

SELEÇÃO RECORRENTE RECÍPROCA DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS
COMPLETOS EM MILHO COMUM (*Zea mays L.*) MONITORADA
POR MARCADORES MOLECULARES: AVANÇO DE GERAÇÕES E
AVALIAÇÃO DE PROGRESSO GENÉTICO

ANA PAULA CANDIDO GABRIEL

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
AGOSTO - 2009

SELEÇÃO RECORRENTE RECÍPROCA DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS
COMPLETOS EM MILHO COMUM (*Zea mays L.*) MONITORADA
POR MARCADORES MOLECULARES: AVANÇO DE GERAÇÕES E
AVALIAÇÃO DE PROGRESSO GENÉTICO

ANA PAULA CANDIDO GABRIEL

“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 Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas.”

Orientador: Prof. Messias Gonzaga Pereira

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
AGOSTO – 2009

SELEÇÃO RECORRENTE RECÍPROCA DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS
COMPLETOS EM MILHO COMUM (*Zea mays L.*) MONITORADA
POR MARCADORES MOLECULARES: AVANÇO DE GERAÇÕES E
AVALIAÇÃO DE PROGRESSO GENÉTICO

ANA PAULA CANDIDO GABRIEL

“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 Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas.”

Aprovada em 28 de agosto de 2009.

Comissão Examinadora:

Prof. Glauco Vieira Miranda (D.Sc. Genética e Melhoramento de Plantas) – UFV

Prof. Gonçalo Apolinário de Souza Filho (D.Sc., Biociências) – UENF

Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D.Sc. Melhoramento Genético Vegetal) -
UENF

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D., Plant Breeding) – UENF
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora por todas as graças e proteção;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF – e ao curso de pós-graduação de Genética e Melhoramento de Plantas pelo ótimo curso oferecido e pela oportunidade de trabalho;

A FAPERJ, pelo financiamento do projeto;

Aos meus pais, por todo entusiasmo, dedicação e ensinamentos;

À minha vovó Lídia por toda ajuda e incentivo;

À minha irmã Mariana,

A uma pessoa muito especial, Sávio, por todo seu carinho, ajuda e companheirismo durante a minha vida acadêmica e científica e pessoal. Sem a sua ajuda não teria alcançado esta vitória;

Ao Sr. Olinto e D. Gesy e a toda sua família, meu muito obrigada por toda acolhida, incentivo e apoio em todas as horas, e por serem o exemplo de família que são;

Aos membros da banca prof. Glauco, prof. Gonçalo e prof. Amaral, obrigada pela participação e pelas contribuições sugeridas;

À professora Telma pelos ensinamentos, amizade e pela pessoa bacana que é;

Aos professores do LMGV, em especial ao professor Alexandre Pio Viana pelas sugestões e ajuda nos momentos estatísticos e ao professor Antonio Teixeira do Amaral Junior por todo apoio ;

À amiga e técnica do LMGV Vitória, pelas valiosas ajudas e exemplo de mansidão;

Em especial ao técnico agrícola Geraldo Francisco de Carvalho, muito obrigada pela sua dedicação, amizade e ensinamentos nas práticas de campo;

Ao Eng^o. Agro. Paulo Rogério pela amizade e atenção para conosco e pelo empenho nos experimentos de Itaocara;

Ao técnico agrícola José Manoel pela brilhante ajuda nos experimentos da Pesagro Campos;

À amiga Keila, por toda ajuda, empenho e dedicação nos trabalhos de campo e de laboratório, e acima de tudo por nossa fiel amizade;

Ao companheiro de bancada Carlos Diego, obrigada pela sua ajuda e seu empenho durante os trabalhos;

Ao funcionário da secretaria de pós-graduação de Genética e Melhoramento de Plantas Daniel, obrigada pela amizade e por estar sempre pronto a nos ajudar;

Aos especiais amigos Ramom, Luciléa e Silvério, companheiros inseparáveis na luta quase diária no campo e nas disciplinas;

Aos amigos do LMGV do LMGV: Fabiane, Carol, Gustavo. Francisco Filho, Francisco Valdevino, Érica, Elaine, Carlos Ide, Pedro, Carlos Eduardo, Fernanda, Sérgio, Monique e Monique, Leandro, Cláudia Pombo, Elba, Érica, Roberta, Sérgio, Kellen, Marcelo, Marilene, Tatiane, Flávio Tardin e todos os outros colegas, que graças a Deus são muitos;

Ao professor Messias, não só pela brilhante orientação, mas por toda a atenção, apoio, respeito e dedicação dispensados a mim e ao trabalho e pelo exemplo de profissional que é;

Ao professor Salassier Bernado e à sua esposa Elizabete, por toda a amizade, confiança e incentivo;

Às amigas e companheiras de república Nélia Paula, Viviane, Janine e Elba, Magda, Cynara e Érica pelo maravilhoso convívio, companheirismo e amizade;

E neste momento tão especial da minha vida um agradecimento especial ao meu pequeno Jorge Olinto, que me deixou escrever a tese durante suas sonecas.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. A Cultura do milho	4
2.1.1. Origem e classificação botânica	4
2.1.2. Importância econômica	5
2.1.3 Genética e melhoramento do milho	6
2.2. Heterose	7
2.2.1. Heterose em milho	9
2.3. Variabilidade genética	9
2.3.1. Variabilidade genética em milho	10
2.4. Seleção recorrente	10
2.4.1. Seleção recorrente recíproca	11
2.4.2. Seleção recorrente recíproca em milho	11
2.5. Marcadores moleculares	12
2.5.1. Marcadores moleculares na seleção recorrente em milho	15
2.6. Características do milho braquítico	16
3. TRABALHOS	19

