showed genetic variability among the progenies for the characteristics evaluated. The UPGMA method was more sensitive than Tocher's, since it led to the formation of 11 groups genetically dissimilar compared to the 5 ones of Tocher's method. The grouping allowed to identify superior and contrasting progenies for green corn production. The recombination of these progenies allows increasing genetic variability and the frequency of alleles favorable to the green corn production.

Key words: Zea mays L., ears yield, potential, UPGMA, Tocher.

INTRODUÇÃO

A exploração comercial da cultura do milho através da produção de milho-verde é uma atividade amplamente difundida no Brasil. Na alimentação humana, as principais formas de utilização compreendem o consumo de espigas *in natura*, processadas como pamonha, curau, suco, bolo, sorvete, ou sob a forma industrializada, através de enlatados (Pereira Filho 2002).

No Brasil, dos 479 genótipos de milho disponíveis no mercado para a safra 2013/2014, apenas 15 entre híbridos e variedades de polinização aberta foram recomendados para a produção de milho-verde (Cruz et al. 2013). Em função da carência de cultivares indicadas pela pesquisa para atender a demanda de mercado, é necessário intensificar nos programas de melhoramento a seleção de genótipos que atendam as exigências dos produtores e consumidores de milho-verde (Dovale et al. 2011; Pereira Filho 2002).

A variabilidade genética é o ponto de partida para o sucesso dos programas de melhoramento, sendo maximizada pelo intercruzamento dos genótipos mais divergentes, associados às características agronômicas de interesse para a seleção (Ertiro et al. 2013). Para estimar a divergência genética entre indivíduos ou populações, são utilizados modelos biométricos, normalmente analisados por métodos estatísticos multivariados, com informações múltiplas de cada acesso expressas em medidas de dissimilaridade (Sudré et al. 2005). Dentre as medidas de dissimilaridade, destaca-se a distância quadrada generalizada de Mahalanobis (1936), pois leva em consideração as correlações entre as características avaliadas (Cruz e Carneiro 2006).

No processo de melhoramento genético, são avaliados de centenas a milhares de indivíduos, buscando-se identificar genótipos superiores e divergentes para características de interesse, os quais serão destinados à recombinação. Para facilitar a identificação desses indivíduos, utilizam-se metodologias de agrupamento visando obter grupos de genótipos com característica similares dentro do grupo e divergentes entre grupos, sendo os métodos UPGMA e o de otimização de Tocher os mais utilizados (Cruz e Regazzi 1994; Cruz e Carneiro 2006; Kopp et al. 2007).

Importante destacar que não foram encontrados na literatura resultados de agrupamento de progênies de meios-irmãos adaptadas à produção de milho-verde através de métodos hierárquicos e/ou de otimização. Assim, este trabalho teve por objetivo estimar a divergência genética

entre progênies de meios-irmãos via métodos hierárquicos e de otimização, bem como avaliar a consistência dos agrupamentos pela análise discriminante de Fisher, a fim de direcionar o processo de recombinação entre as progênies de milho mais divergentes e com maior frequência de alelos favoráveis à produção de milho-verde.

MATERIAL E MÉTODOS

Os 2 experimentos foram implantados no delineamento experimental aleatorizado em blocos com 3 repetições em 5/10/2012 e 22/11/2012, na área experimental da Fazenda Escola "Capão da Onça", em Ponta Grossa, Paraná, com as seguintes delimitações geográficas: lat 25°05′36,68″S a lat 25°05′41.25″S e long 50°03′17,11″O a 50°03′11,16″O, com altitude de 1.015 m, em sistema de semeadura direta. O solo é classificado como um Cambissolo háplico Tb distrófico típico, com textura argilosa (Embrapa 2006). A temperatura média nos meses mais quentes é de 21,4 °C e, nos meses mais frios, de 13 °C, com média pluvial anual de 1.574 mm (IAPAR 2012).

Foram utilizados 98 genótipos, sendo 96 progênies de meios-irmãos e 2 cultivares comerciais como testemunhas, o híbrido AG 1051 (AGROCERES) e a variedade de polinização aberta Cativerde 02 (CATI/SP). As 96 progênies de meios-irmãos são oriundas de 126 espigas obtidas na safra 2006/2007, provenientes do intercruzamento aleatório de 34 variedades de milho-crioulo, as quais foram submetidas a ciclos de seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos através da metodologia de seleção recorrente. A unidade experimental foi constituída de 2 linhas de 4 m de comprimento e 0,9 m na entrelinha, com densidade final de 55.000 plantas·ha⁻¹.