3.1. Parâmetros e ganhos genéticos estimados no 11 ^o ciclo de seleção recorrente recíproca entre famílias de irmãos completos em milho	19
3.1.1. RESUMO	19
3.1.2. ABSTRACT	20
3.1.3. INTRODUÇÃO	21
3.1.4. MATERIAL E MÉTODO	22
3.1.4.1. Material genético	22
3.1.4.2. Obtenção das famílias	23
3.1.4.3. Avaliação das progênies de irmãos completos	24
3.1.4.4. Análise estatística	25
3.1.4.5. Análise de variância	25
3.1.4.6. Estimacão de parâmetros genéticos	26
3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.1.6. RESUMO E CONCLUSÕES	32
3.1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
3.2. Predicão de ganhos genéticos com diferentes índices de seleção em um programa de seleção recorrente recíproca de famílias de irmãos completos em milho (<i>Zea mays L.</i>)	36
3.2.1. RESUMO	36
3.2.2. ABSTRACT	37
3.2.3. INTRODUÇÃO	37
3.2.4. MATERIAL E MÉTODO	38
3.2.4.1. Material genético	38
3.2.4.2. Avaliação das progênies de irmãos completos	38
3.2.4.3. Análise estatística	39
3.2.4.3.1 Análise de variância	39
3.2.4.4. Identificacão das progênies superiores	41
3.2.4.5. Seleção direta	42
3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
3.2.6. RESUMO E CONCLUSÕES	47
3.2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
3.3. Seleção de genótipos superiores monitorada por marcadores moleculares na seleção recorrente recíproca	50

3.3.1. RESUMO	50
3.3.2. ABSTRACT	51
3.3.3. INTRODUÇÃO	51
3.3.4. MATERIAL E MÉTODO	53
3.3.4.1. Material genético	53
3.3.4.2. Avaliação da diversidade genética (marcadores de DNA)	53
3.3.4.3. Extração do DNA	54
3.3.4.4. Análise molecular via ISSR	54
3.3.4.4.1. Seleção de primers	54
3.3.4.4.2. Condições de reação da polimerase em cadeia	55
3.3.4.4.3 Eletroforese	56
3.3.4.5. Análise dos dados	56
3.3.4.7. Recombinação das progênies selecionadas	56
3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
3.3.6. RESUMO E CONCLUSÕES	66
3.3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
3.4. Avaliação do desempenho agrônomo de híbridos de milho oriundos de um programa de seleção recorrente recíproca	70
3.4.1. RESUMO	70
3.4.2. ABSTRACT	71
3.4.3. INTRODUÇÃO	72
3.4.4. MATERIAL E MÉTODO	73
3.4.4.1. Material genético	73
3.4.4.2. Delineamento experimental	75
3.4.4.3. Características avaliadas	76
3.4.4.4. Análise estatística	76
3.4.4.2. Estimação dos parâmetros genéticos	77
3.4.4.3. Estimação dos ganhos genéticos	78
3.4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
3.4.6. RESUMO E CONCLUSÕES	90
3.4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
4. RESUMO E CONCLUSÃO GERAL	93
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96

RESUMO

GABRIEL, Ana Paula Candido, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Agosto de 2009. Seleção recorrente recíproca de famílias de irmãos completos em milho (*Zea mays L.*) assistida por marcadores moleculares: Avanço de gerações e avaliação de progresso genético. Orientador: Messias Gonzaga Pereira.

A UENF mantém um dos únicos programas de melhoramento genético de milho do estado do Rio de Janeiro. Esta tese, portanto, faz parte deste programa, o qual já forneceu à região Norte/Noroeste Fluminense duas cultivares de milho híbrido interpopulacional, o 'UENF 506-6' e o 'UENF 506-8' por meio do método de melhoramento de seleção recorrente recíproca assistido por marcadores moleculares. Estes híbridos têm sido utilizados pelos produtores desde o ano 2000, com excelente comportamento agrônômico, em comparação com outros materiais genéticos e uma boa aceitação dos agricultores da região. Sendo assim, é proposta desta pesquisa lançar uma nova estratégia de melhoramento, a qual consta da associação do método clássico de seleção recorrente recíproca entre famílias de irmãos completos com o uso de marcadores moleculares para monitoramento da divergência genética entre e dentro das populações que estão sendo trabalhadas no programa de melhoramento. Esta metodologia foi adotada a partir do oitavo ciclo de seleção, de modo que já se obteve três ciclos de seleção recorrente de maneira clássica e três ciclos de seleção recorrente monitorados por

marcadores moleculares. Os marcadores utilizados foram o RAPD no nono ciclo, o AFLP no décimo ciclo e para a obtenção deste ciclo, décimo primeiro, foi aplicado o marcador do tipo ISSR. No entanto, como este programa visa à obtenção de híbridos torna-se necessário avaliar o progresso genético desses híbridos, os quais são obtidos a cada ciclo de seleção, e checar também o papel da genotipagem molecular como estratégia complementar de seleção de genótipos superiores para maximizar a divergência genética intra e interpopulacional na seleção recorrente recíproca. Para tanto, avaliou-se 242 famílias de irmãos completos no delineamento em látice em dois ambientes, Campos e Itaocara, e estimaram-se os parâmetros genéticos das populações CIMMYT e Piranão, as quais deram origem aos irmãos completos. A etapa de seleção foi potencializada pela utilização do índice de seleção de Mulamba & Mock, o qual potencializou a seleção elegendo as 40 famílias de irmãos completos, consideradas superiores em suas características morfoagronômicas. Tais famílias, depois de selecionadas, foram submetidas à genotipagem via marcadores ISSR, para que se pudesse avaliar a distância genética dos genótipos a serem recombinados e selecionar apenas aqueles mais divergentes na etapa de recombinação, favorecendo, assim, a heterose. A análise de variância demonstrou uma significativa variabilidade genética nas populações, e ainda indicou que há possibilidade de recomendação simultânea de genótipos superiores para ambos os locais. Os ganhos diretos estimados foram de 14,10% para a característica produção e ganhos baseados no índice de Mulamba & Mock foram, em média, de 12%. A análise molecular das populações CIMMYT e Piranão indicou que, mesmo após 11 ciclos de seleção recorrente, ambas as populações possuem variabilidade genética intra e interpopulacional expressiva para a continuidade do programa. A avaliação do progresso genético demonstrou o aumento da produtividade com o avanço dos diferentes ciclos de melhoramento de 338 kg/ha/ciclo. Houve também um incremento da heterose. Os ganhos indiretos, nas populações em cruzamento são mais evidentes e mais constantes do que os ganhos diretos nas populações 'per se' e por fim a seleção de genótipos superiores auxiliada pelos marcadores permitiu um incremento de 421 kg/ha/ciclo nas populações em cruzamento, enquanto que na metodologia clássica este incremento foi de 306 kg/ha/ciclo.