Os genótipos foram avaliados para as características fenológicas e morfológicas: ciclo masculino e feminino em dias (CM e CF); estatura de planta em metros (EST); altura de inserção da espiga principal em metros (IEP). A partir do estádio R3 (grão leitoso), foram realizadas colheitas manuais, sendo avaliadas as características produtivas e qualitativas em espigas empalhadas e comerciais (comprimento de espiga despalhada ≥ 15 cm e livre de danos causados por pragas); número de espigas em mil espigas·ha $^{-1}$ (NE); percentual de espigas comerciais empalhadas (%EE); rendimento de espigas em t·ha $^{-1}$ (REND); peso de espiga em gramas (PE); comprimento e diâmetro de espigas em cm (CE e DE); número de espigas comerciais em mil espigas·ha $^{-1}$ (NEC); percentual de

espigas comerciais (%EC); rendimento de espigas comerciais em t·ha⁻¹ (RENDC); peso de espiga comercial em gramas (PEC); comprimento e diâmetro de espiga comercial em cm (CEC e DEC); número de fileiras de grãos por espiga (NFG) e a massa fresca de grãos em gramas (MFG). Os dados das variáveis fenotípicas foram submetidos às análises de variância individual e conjunta dos experimentos. A homogeneidade das variâncias residuais foi verificada pelo teste *F* máximo.

Para a estimativa da divergência genética entre os genótipos de milho, foi adotada como medida de dissimilaridade a distância quadrada generalizada de Mahalanobis (D²) devido ao pressuposto de os caracteres estudados estarem correlacionados. A partir da distância quadrada generalizada de Mahalanobis (D²), foi possível quantificar a contribuição relativa dos caracteres para a divergência genética, relativos a cada característica para a dissimilaridade total observada entre as progênies utilizando-se o critério proposto por Singh (1981).

A partir da distância quadrada generalizada de Mahalanobis (D²), procedeu-se à análise de agrupamento de genótipos pelo método UPGMA. Para a determinação do ponto de corte no dendrograma, foi utilizado o método de Mojena (1977), que é um procedimento baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões ou distâncias no dendrograma. O método consiste em selecionar o número de grupos no estágio j que primeiramente satisfaçam à seguinte inequação: $\alpha_j > \theta_k$, onde α_j é o valor do nível de fusão correspondente ao estágio j (j=1,2,...,g-1) e θ_k é o valor referencial de corte, expresso por: $\theta_k=+k$ σ_α , onde e σ_α representam as estimativas não viesadas da média e do desvio padrão dos valores de α . Para a definição do número de grupos, adotou-se k=1,0 de acordo com Milligan e Cooper (1985).

A matriz cofenética utilizada no método de Tocher foi obtida através da metodologia elaborada por Silva e Dias (2013), utilizando-se como proposta a obtenção de uma matriz análoga à matriz cofenética obtida nos métodos hierárquicos, através das distâncias médias intra e intergrupos. Os coeficientes de correlação cofenética foram obtidos a partir da matriz de distâncias originais e da matriz cofenética. Os coeficientes de correlação cofenética foram submetidos ao teste de aleatorização de Mantel (1967) ($\alpha \le 0.05$) baseado em 5.000 permutações. A partir de combinações lineares das "p" variáveis originais de "g" grupos, assumidos como terem distribuição normal e com matrizes de covariâncias homogêneas, foram estimadas as funções discriminantes lineares de Fisher (1936), a fim de

confirmar a consistência dos agrupamentos das progênies de milho (UPGMA e Tocher).

O poder de separação dos métodos de agrupamento foi avaliado a partir da Taxa de Erro Aparente (TEA), obtida com as funções discriminantes de Fisher conforme a expressão:

$$TEA = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{g} e_{i}$$

onde: n é o número total de classificações (n = 98) e e_i representa o número de classificações erradas em cada grupo.

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software R versão 2.15.2 (R Development Core Team 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância conjunta evidenciaram efeito significativo (p \leq 0,01) de genótipos para a maioria das variáveis fenotípicas analisadas, exceto para o diâmetro de espiga empalhada (Tabela 1). Esses resultados evidenciam a presença de variabilidade genética quanto à aptidão para produção de milho-verde, bem como a possibilidade de ganho genético com a seleção artificial. A interação experimentos *versus* tratamentos evidenciou efeito significativo apenas para as variáveis: ciclo masculino e feminino, estatura de planta e altura de inserção da espiga principal (Tabela 1).

A estimativa da divergência genética entre os genótipos obtida através da distância quadrada generalizada de Mahalanobis (D²) evidenciou maior similaridade entre as progênies 6 e 86 com D² de apenas 1,51. Por outro lado, a maior dissimilaridade genética foi obtida entre o híbrido AG 1051 e a progênie 67 com D² = 109,66 (dados não apresentados). As estimativas dos índices de divergência demonstraram que, sempre nas combinações de genótipos mais divergentes, estava presente uma das testemunhas comerciais (variedade Cativerde 02 ou o híbrido AG 1051) combinada a alguma progênie de meio-irmão de milho.

A contribuição relativa de cada característica (\hat{S}_j) para a divergência genética demonstrou que as variáveis que exerceram maior influência para a divergência foram o ciclo masculino, o número de fileiras de grãos, o rendimento de espigas empalhadas, a altura de inserção da espiga principal e o ciclo feminino. Por outro lado, as características que evidenciaram as menores contribuições para a divergência genética foram o número de espigas, o peso de espiga, o

Tabela 1. Resumo da análise de variância conjunta para as 18 variáveis fenotípicas avaliadas nos experimentos de aptidão para a produção de milho-verde. Ponta Grossa, 2014.