ABSTRACT

GABRIEL, Ana Paula Candido, D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. August 2009. Full-sib reciprocal recurrent selection in corn (*Zea mays* L.) assisted by molecular markers: Advancement of generations and genetic gain evaluations. Advisor: Messias Gonzaga Pereira

Rio de Janeiro State has few corn breeding programs and UENF manages one of them. This thesis belongs to such program, which has already provided two inter-population hybrid cultivars named 'UENF 506-6' and 'UENF 506-8' for the North/Northwest region, using the full-sib reciprocal recurrent selection as the breeding method. These hybrids have been used by farmers since 2000 and because they have shown an excellent agronomic performance when compared to other genetic materials, the local farmers have been appreciated them. Thus, this research is proposed to release a new breeding strategy, which is an association between the classical method of recurrent selection and the use of molecular markers in order to monitor the genetic divergence intra and inter evaluated populations. Six cycles of reciprocal recurrent selection were already accomplished in the North/Northwest Rio de Janeiro State's conditions. The three firsts, (sixth seventh and eighth) were based on the classical procedures and the three followings (ninth, tenth and eleventh) were performed incorporating the molecular markers into the classical procedure. The molecular marker RAPD was used in the ninth cycle, the AFLP in the tenth and the ISSR in the eleventh cycle. However, as this program aims to obtain hybrids, it is necessary to evaluate the genetic progress of these

hybrids generated by crossing the improved populations along the cycles. So, by comparing those classical versus molecular assisted cycle, it may be concluded about the role of the molecular genotyping as an additional strategy in reciprocal recurrent selection. Therefore, 242 full-sib families were evaluated in the 11th cycle using the Lattice experimental design in two locations of the Rio de Janeiro State, Campos and Itaocara. The genetic parameters were estimated for the CYMMIT and Piranão populations, the ones that the full-sib families were derived from. The selection procedure was improved by the use of Mulamba & Mock selection index, to identify the 40 superior full-sib families according to their morphoagronomic characteristics. The S1 progenies corresponding to the superior ones were genotyped by the ISSR markers to identify in each population the 25 genotypes more divergent in both senses: intra and inter-populations to be recombined according to the classical procedure. The analysis of variance showed a significant genetic variability in the populations of the 11th selection cycle and, moreover, it indicated that there is the possibility of a simultaneous recommendation of the superior genotypes for both places. The genetic gain estimates for grain yield corresponded to 14.10% for direct selection and to 12% for Mulamba & Mock's index. The molecular analysis of the populations CYMMIT and Piranão indicated that even after the 11 cycles of recurrent selection, both the populations present the genetic variability intra- and inter-population in such an expressive way that it indicates the viability of continuity of the breeding program. The evaluation of the genetic progress presented an increase of grain yield according to the advance of the different selection cycles on average of 338 kg/ha/cycle, and also there was an increase of heterosis along the cycles. The indirect genetic gains in the populations under crossing were more obvious and constant than the direct gains in each one of the populations and, at last, the selection of superior genotypes assisted by molecular markers permitted an increase of 421 kg/ha/cycle in the crossing populations, while using the classical methodology this increase was of 306 kg/ha/cycle.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos líderes mundiais na produtividade e exportação de vários produtos agrícolas, e entre tais produtos está o milho (*Zea mays L.*), o qual é o principal cereal cultivado no país, com uma produtividade média nos últimos anos de 35 milhões de toneladas, correspondendo a aproximadamente 40% do total de grãos produzidos, ocupando uma área de cerca de 13 milhões de hectares sendo superado apenas pela soja (CONAB, 2008).

No entanto, apenas 10 a 11% deste montante são destinados à exportação (EMBRAPA, circular técnica 74, 2008).

Para alcançar tal posição, o país tem investido em financiamentos e em pesquisa, e os programas de melhoramento genético, sejam eles de instituições públicas ou privadas, têm contribuído em larga escala para o aumento da produtividade das espécies e com o milho não é diferente.

Os melhoristas têm a sua disposição diferentes métodos de melhoramento, desde os mais simples e rápidos, como a seleção massal, até métodos mais elaborados e trabalhosos, mas que garantem maior chance de sucesso no programas de melhoramento, como o método de seleção recorrente, em que os genótipos com melhor desempenho são selecionados e recombinados dentro de sua respectiva população. Desta forma, mantém-se a identidade das populações *per se*, e melhora-se o desempenho dos híbridos. (Hallauer et al., 1988; Souza Jr., 1989).

O sucesso de um programa de melhoramento depende, em grande parte, de três fatores: 1- selecionar e desenvolver novas populações geneticamente

promissoras, usando progenitores de qualidade e com características superiores; 2- avaliar em campo essas populações, suas linhagens e seus híbridos experimentais e 3- desenvolver tecnologia de ponta para aumentar a eficiência do processo de seleção, reduzindo assim o tempo.

Sendo assim, é proposta desta pesquisa lançar uma nova estratégia de melhoramento, a qual consta da associação do método clássico de seleção recorrente recíproca entre famílias de irmãos completos com o uso de marcadores moleculares para monitoramento da divergência genética entre e dentro das populações que estão sendo trabalhadas no programa de melhoramento.

Para tanto, é na etapa de seleção que se propõe o uso dos marcadores de DNA. Assim, os progenitores a serem recombinados serão superiores, portadores de maior frequência de alelos favoráveis e divergentes o suficiente para a manutenção da variabilidade genética e maior exploração da heterose durante a condução de seleção recorrente.

Esta metodologia está sendo aplicada desde o oitavo ciclo, de modo que já se obteve três ciclos de seleção recorrente obtidos de maneira clássica e três ciclos de seleção recorrente monitorados por marcadores moleculares. Os marcadores utilizados foram o RAPD no nono ciclo, o AFLP no décimo ciclo e para a obtenção deste ciclo, décimo primeiro, foi aplicado o marcador do tipo ISSR.

Sendo assim, como se trata de um programa que visa o desenvolvimento de híbridos, torna-se necessário avaliar o progresso genético desses híbridos, os quais são obtidos a cada ciclo de seleção, para então observar a efetividade deste método e conseqüentemente deste programa de melhoramento. Aliado a estas informações checar também o papel dos marcadores na etapa de seleção.



Primeira representação botânica do milho em um herbário europeu

Fonte: fuchs, 1540

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1- A cultura do milho:

2.1.1- Origem e classificação botânica:

O milho é uma das culturas mais antigas do Continente Americano tendo sido originado no México (Hallauer, 1985), sendo, portanto um cereal essencialmente americano, uma vez que é nesse Continente que se encontram seus parentes silvestres mais próximos: o teosinte e o tripsacum.

São três as hipóteses mais discutidas em relação à origem do milho: Weatherwax propôs em 1954, que o milho, o tripsacum e o teosinte são descendentes de um ancestral comum. A segunda hipótese defendida por Longley, Beadle (1977, 1978) e Galinat (1973, 1977) é que o milho é derivado do teosinte, A terceira hipótese é defendida por Mangelsdorf, em 1974, que sugere ao contrário, ou seja, que o teosinte tenha sido originário do milho.

Goloubinoff et al. (1993) sugerem que o milho moderno é o resultado da domesticação de diversos genomas do teosinte. Segundo estes autores, isto pode ter ocorrido através de alguns eventos de domesticação, ou por um único evento de domesticação, seguido por repetidas introgressões com espécies do teosinte, ou pela domesticação a partir de uma população de teosinte bem diversificada.

De acordo com Doebley et al. (1990) em termos de arquitetura da planta, o milho e o teosinte são bem diferentes um do outro. Segundo eles, essa diferença

fenotípica vem de uma ampla divergência genética entre as duas espécies. No entanto, milho e teosinte possuem o mesmo número de cromossomos ($n = 10$), os quais são homólogos, cruzando-se facilmente e gerando descendentes férteis (Paterniani e Campos, 1999).

Doebly e Iltis (1980) fazem ainda a seguinte descrição: O gênero *Zea* inclui dois subgêneros: *Luxuriantes* e *Zea*. O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie separada dentro do subgênero *Zea*, junto com outras três subespécies. Todas as espécies dentro do gênero *Zea*, com exceção do milho, são espécies de teosinte.

O milho, portanto, é uma gramínea que pertence à família Poaceae, a tribo Maydeae, ao gênero *Zea* e a espécie *Zea mays* L. É uma planta monóica, alógama, anual, robusta e ereta com $2n=2x=20$ cromossomos (Paterniani, 1980).

2.1.2- Importância Econômica:

O milho pode ser considerado uma das mais importantes fontes de alimento da atualidade. Cultivado em praticamente todas as regiões agrícolas do mundo, ele é utilizado como fonte de carboidrato e energia tanto para alimentação humana quanto para animal (Borém e Giudice, 2004).

No passado, o cultivo de milho era relacionado à subsistência. Hoje, a produtividade desse cereal está voltada a cultivos comerciais baseados na utilização de tecnologias modernas, de forma que esse produto conseguiu se destacar entre as demais culturas, revelando uma importância econômica e social inquestionável (Souza e Braga, 2004).

O milho é o principal cereal cultivado no Brasil, sendo um insumo para a produtividade de uma centena de produtos é, porém, na cadeia produtiva de suínos e aves, que se consome aproximadamente 70% do milho produzido no mundo e entre 70 e 80% do milho produzido no Brasil (CONAB, 2008).

Porém, embora o Brasil seja o terceiro produtor mundial de milho o mercado mundial de milho é abastecido basicamente por três países, os Estados Unidos (46 milhões de t de exportações, em 2005), a Argentina (14,0 milhões de t, em 2005) e a África do Sul (2,3 milhões de t, em 2005) (EMBRAPA, circular técnica 74).

A principal vantagem desses países é uma logística favorável, que pode ser decorrente da excelente estrutura de transporte (caso dos EUA), proximidade dos portos (caso da Argentina) ou dos compradores (caso da África do Sul). O Brasil participa eventualmente desse mercado, porém, a instabilidade cambial e a deficiência da estrutura de transporte até aos portos têm prejudicado o país na busca de uma presença mais constante no comércio internacional de milho.

No entanto, existe uma grande expectativa para um aumento na demanda deste cereal no mercado mundial, pois a China reduziu suas taxas de exportações e os Estados Unidos, o qual são os responsáveis por abastecer 50% do mercado mundial, também irá provavelmente diminuir suas exportações para atender o aumento da demanda interna de etanol.

Tais fatos podem trazer benefícios para o Brasil, por ocasionar um aumento no preço deste cereal e incentivar então os produtores a plantarem mais milho e a uniformizarem o nível tecnológico de suas lavouras. Pois a baixa produtividade média de milho no Brasil (3.175 kg por hectare), não reflete o bom nível tecnológico já alcançado por boa parte dos produtores que exploram lavouras comerciais, uma vez que as médias são obtidas nas mais diferentes regiões, em lavouras com diferentes sistemas de cultivos e finalidades.

Em se tratando da região Norte/Noroeste Fluminense, a cultura vem sendo utilizada como uma alternativa de diversificação. Embora não seja uma região tradicional de cultivo de grãos, é fundamental que se disponha de cultivares melhoradas uma vez que, além da necessidade do milho para produtividade de grãos, a região utiliza bastante esta cultura para a produtividade de silagem para o gado.

2.1.3- Genética e melhoramento do milho:

O milho é planta anual, robusta, ereta e diplóide com $2n = 2x = 20$ cromossomos, panmítica, e mesmo sendo monóica é uma planta alógama com praticamente 100% de reprodutividade cruzada, mas que também suporta a autofecundação (Borém, 1999).

Em especial com a cultura do milho, o melhoramento tem sido responsável por incrementos espetaculares de rendimento, principalmente pela

exploração do fenômeno da heterose, fator este, bastante expressivo nas plantas alógamas (Silva, 2003).

Como o milho tem praticamente 100% de polinização cruzada, as variedades de milho eram coleções de indivíduos heterozigóticos e heterogêneos e a maioria das variedades foram desenvolvidas por seleção massal.