Fontes de	01	QM												
variação	GL	СМ	CF	EST	IEP	NE	%EE	REND	PE	CE				
Blocos (experimento)	4	980,97**	687,63**	0,39**	0,24**	254,08**	2.760,5**	52,86**	8.905,23**	14,48**				
E	1	3.285,88**	1.408,33**	0,02 ^{ns}	0,01 ^{ns}	11.196,05**	163.802,67**	3.741,70** 390.770,66*		370,52**				
Т	97	24,54**	37,42**	0,05**	0,05**	120,55**	243,67**	12,64**	1.636,66**	7,63**				
Τ×Ε	97	7,42**	13,89**	0,03**	0,02**	0,02** 70,66 ^{ns}		5,86 ^{ns}	597,62 ^{ns}	1,88 ^{ns}				
Resíduo	388	1,88	3,88	0,01	0,01	57,24	112,95	112,95 4,75		1,87				
Média		66,03	69,91	2,33	1,38	46.960	52,08	14,02	296,95	23,39				
CV (%)		2,08	2,82	4,96	6,37	16,11	20,41	15,56	8,20	5,84				
Fontes de	CI					QM								
variação	GL	DE	NEC	%EC	RENDC	PEC	DEC	CEC	NFG	MFG				
Blocos (experimento)	4	1,31**	937,21**	2.710,74**	37,67**	1.807,50**	0,17 ^{ns}	2,58**	1,52**	715,11*				
Е	1	7,87**	58.804,00**	151.696,02**	3.405,34**	18.719,05**	0,51**	103,62**	17,23**	568,54 ^{ns}				
Т	97	0,31 ^{ns}	93,27**	231,81**	5,17**	962,52**	0,18**	1,14**	2,73**	636,13**				
Τ×Ε	97	0,25 ^{ns}	42,80 ^{ns}	152,59 [*]	2,52 ^{ns}	262,16 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,28 ^{ns}	272,83 ^{ns}				
Resíduo	388	0,24	35,32	109,15	2,07	264,18	0,10	0,66	0,31	223,90				
Média		5,72	26.190	54,36	6,02	217,22	4,69	16,85	14,41	94,58				
CV (%)		8,65	22,7	19,22	23,89	7,5	6,69	4,82	3,86	15,1				

^{**,*}Significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente; nsNão significativo. QM = Quadrado médio; GL = Graus de liberdade; CM = Ciclo masculino (dias); CF = Ciclo feminino (dias); EST = Estatura de planta (m); IEP = Altura de inserção da espiga principal (m); NE = Número de espigas empalhadas (mil espigas·ha-1); %EE = Percentual de espigas comerciais empalhadas; E = Experimentos; T = Tratamentos; REND = Rendimento de espigas empalhadas (t·ha-1); PE = Peso de espiga empalhada (g); CE = Comprimento de espigas empalhada (cm); DE = Diâmetro de espiga empalhada (cm); NEC = Número de espigas comerciais (mil espigas·ha-1); %EC = Percentual de espigas comerciais; RENDC = Rendimento de espigas comerciais (t·ha-1); PEC = Peso de espiga comercial (g); DEC = Diâmetro de espiga comercial (cm); CEC = Comprimento de espiga comercial (cm); NFG = Número de fileiras de grãos por espiga (fileiras·espiga-1); MFG = Massa fresca de grãos por espiga (q).

diâmetro de espiga, o número de espiga comercial e o diâmetro de espiga comercial (Tabela 2). Variáveis que contribuem pouco para a divergência genética e encontram-se fortemente correlacionadas a outras características são passíveis de serem descartadas por explicarem o mesmo tipo de informação (Ivoglo et al. 2008; Rotili et al. 2012; Simon et al. 2012). Neste trabalho, as variáveis número de espigas e o número de espigas comerciais podem ser descartadas, pois, juntas, somam menos de 2% para a divergência genética entre os genótipos de milho e estão fortemente correlacionadas com o rendimento de espigas empalhadas.

No dendrograma obtido pelo método UPGMA, foi aplicado um corte baseado no método de Mojena (1977) na distância de 16,5, o qual corresponde a 25,6% do maior nível de fusão, sendo possível a visualização de 11 grupos (Figura 1). O grupo I (G I) foi composto apenas pelo genótipo 98 (híbrido AG 1051). No G II, foram agrupadas as progênies 19, 44, 80 e 96 (4,1%) e, no G III, as progênies 18, 52 e 76 (3,1%). No G IV, foram alocadas 7 progênies e apenas 3 no G V. No

G VI, foram agrupadas a grande maioria das progênies (32), seguido do GVII, com 29 progênies, os quais representaram 62% dos genótipos estudados de milho. No G VIII, foram alocadas as progênies 16, 82, 83 e 94 e, no G IX, somente a variedade comercial (Cativerde 02). Em G X e G XI, foram agrupadas 6 e 8 progênies, respectivamente. Esses resultados confirmam a alta dissimilaridade genética que as testemunhas comerciais AG 1051 e a variedade Cativerde 02 apresentam em relação às progênies de meios-irmãos avaliadas quanto à aptidão para produção de milho-verde (Figura 1). O método hierárquico de ligação média entre grupos UPGMA foi preciso no agrupamento de progênies de meios-irmãos de milho-verde. Rigon et al. (2015) constataram que o método UPGMA foi mais sensível que o de otimização de Tocher no estudo da divergência genética entre híbridos comerciais de milho. Mohammadi e Prasanna (2003) ressaltam que, através da análise de agrupamento, podem-se identificar genótipos mais dissimilares geneticamente, reduzindo o número de combinações necessárias em um programa de melhoramento. A partir das médias das 18 variáveis fenotípicas nos grupos gerados pelo método UPGMA, evidencia-se que os grupos II, III, V e XI destacaram-se com o maior número de características de interesse para a produção de milhoverde. O G II evidenciou maior potencial para o número de espigas empalhadas (48.915 espigas·ha-1), massa fresca de grãos (104,96 g), precocidade para o ciclo feminino (63,59 dias) e menor inserção da espiga principal (1,25 m). As progênies do G III destacaram-se por apresentar alto rendimento de espigas (15,29 t·ha-1), peso de espigas (321,73 g) e diâmetro de espigas (6,15 cm), características favoráveis à produção de espigas de milho-verde para o mercado com palha (Tabela 3). O G V destacou-se para o peso de espiga (316,58 g), peso de espiga comercial (230,14 g) e diâmetro da espiga comercial (4,85 cm). As progênies do

Tabela 2. Estimativa da contribuição relativa de 18 características para a divergência genética entre 98 genótipos (progênies de meiosirmãos e testemunhas) de milho. Ponta Grossa, 2014.

Características	ŝ. _j	Contribuição relativa (%)
CM	18.184,18	16,66
CF	12.308,64	11,28
EST	3.137,49	2,87
IEP	13.151,46	12,05
NE	191,07	0,18
%EE	2.631,47	2,41
REND	13.658,51	12,51
PE	857,95	0,79
CE	6.368,98	5,83
DE	1.765,66	1,62
NEC	1.935,90	1,77
%EC	3.237,51	2,97
RENDC	3.721,41	3,41
PEC	4.845,06	4,44
DEC	2.256,83	2,07
CEC	2.632,90	2,41
NFG	15.497,34	14,20
MFG	2.777,57	2,54

 \hat{S}_{\downarrow} = contribuição relativa; CM = Ciclo masculino (dias); CF = Ciclo feminino (dias); EST = Estatura de planta (m); IEP = Altura de inserção da espiga principal (m); NE = Número de espigas empalhadas (mil espigas·ha⁻¹); %EE = Percentual de espigas comerciais empalhadas; REND = Rendimento de espigas empalhadas (t·ha⁻¹); PE = Peso de espiga empalhada (g); CE = Comprimento de espiga empalhada (cm); DE = Diâmetro de espiga empalhada (cm); NEC = Número de espigas comerciais (mil espigas·ha⁻¹); %EC = Percentual de espigas comerciais; RENDC = Rendimento de espigas comerciais (t·ha⁻¹); PEC = Peso de espiga comercial (g); DEC = Diâmetro de espiga comercial (cm); CEC = Comprimento de espiga comercial (cm); NFG = Número de fileiras de grãos por espiga (fileiras·espiga⁻¹); MFG = Massa fresca de grãos por espiga (g).

G XI apresentaram alto potencial produtivo para o mercado sem palha, evidenciando elevada superioridade fenotípica para as características número de espigas comerciais (29.363 espigas·ha⁻¹), % de espigas comerciais (61%), rendimento de espigas (6,78 t·ha⁻¹) e comprimento de espiga comercial (17,31 cm) (Tabela 3).

Os resultados indicam que a recombinação entre as progênies de meios-irmãos que compõem os grupos II, III, V e XI, superiores e contrastantes para a produção de milhoverde, possibilitará a ampliação da variabilidade genética favorável na população, bem como a seleção de progênies de meios-irmãos transgressivas para essa aptidão agrícola.

O coeficiente de correlação cofenética obtido a partir do agrupamento UPGMA foi de 0,65 e significativo pelo teste de Mantel (p ≤ 0,01), indicando representação fidedigna das distâncias genéticas dos genótipos no dendrograma. Silva e Dias (2013), comparando diferentes métodos de agrupamento através da avaliação de 5 características em 89 acessos de alho, verificaram que o coeficiente de correlação cofenética pelo método UPGMA foi de 0,76. Possivelmente, a diferença entre os coeficientes esteja em função do maior número de características fenotípicas avaliadas no presente trabalho.

A análise discriminante de Fisher aplicada ao agrupamento UPGMA detectou 14 classificações erradas, ou seja, uma taxa de erro aparente (TEA) de 14,3%, sendo que, nos grupos I, II, V, VIII e IX, não foram encontradas classificações erradas. No G III, 100% das classificações foram incorretas, sendo a progênie 76 realocada para o G VI e as progênies 18 e 52 realocadas para o G VII (Figura 2a). No G IV, as 7 progênies foram reagrupadas no G VI. A progênie 79 passou do G VI para o G VII; da mesma forma, a 89 saiu do G VII e entrou no G VIII (TEA de 3,1%). No G X, das 6 progênies agrupadas, 5 permaneceram no grupo (83,3%), sendo apenas a progênie 50 realocada para o G XI. E, finalmente, no G XI, com 87,5% das classificações corretas, apenas a progênie 35 foi transferida para o G VI (Figura 2a).