No entanto, os conceitos fundamentais para o desenvolvimento do milho híbrido foram definidos por volta de 1910, quando ficou elucidado que o processo contínuo de autofecundação dos indivíduos por 7 a 10 gerações resulta em linhas puras, nas quais cada planta apresenta características semelhantes.

Devido à herança mendeliana os loci heterozigóticos são eliminados pela autofecundação e a fixação dos alelos nas linhas puras causa redução generalizada no vigor e na produtividade, entretanto, o vigor híbrido restaurado pelo cruzamento de linhas endogâmicas provoca significativos aumentos na produtividade (Borém e Giudice, 2004).

De acordo com Borém (2001), o Brasil foi o segundo país a utilizar híbridos comercialmente, o que causou um aumento de 75% na produtividade de grãos em relação a cultivares utilizadas anteriormente.

Para a obtenção de novas cultivares, por meio da seleção, o melhorista tenta identificar os indivíduos geneticamente superiores ou mais adaptados. A seleção, por sua vez, é mais efetiva quando age sobre caracteres de alta herdabilidade, e que tenham alguma associação com a produtividade ou outro caráter de importância econômica. Daí a relevância de se realizarem trabalhos no sentido de estimar parâmetros genéticos como herdabilidade, correlação e ganhos genéticos (Pereira, 1985).

2.2- Heterose:

Como visto anteriormente o sucesso dos programas de melhoramento depende da eficiência de linhagens, que quando cruzadas, produzem híbridos superiores, de modo que o uso de linhagens pertencentes a grupos heteróticos distintos evite a obtenção e a avaliação de cruzamentos pouco promissores, pois desta forma pode-se explorar a heterose (Borém, 2001).

O termo heterose foi empregado por Shull, em 1909, para expressar os efeitos benéficos da hibridação, ou seja, o maior vigor da geração F_1 em relação à média dos pais ou do melhor pai (Pinto, 1995).

Do ponto de vista biométrico, a heterose (h) em relação à média dos pais é expressa por:
$$h = \sum_{i=1}^n (p_i - r_i)^2 \cdot d_i$$
, onde p e r são freqüências dos alelos favoráveis de um mesmo loco, em duas populações, respectivamente, e d é o desvio da dominância. Em suma, a heterose é uma função direta do somatório do produto do quadrado da distância genética com os respectivos desvios de dominância (Hallauer e Miranda Filho, 1988). Percebe-se pela fórmula da heterose que fica fácil entender o porquê de a heterose ser diretamente relacionada com a divergência genética (diferenças de freqüências gênicas) entre duas populações (Falconer, 1987).

Em linhas gerais, a heterose é o aumento do vigor híbrido, da altura da planta, do conteúdo de carboidrato, da produtividade e de outros fenômenos fisiológicos decorrentes do cruzamento de indivíduos contrastantes (Amaral Júnior e Thièbaut, 1999).

Níveis altos de heterose têm sido observados para produtividade em cruzamentos entre diferentes populações de milho: Hallauer e Miranda Filho (1995) obtiveram como resultado do cruzamento entre 1394 variedades de milho uma taxa de heterose que variou de 4,2 a 72,0%. Paterniani e Lonquist (1963) também obtiveram heterose variando de -11,0% a 101% no cruzamento entre 10 raças brasileiras de milho.

Silva e Miranda (2003) trabalhando em esquema de cruzamento dialélico para a variável peso de espiga, encontraram os efeitos de heterose total variando de -4,3 a 17,3% em relação à média dos pais, com heterose média de 3,37%.

Hallauer e Miranda Filho (1988) relacionam uma série de trabalhos com seleção inter e intrapopulacional e suas respectivas alterações na heterose via seleção. Em alguns trabalhos de seleção recorrente recíproca, a seleção fez com que a heterose diminuísse (Gevers, 1974; Hallauer, 1977) e em outros, aumentasse (Eberhart et al., 1973; Gevers, 1974; Paterniani e Vencovsky, 1977).

Na cultura do milho, a idéia sugerida por Shull para obtenção de linhas puras e sua utilização na produtividade de sementes híbridas expressando a heterose é válida até hoje (Gomes, 1999).

2.2.1. Heterose em milho

A introdução do milho híbrido na década de 20 constitui-se em um dos maiores impulsos à agricultura moderna. O progresso do milho híbrido aliado à melhoria das práticas culturais contribuiu e contribui cada vez mais para o aumento não só da produtividade, mas também da qualidade da cultura (Borém, 1999).

O uso do vigor híbrido ou heterose é sem dúvida um exemplo marcante e favorável na genética aplicada, que foi primeiramente desenvolvido em milho, e depois estendido a outras culturas (Gomes, 1999).

O milho encaixa-se de forma quase perfeita entre as espécies para as quais a hibridação é recomendada como método de melhoramento, dada a relativa facilidade de produtividade de sementes e de se obter níveis heteróticos apreciáveis (Borém, 1999).

Estabelecer e melhorar novos grupos heteróticos pode ser de grande ajuda para melhorar o desempenho agrônômico e sua adaptação a novas regiões de produtividade, pois o sucesso do desempenho dos híbridos de milho é resultado do efeito heterótico alcançado pelo cruzamento de linhagens que possuem boa capacidade combinatória (Gomes, 1999).

2.3- Variabilidade genética:

O avanço genético pode ser alcançado a partir do momento em que exista variabilidade genética, e que o efeito ambiental não mascare por completo esta variabilidade (Ferreira e Grattapaglia, 1998). De acordo com Tardin (2001), a divergência genética pode ser definida como a amplitude de variação genética existente para uma determinada espécie. Sendo assim, é necessário um conhecimento detalhado da constituição e diversidade genética das espécies para uma obtenção eficiente do material genético a ser utilizado em programas de melhoramento, pois sem o conhecimento da variabilidade e da sua interação com o ambiente fica difícil a obtenção de genótipos superiores (Milach, 1998).

Atualmente, a grande importância dos estudos de divergência genética está no conhecimento do grau de variabilidade genética das populações, em

função da preocupação que ocorre com a erosão genética, que diminui a variabilidade genética das populações, decorrente da substituição das antigas variedades por formas genóticas uniformes (Amaral e Thiébaud, 1999).

As análises de divergência genética visam à identificação de genitores para a formação de populações com variabilidade e conseqüente ganho genético em ciclos sucessivos de seleção. Como a divergência está associada à heterose, as análises de divergência podem ser úteis para a predição preliminar de cruzamentos que aperfeiçoem a heterose.

A escolha adequada de genitores pode ser baseada em informações de relacionamento genético estimado por marcadores, que permite um estudo seguro de divergência genética (Milach, 1998).

2.3.1- Variabilidade Genética em milho:

O milho possui uma enorme variabilidade genética disponível, mas que ainda necessita de uma adequada avaliação e estudos para sua efetiva utilização no melhoramento (Paterniani, 1980).

O conhecimento da variabilidade genética entre os materiais do programa de melhoramento proporciona com maior segurança o trabalho com grupos heteróticos, definidos aqui como: 'germoplasmas que, quando avaliados em combinações híbridas exibem superioridade consistente, geralmente resultante da heterose, que depende diretamente da variabilidade genética (Padilha, 2002).

No Brasil um dos padrões heteróticos mais explorados em programa de melhoramento de milho tem sido o cruzamento entre materiais de endosperma do tipo dentado com materiais de endosperma do tipo duro.

2. 4- Seleção recorrente:

A taxa de elevação das freqüências gênicas favoráveis como efeito da seleção depende de muitos fatores, entre os quais se pode mencionar: a variabilidade genética, o método de seleção empregado, o tamanho da população, a influência do ambiente e outros (Paterniani, 1980).

A seleção recorrente foi primeiramente empregada por Hull em 1945, como sendo uma re-seleção, geração após geração, com intercruzamento entre os tipos selecionados, para obter a recombinação gênica, de modo que se pode elevar a freqüência de alelos favoráveis e manter a endogamia a baixo nível, a ponto de assegurar um alto grau de variabilidade genética (Pinto, 1995). Com este método, a cada ciclo de seleção recorrente ocorre uma maior concentração de alelos favoráveis nas populações trabalhadas, com o conseqüente aumento da média populacional.

2.4.1- Seleção recorrente recíproca:

A seleção recorrente recíproca, proposta por Comstock e Robinson (1948), visa à melhoria simultânea de duas populações. Estas populações devem ser geneticamente distantes e de elevado potencial agronômico.

Com a seleção recorrente recíproca, teoricamente, se tira vantagem tanto dos efeitos aditivos por meio da concentração dos alelos favoráveis em ambas as populações, bem como dos desvios de dominância, uma vez que se mantém a distância entre as populações, permitindo explorar o fenômeno da heterose por meio do cruzamento entre as populações e/ou de linhagens oriundas das mesmas (Santos, 2003).

Barth Pinto (1995) cita que é um método bastante apropriado à extração de linhagens visando à formação de híbridos, pois A e B tornam-se cada vez mais produtivos 'per se' e em cruzamentos entre si. Ao mesmo tempo, os cruzamentos de linhagens extraídas de A e B tornam-se cada vez mais heteróticos à medida que aumenta o número de ciclos de seleção.

2.4.2- Seleção recorrente recíproca em milho:

Dentre os métodos de melhoramento aplicáveis à cultura do milho, merece destaque o procedimento denominado seleção recorrente recíproca de famílias de irmãos completos, proposto por Hallauer e Ebehart (1970). Esta metodologia permite, ao mesmo tempo, assegurar ganhos genéticos diretos (nas

populações per si) e indiretos (nas populações em cruzamento). Tal método consiste em se cruzar plantas S_0 aos pares (plantas da população A com plantas da população B), autofecundando-se simultaneamente os indivíduos selecionados. Para tanto há necessidade de que as plantas selecionadas sejam prolíficas.

Em milho, usualmente procede-se a autofecundação da segunda espiga de cada uma das plantas. A primeira espiga (superior) de cada planta é fecundada com pólen de outra planta (Paterniani, 1999). As sementes dessas espigas correspondem às progênes de irmãos completos (A x B), que são avaliados em ensaios de produtividade, os quais permitem identificar as combinações (progênes) mais promissoras. Cada ciclo se completa quando as progênes S_1 de cada população, correspondentes aos melhores cruzamentos, são recombinaadas em lote isolado, produzindo assim as populações melhoradas A_1 e B_1 .

O método apresenta a vantagem de possibilitar o desenvolvimento simultâneo de híbridos de linhagens, tornando-se então um método combinado de múltiplos propósitos (Paterniani e Miranda Filho, 1987). Assim depois de avaliadas as progênes de irmãos completos, as sementes S_1 correspondentes às melhores progênes são plantadas, efetuando-se a autofecundação das plantas envolvidas nos cruzamentos, gerando, após algumas gerações de autofecundação, linhagens potenciais para híbridos de alta produtividade.

É fundamental que se escolham populações divergentes e preferencialmente de grupos heteróticos distintos. No caso do milho, existem dois grupos heteróticos, os denominados 'DENT' (Piranão) e 'FLINT' (CIMMYT), a maioria dos híbridos de milho pertence a tais grupos heteróticos.

2.5- Marcadores moleculares:

Desde a descoberta da estrutura de dupla hélice do DNA por Watson e Crick em 1953, as informações sobre tal molécula e as técnicas para sua manipulação progrediram e continuam a progredir a uma velocidade sem precedentes. A rapidez e o dinamismo com que as novas descobertas são divulgadas garantem o acúmulo de informações em um período de tempo muito

curto, permitindo que metodologias que usam o DNA estejam em contínuo aperfeiçoamento (Guimarães, 2003).

A tendência geral do melhoramento genético de plantas é a integração das técnicas clássicas com aquelas mais modernas da biotecnologia, levando-se em consideração as vantagens e limitações de cada uma delas (Lanza et al., 1997).

Os marcadores de DNA são ferramentas moleculares poderosas que por atuarem diretamente em nível de DNA estão sendo aplicados cada vez mais nos programas de melhoramento. Os marcadores moleculares são, portanto, isentos da influência ambiental, são potencialmente ilimitados, independem da idade da planta e são passíveis de utilização em uma série de procedimentos relacionados ao melhoramento de plantas (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

De uma maneira bem didática os marcadores moleculares podem ser definidos como características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos, e são herdados geneticamente (Milach, 1998). Porém, Ferreira e Grattapaglia (1998), em um conceito mais clássico, definem marcador molecular como qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA.