No agrupamento de Tocher, os 98 genótipos foram alocados em apenas 5 grupos dissimilares (Tabela 4). Vasconcelos et al. (2007) ressaltam que esse método apresenta a peculiaridade de reunir um maior número de genótipos nos primeiros grupos e geralmente indivíduos agrupados isoladamente nos últimos grupos. Nesse tipo de estudo, tal característica do método torna-se interessante, pois permite identificar indivíduos geneticamente dissimilares e não somente grupos.

O G I agrupou a grande maioria dos genótipos, com 81 progênies de meios-irmãos (82,56%); no G II, foram alocados 8 (7 progênies e a variedade Cativerde 02). O G III agrupou 5 progênies (19, 44, 70, 93 e 96) e o G IV, apenas 3 (52, 62 e 75). Por outro lado, o híbrido comercial

AG 1051 manteve-se isolado entre os genótipos avaliados, confirmando a elevada divergência genética desse genótipo em relação às progênies de meios-irmãos analisadas (Tabela 4).

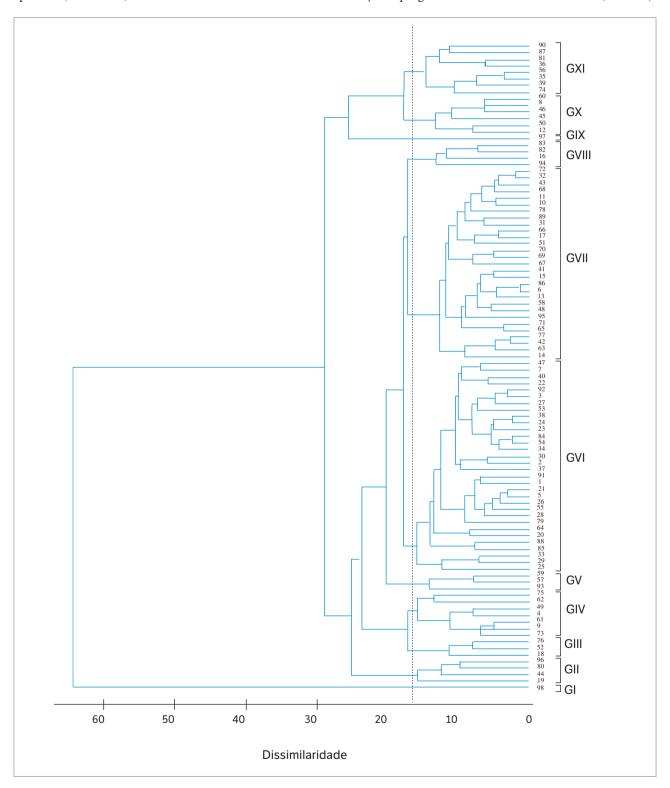


Figura 1. Agrupamento dos 98 genótipos de milho (progênies e testemunhas) através do método UPGMA a partir da distância quadrada generalizada de Mahalanobis (D²). Ponta Grossa, 2014.

Tabela 3. Desempenho médio das 18 variáveis fenotípicas para cada grupo de genótipos de milho obtidos pelo método UPGMA. Ponta Grossa, 2014.

		•				
Grupos	СМ	CF	EST	IEP	NE	%EE
I	72,83	78,00	2,22	1,44	46.050	63,65
II	63,59	67,79	2,27	1,25	48.915	51,41
III	66,17	68,89	2,27	1,38	47.273	55,87
IV	66,26	70,12	2,42	1,44	48.039	46,49
V	65,39	72,28	2,31	1,31	40.047	57,46
VI	66,59	70,50	2,35	1,40	47.691	53,40
VII	64,09	67,51	2,26	1,31	47.104	50,61
VIII	66,08	69,04	2,33	1,37	46.240	42,87
IX	71,67	76,00	2,47	1,60	37.530	44,33
X	69,08	73,86	2,47	1,52	46.623	52,49
XI	68,19	72,46	2,44	1,48	46.329	55,96
Grupos	DE	NEC	%EC	RENDC	PEC	DEC
1	5,60	23.880	53,97	5,34	210,71	4,70
II	5,96	23.758	48,35	5,88	229,94	4,84
III	6,15	26.560	55,19	6,21	222,21	4,80
IV	5,70	25.447	51,96	6,12	225,64	4,82
V	5,86	22.013	53,06	5,33	230,14	4,85
VI	5,75	25.973	53,12	5,93	215,14	4,71
VII	5,64	26.754	55,28	6,16	217,15	4,68
VIII	5,49	26.803	55,18	5,63	196,23	4,45
IX	5,56	16.570	43,37	3,53	198,77	4,32
X	5,86	25.302	53,09	5,86	221,49	4,76
ΧI	5,66	29.363	61,02	6,78	214,10	4,55
Grupos	REND	PE	CE	CEC	NFG	MFG
	13,24	292,91	22,65	16,02	15,91	103,25
II	14,87	304,86	22,79	16,60	15,42	104,96
III	15,29	321,73	24,07	16,51	15,59	91,19
IV	13,95	289,83	22,58	16,84	15,56	101,63
V	12,77	316,58	22,71	16,76	14,60	101,02
VI	14,41	301,11	23,72	16,80	14,11	94,43
VII	13,79	290,40	22,96	16,87	14,24	94,45
VIII	12,53	268,27	22,80	17,15	13,99	76,46
IX	10,27	273,33	24,95	16,48	14,63	77,79
X	14,06	301,61	23,58	16,60	14,66	97,05
XI	14,14	301,57	24,64	17,31	14,13	89,73

CM = Ciclo masculino (dias); CF = Ciclo feminino (dias); EST = Estatura de planta (m); IEP = Altura de inserção da espiga principal (m); NE = Número de espigas empalhadas (mil espigas·ha-¹); %EE = Percentual de espigas comerciais empalhadas; REND = Rendimento de espigas empalhadas (t·ha-¹); PE = Peso de espiga empalhada (gn); CE = Comprimento de espiga empalhada (cm); DE = Diâmetro de espiga empalhada (cm); NEC = Número de espigas comerciais (mil espigas·ha-¹); %EC = Percentual de espigas comerciais; RENDC = Rendimento de espigas comerciais (t·ha-¹); PEC = Peso de espiga comercial (g); DEC = Diâmetro de espiga comercial (cm); CEC = Comprimento de espiga comercial (cm); NFG = Número de fileiras de grãos por espiga (fileiras-espiga-¹); MFG = Massa fresca de grãos por espiga (g).

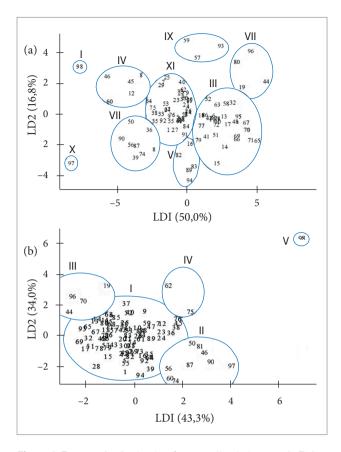


Figura 2. Escores das 2 primeiras funções discriminantes de Fisher (LD) aplicadas aos grupos de genótipos de milho obtidos pelo método UPGMA (a) e pelo método de Otimização de Tocher (b). Ponta Grossa, 2014.

Em outros estudos de divergência genética, resultados semelhantes no padrão de agrupamento, através da utilização do método de otimização de Tocher, foram obtidos por Rigon et al. (2015) entre híbridos de milho, Santos et al. (2015) com acessos de cupuaçu e Gouvêa et al. (2010) em genótipos de seringueira.

A partir das médias fenotípicas das 18 variáveis nos grupos obtidos pelo método de Tocher, pode-se verificar que o G III e o G IV destacaram-se positivamente em relação aos demais (Tabela 5). As progênies do G III evidenciaram precocidade para ciclo (masculino e feminino), baixa estatura e inserção da espiga principal, características adaptativas almejadas nos programas de melhoramento de milho, e desempenho satisfatório para as características peso de espiga, diâmetro de espiga comercial, peso de espiga comercial e massa fresca de grãos. O G IV demonstrou melhor desempenho agronômico para o rendimento de espigas empalhadas (NE, REND e PE) e para o rendimento de espigas comerciais com média de 6,38 t·ha-1; 231,97 g para o peso de espiga

comercial; 4,81 cm para o diâmetro espiga comercial; 16,70 cm para o comprimento de espiga comercial e 16,2 para o número de fileiras de grãos por espiga (Tabela 5).

Hallauer e Miranda Filho (1995) enfatizam que devem ser priorizados nos esquemas de recombinação genótipos de milho com médias fenotípicas elevadas e divergentes para as características de interesse. No caso de genótipos com produção intermediária e ampla diversidade genética e outros com alto potencial de produção e diversidade intermediária, os autores recomendam que a última opção seja prioritária para o processo de recombinação. Nesse sentido, a recombinação entre as progênies de meiosirmãos do G III, com desempenho intermediário para as características relacionadas ao aspecto comercial das espigas, e aquelas do G IV, superiores para o potencial de rendimento de espigas comerciais, possibilitará a ampliação da variabilidade genética nas progênies recombinadas pelo incremento da frequência dos alelos favoráveis a essa aptidão agrícola, bem como pela maior probabilidade de se obterem genótipos recombinantes para o maior número de características de interesse visando à produção de milho-verde.

O coeficiente de correlação cofenética obtido pelo método de Tocher foi de 0,70 e significativo pelo teste de Mantel (p \leq 0,01). O resultado da análise discriminante de Fisher possibilitou detectar apenas 5 classificações erradas na análise de agrupamento, ou seja, 5,1% de TEA. No G I, das 81 progênies de meios-irmãos inicialmente agrupadas, 79 (97,5%) foram corretamente classificadas; apenas as progênies 1 e 56 foram realocadas para o G II (Figura 2b). No G II, 87,5%

Tabela 5. Desempenho médio das 18 variáveis fenotípicas para cada grupo de genótipos de milho obtidos pelo método de Otimização de Tocher. Ponta Grossa, 2014.