Existem diferentes classes de marcadores moleculares disponíveis para serem aplicados no melhoramento genético vegetal. De acordo com Reddy et al. (2002), os marcadores moleculares mais utilizados atualmente são os baseados na reação da polimerase em cadeia (PCR), tais como o RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragments Lengths Polymorphism) e mais recentemente os microssatélites (SSR), no entanto, as maiores limitações desses métodos, respectivamente, são a baixa reprodutibilidade, o alto custo e a necessidade do conhecimento prévio do genoma para o desenvolvimento de 'primers' específicos para que seja possível detectar tais polimorfismos.

Segundo Zietkiewicz et al. (1994), a técnica do ISSR (Seqüências Internas Simples Repetidas) é um tipo de marcador molecular que supera essas limitações vistas anteriormente e tem sido usada pela comunidade científica com diferentes aplicações no melhoramento de plantas (estudos de diversidade genética, filogenia, mapeamento genético, fingerprints, etc) em várias culturas (Kantety et al, 1995; Bornet et al, 2001; Souza et al., 2005; Ajibade et al, 2000).

Os marcadores ISSR combinam, portanto, os benefícios da técnica de AFLP e SSR com a universalidade do RAPD, são marcadores que possuem alta

reprodutibilidade devido ao uso de 'primers' mais longos aumentando o grau de exstringência da técnica (Reddy et al., 2002).

A técnica do ISSR é um método baseado em PCR, o qual envolve a amplificação de segmentos de DNA presentes a uma distância amplificável entre dois microssatélites idênticos orientados em direções opostas (Reddy et al., 2002). Para tanto, são usados microssatélites longos, usualmente de 16 a 25 pb, como 'primers' que são capazes de em uma única reação de PCR reconhecer múltiplos loci no genoma para amplificar principalmente as seqüências inter – microssatélites de diferentes tamanhos (Zietkiewicz et al. (1994).

Os microssatélites usados como 'primers' podem ser di, tri, tetra ou penta-nucleotídeos, podendo ser não ancorados (Gupta et al. 1994; Meyer et al., 1993; Wu et al., 1994) ou mais usualmente ancorados nas extremidades 3' ou 5' com 1 a 4 bases degeneradas.

Os ISSR comportam-se como marcadores dominantes e seguem o padrão de herança mendeliana simples (Gupta et al., 1994).

De acordo com Reddy et al. (2002), as fontes de variabilidade e o nível de polimorfismo obtido pelos marcadores ISSR são decorrentes dos seguintes fatores: a) Elevada taxa de mutação das seqüências microssatélites, os quais são alvos do anelamento do 'primer' empregado; b) Natureza do 'primer' utilizado, ou seja, se os 'primers' possuem âncora ou não, se são degenerados ou não, sua extensão e composição, entre outros fatores; c) O método de resolução utilizado, isto é, gel desnaturante de poliacrilamida (PAGE) ou gel de agarose.

Em relação à fonte de variabilidade, é sabido que a taxa de mudança evolucionária dentro dos microssatélites é considerada mais alta do que os outros tipos de seqüência de DNA, o que aumenta então a probabilidade de se encontrar polimorfismos nestas regiões (Reddy et al., 2002).

O número de polimorfismo também varia com a natureza do 'primer' (não-ancorado, ancorado 3' ou 5') e também com a seqüência de 'motifs' do 'primer' empregado. Quando não ancorado, ou seja, somente os microssatélites são usados como 'primers', estes tendem a deslizar dentro das unidades de repetição durante a amplificação gerando 'smears' (arrastes). Este problema pode então ser eliminado com o uso de 'primers' mais longos por meio do ancoramento com uma ou até quatro bases degeneradas nas extremidades 3' ou 5', o que assegura o anelamento mais exato diminuindo, assim a formação de 'smears'.

Quando são usados 'primers' ancorados na extremidade 5' o produto amplificado inclui a seqüência do microssatélite, aumentando assim o tamanho do fragmento amplificado e podendo gerar um maior número de polimorfismo. No entanto, segundo Nagaoka & Ogihara (1997), os 'primers' ancorados na extremidade 3' geram um padrão de bandas mais nítido quando comparados com os ancorados na extremidade 5'.

A técnica de ISSR tem sido usada com sucesso para estimar a existência de diversidade genética em nível intra e interespecífico em diferentes culturas, tais quais, arroz (Joshi et al., 2000), trigo (Nagaoka & Ogihara, 1997), milho (Kantety et al., 1995), feijão (Ajibade et al., 2000), batata-doce (Huang & Sun, 2000) e muitos outros.

De acordo com Kantety et al. (1995), as vantagens desta técnica são: sua alta freqüência de polimorfismo, rapidez, simplicidade e baixo custo.

2.5.1 – Marcadores moleculares na seleção recorrente em milho:

A escolha de genitores e o planejamento de cruzamentos constituem a etapa inicial de um programa de melhoramento. Avaliações da diversidade genética dos potenciais genitores por meio de marcadores moleculares são, muitas vezes, correlacionadas com resposta heterótica, portanto, a escolha de genitores mais divergentes pode aumentar a performance dos híbridos obtidos ou simplesmente aumentar a chance de se obter diferentes combinações gênicas de interesse.

Com o passar dos ciclos seletivos, é esperado que haja modificações no valor de alguns parâmetros populacionais, tais como, médias, variabilidade genética e correlações genéticas, dos caracteres de interesse. Espera-se que essas alterações sejam proporcionais à intensidade de seleção aplicada. Portanto, é preciso monitorar a variação desses parâmetros, pois a redução da variabilidade genética pode reduzir a eficiência da seleção e comprometer o programa de melhoramento (Bosco, 2002).

Considerando todas as aplicações da seleção assistida ou auxiliada pelos marcadores moleculares é difícil imaginar uma cultura ou um programa de

melhoramento genético que não possa ser beneficiado com o uso de tal tecnologia.