Grupos	СМ	CF	EST	IEP	NE	%EE
I	65,78	69,52	2,32	1,37	47.150	51,78
Ш	69,33	74,14	2,47	1,51	44.800	53,56
Ш	63,07	67,47	2,26	1,27	46.100	52,88
IV	66,61	70,50	2,31	1,40	49.460	51,17
V	72,83	78,00	2,22	1,44	46.050	63,64
Grupos	REND	PE	CE	DE	NEC	%EC
I	14,04	296,11	23,35	5,70	26.430	54,50
Ш	13,48	299,21	24,39	5,80	26.164	56,85
Ш	13,99	304,00	22,75	5,96	23.051	49,96
IV	14,95	302,61	23,35	5,93	25.661	51,44
V	13,23	292,91	22,65	5,60	23.877	53,97
Grupos	RENDC	PEC	DEC	CEC	NFG	MFG
П	6,04	215,50	4,69	16,85	14,30	93,23
II	5,98	214,02	4,66	17,06	14,30	88,71
III	5,79	234,59	4,84	16,67	14,92	110,51
IV	6,38	231,97	4,81	16,70	16,20	103,90
V	5,34	210,34	4,70	16,02	15,91	103,25

CM = Ciclo masculino (dias); CF = Ciclo feminino (dias); EST = Estatura de planta (m); IEP = Altura de inserção da espiga principal (m); NE = Número de espigas empalhadas (mil espigas·ha⁻¹); %EE = Percentual de espigas comerciais empalhadas; REND = Rendimento de espigas empalhadas (t·ha⁻¹); PE = Peso de espiga empalhada (g); CE = Comprimento de espiga empalhada (cm); DE = Diâmetro de espiga empalhada (cm); NEC = Número de espigas comerciais (mil espigas·ha⁻¹); %EC = Percentual de espigas comerciais; RENDC = Rendimento de espigas comerciais (t·ha⁻¹); PEC = Peso de espiga comercial (g); DEC = Diâmetro de espiga (c·mercial (cm); CEC = Comprimento de espiga comercial (cm); NFG = Número de fileiras de grãos por espiga (fileiras·espiga⁻¹); MFG = Massa fresca de grãos por espiga (g).

Tabela 4. Composição dos grupos de genótipos de milho a partir da análise de agrupamento pelo método de Otimização de Tocher com base na distância quadrada generalizada de Mahalanobis. Ponta Grossa, 2014.

Grupos	Número de genótipos nos grupos	Genótipos												
		1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13	14
		15	16	17	18	20	21	22	23	24	25	26	27	28
		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
I	81	42	43	45	47	48	49	51	53	54	55	56	57	58
		59	61	63	64	65	66	67	68	69	71	72	73	76
		77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	88	89	91
		92	94	95										
II	8	8 46 50 60 74 87 90 97 (Cativerde 02)				e 02)								
III	5	19	44	70	93	96								
IV	3	52	62	75										
V	1			98	(AG 10)51)								

das classificações foram corretas, com apenas a progênie 8 reclassificada para o G I. No G III, a análise detectou erro no agrupamento da progênie 93, sendo transferida para o G I. Já para o G IV, composto inicialmente pelas progênies 52, 62 e 75, apenas a 52 foi reagrupada no G I (Figura 2b).

As metodologias de agrupamento utilizadas neste trabalho, método hierárquico (UPGMA) e de otimização (Tocher), foram eficientes em identificar grupos de genótipos superiores e contrastantes para as características de maior interesse para a produção de milho verde. O método UPGMA aliado ao critério de Mojena, apesar da maior TEA (14,3%), foi mais sensível na diferenciação entre os genótipos de milho, com a formação de 11 grupos, em comparação aos 5 grupos obtidos com o método de Tocher (TEA = 5,1%). Resultados semelhantes foram obtidos na avaliação de genótipos de milho por Rotili et al. (2012) e Rigon et al. (2015) e em feijão-caupi por Santos et al. (2015), confirmando a praticidade e eficácia do método. Pelo método UPGMA, o híbrido AG 1051 e a variedade Cativerde 02 (testemunhas) foram agrupados isoladamente nos grupos I e IX, respectivamente. Por outro lado, pelo método de Tocher, a variedade Cativerde 02 foi ranqueada no G II, juntamente com 7 progênies de meiosirmãos, sendo apenas o AG 1051 agrupado isoladamente, principalmente em função das características fenológicas e morfológicas desse híbrido comercial.

Os resultados da análise de agrupamento através dos métodos UPGMA e de Tocher, bem como do teste de consistência dos agrupamentos via análise discriminante de Fisher, poderão servir como base para trabalhos que envolvam o estudo da divergência genética entre progênies de meios-irmãos de milho, direcionando o processo de recombinação entre os genótipos mais divergentes, a fim

de se obterem progênies de milho com maior frequência de alelos favoráveis à produção de milho-verde.

CONCLUSÃO

Os métodos UPGMA e de Tocher são eficazes no agrupamento de progênies de milho mais similares a partir das características fenotípicas associadas à produção de milho-verde. O método hierárquico UPGMA aliado ao critério de Mojena é mais sensível que o de otimização de Tocher, pois possibilitou a formação do maior número de grupos de progênies mais dissimilares.

A recombinação entre progênies de meios-irmãos do G II e do G III (precocidade, alto potencial produtivo e qualidade das espigas com palha) e aquelas do G V e G XI (alto potencial de rendimento e qualidade de espigas comerciais) possibilitará facilmente incrementar a frequência de alelos favoráveis à aptidão para produção de milho-verde nas populações sob seleção.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de Mestrado. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de Bolsa Produtividade em Pesquisa do autor para correspondência. À Fazenda Escola "Capão da Onça" pela disponibilização da área experimental e infraestrutura para a condução da pesquisa.

REFERÊNCIAS

Cruz, C. D. e Carneiro, P. C. S. (2006). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: Editora da UFV.

Cruz, C. D. e Regazzi, A. J. (1994). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: Editora da UFV.

Cruz, J. C., Pereira Filho, I. A. e Queiroz, J. R. (2013). Milho: cultivares para 2013/2014. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo; [acessado 11 Out. 2013]. http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/

Dovale, J. C., Fritsche Neto, R. e Silva, P. S. L. (2011). Índice de seleção para cultivares de milho com dupla aptidão: minimilho

e milho verde. Bragantia, 70, 781-787. http://dx.doi.org/10.1590/ S0006-87052011000400008.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2006). Sistema brasileiro de classificação de solos. 2. ed. Brasília: Embrapa.

Ertiro, B. T., Twumasi-Afriyie, S., Blümmel, M., Friesen, D., Negera, D., Worku, M., Abakemal, D. e Kitenge, K. (2013). Genetic variability of maize stover quality and the potential for genetic improvement of fodder value. Field Crops Research, 153, 79-85. http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2012.12.019.

Fisher, R. A. (1936). The use of multiple measurements in taxonomic problems. Annals of Eugenics, 7, 179-188. http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-1809.1936.tb02137.x.

Gouvêa, L. R. L., Chiorato, A. F. e Gonçalves, P. S. (2010). Divergence and genetic variability among superior rubber tree genotypes. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 45, 163-170. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2010000200007.

Hallauer, A. R. e Miranda Filho, J. B. (1995). Quantitative genetics in maize breeding. 2 ed. Ames: Iowa State University Press.

Instituto Agronômico do Paraná (2012). Cartas climáticas do Paraná; [acessado 10 Nov. 2012]. http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677

Ivoglo, M. G., Fazuoli, L. C., Oliveira, A. C. B., Gallo, P. B., Mistro, J. C. Silvarolla, M. B. e Toma-Braghini, M. (2008). Divergência genética entre progênies de café robusta. Bragantia, 67, 823-831. http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052008000400003.

Kopp, M. M., Souza, V. Q., Coimbra, J. L. M., Luz, V. K., Marini, N. e Oliveira, A. C. (2007). Melhoria da correlação cofenética pela exclusão de unidades experimentais na construção de dendrogramas. Revista da FZVA, 14, 46-53.

Mahalanobis, P. C. (1936). On the generalised distance in statistics. Proceedings of the National Institute of Science, 2, 49-55.

Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and generalized regression approach. Cancer Research, 27, 209-220.

Milligan, G. W. e Cooper, M. C. (1985). An examination of procedures for determining the number of clusters in a data set. Psychometrika, 50, 159-179. http://dx.doi.org/10.1007/BF02294245.

Mohammadi, S. A. e Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants — salient statistical tools and considerations. Crop Science, 43, 1235-1248. http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2003.1235.

Mojena, R. (1977). Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. The Computer Journal, 20, 359-363. http://dx.doi.org/10.1093/comjnl/20.4.359.

Pereira Filho, I. A. (2002). O cultivo do milho verde. Brasília: Embrapa Milho e Sorgo.

R Development Core Team (2012). The R Project for Statistical Computing; [acessado 04 Jul. 2016]. http://www.R-project.org

Rigon, J. P. G., Capuani, S. e Rigon, C. A. G. (2015). Genetic divergence among maize hybrids by morphological descriptors. Bragantia, 74, 156-160. http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.0246.

Rotili, E. A., Cancellier, L. L., Dotto, M. A., Peluzio, J. M. e Carvalho, E. V. (2012). Divergência genética em genótipos de milho no Estado do Tocantins. Ciência Agronômica, 43, 516-521. http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902012000300014.

Santos, V. S., Martins Filho, S., Alves, R. M., Resende, M. D. V. e Silva, F. F. (2015). Genetic divergence among cupuaçu accessions by multiscale bootstrap resampling. Bragantia, 74, 169-175. http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.0431.

Silva, A. R. e Dias, C. T. S. (2013). A cophenetic correlation coefficient for Tocher's method. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48, 589-596. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013000600003.

Simon, G. A., Kamada, T. e Monteiro, M. (2012). Divergência genética em milho de primeira e segunda safra. Semina, 33, 449-458. http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n2p449.

Singh, D. (1981). The relative importance of characters affecting genetic divergence. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, 41, 237-245.

Sudré, C. P., Rodrigues, R., Riva, E. M., Karasawa, M. e Amaral Junior, A. T. (2005). Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. Horticultura Brasileira, 23, 22-27. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362005000100005.

Vasconcelos, E. S., Cruz, C. D., Bhering, L. L. e Resende Junior, M. F. R. (2007). Método alternativo para análise de agrupamento. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 42, 1421-1428. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2007001000008.