A diversidade genética também é empregada para escolha de genitores. O milho é a espécie na qual ela foi mais empregada e o objetivo principal era desenvolver um procedimento de predição de híbrido que eliminasse os testes de milhares de híbridos simples no campo. Inicialmente em alguns estudos utilizaram-se isoenzimas, quando se verificou a ineficiência do procedimento pela baixa correlação com a produtividade dos híbridos (Pinto et al, 2003).

Com o advento dos marcadores de DNA, alguns resultados mostraram a associação da produtividade de grãos de híbridos de milho com a diversidade genética, no entanto, o valor preditivo dos marcadores não foi considerado suficiente. Assim, pode-se inferir que associação da diversidade genética com a variabilidade morfoagronômica pode ser útil na avaliação de genótipos, mas não é suficiente para a escolha de genitores (Padilha, 2002).

As populações de milhos tropicais são, usualmente, originadas de compostos com alta variabilidade genética, e na maioria das vezes, é difícil alocar essas populações em grupos heteróticos bem definidos apenas pela avaliação fenotípica. Desta forma, os marcadores moleculares têm sido muito úteis em avaliações genéticas e, ainda, estão sendo muito utilizados para a identificação de grupos heteróticos (Garcia, 2004).

Benchimol et al. (2000), a partir de distâncias genéticas baseadas em RFLP, puderam avaliar, por meio de análise de agrupamento, linhagens de duas populações de milho tropical e alocá-las em seus devidos grupos heteróticos.

2.6 - Características do milho braquítico

O caráter braquítico em milho foi inicialmente descrito por Kempton (1920), que considerou como plantas braquíticas aquelas que apresentavam internódios mais curtos, sem mudanças acentuadas no número e tamanho de outros órgãos. O encurtamento dos internódios, associado à permanência da quantidade dos mesmos, promove, nessas plantas, menores alturas de planta e de espiga quando comparadas com as das plantas normais (Castiglioni, 1986).

Ainda, em comparação com o milho normal, tais plantas tendem a apresentar maior diâmetro de colmo (Kempton, 1920; Anderson e Chow, 1963; Leite e Paterniani, 1973), maior largura de folhas (Paterniani, 1973) e maior peso de cem grãos (Castiglioni, 1986) e maior tolerância à seca, esta causada, provavelmente, pelo maior desenvolvimento do sistema radicular (Campbell, 1965; Tregubenko e Nepomnjascij, 1969).

Estudos realizados por Lambert (1963) determinaram que o alelo br2 está localizado no braço longo do cromossomo 1. Acredita-se que tal alelo, quando em dose dupla, confere menor porte à planta em virtude de promover a formação de um tipo diferente de giberelina, menos ativa na promoção do crescimento (Galston e Davies, 1972).

O efeito principal do alelo braquítico é a redução no acamamento e no quebramento das plantas, sendo tais plantas indicadas para regiões cujas lavouras sofram ação de ventos fortes.

Quanto à produtividade, os trabalhos iniciais com milho braquítico obtiveram menores produtividades quando comparados com os de milhos normais (Leng, 1957, Campbell, 1965). As explicações, para isso, seriam :recuperação incompleta do genótipo original após a incorporação do gene br2, devido ao reduzido número de retrocruzamentos; pouca oportunidade de seleção para capacidade geral de combinação na obtenção de híbridos; altura da planta e maior ataque de roedores (Leng, 1957); além de experimentos plantados em áreas onde a altura de planta não era problema sério associado a práticas culturais ineficientes realizadas nos mesmos (Campbell, 1965).



Figura 2: Fabricação dos pães de milho na costa do Equador. Fonte: Benzoni, 1572.

3. TRABALHOS

3.1. PARÂMETROS E GANHOS GENÉTICOS ESTIMADOS NO 11º CICLO DE SELEÇÃO RECORRENTE RECÍPROCA ENTRE FAMÍLIAS DE IRMÃOS COMPLETOS EM MILHO (*Zea mays L.*)

3.1.1. RESUMO

Com a implementação do 11º ciclo de seleção recorrente recíproca em famílias de irmãos completos de milho, este trabalho teve como objetivo estimar a predição de ganhos, bem como avaliar as estimativas de parâmetros genéticos destas famílias que foram obtidas pelo cruzamento entre as populações CIMMYT e Piranão. Para tanto foram obtidas 242 famílias de irmãos completos, as quais foram avaliadas no delineamento em látice simples com duas repetições em dois ambientes distintos: Campos e Itaocara. A análise de variância revelou que a população apresenta variabilidade genética significativa para dar continuidade ao programa, e a ausência de significância da interação genótipo por ambiente para a maioria das características avaliadas, sugere que há possibilidade de recomendação simultânea de genótipos superiores para ambos os locais. De acordo com os resultados das estimativas de parâmetros genéticos das características morfoagronômicas, observou-se que o procedimento de seleção

apresenta grandes possibilidades de sucesso por apresentarem ampla variabilidade genotípica com valores do coeficiente médio de herdabilidade (h^2) variando de 32,72 a 72,43% e índice de variação (I_v) com magnitudes superiores à unidade. Em relação aos ganhos genéticos obtidos, o ganho genético predito obtido neste ciclo, 11^o ciclo de seleção, foi de 14,10%. Este valor está bem próximo do encontrado no ciclo de seleção anterior (10^o ciclo) e muito além dos ganhos preditos citados na literatura, principalmente quando comparado com os ganhos obtidos em outros programas de seleção recorrente. Portanto, os resultados das estimações dos parâmetros genéticos e os ganhos genéticos preditos, são indicativos de que as populações avaliadas dispõem de variabilidade genética para as características avaliadas e, portanto, são promissores para a obtenção de novos ciclos de seleção.

3.1.2. ABSTRACT

By using the introduction of the 11th reciprocal recurrent selection cycle in corn full-sibs families, this work aimed to estimate the prediction of gains and to evaluate the estimates of genetic parameters of such families, which were obtained by crossing CIMMYT and Piranão populations. For such reason, 242 full-sibs families were obtained and evaluated by using the simple Látice design with two repetitions and two different places: Campos and Itaocara. The analysis of variance unveiled that the population presents the significant genetic variability to continue the program, and the absence of meaning in the interaction between the genotype and the environment in the most evaluated characteristics, suggests that there is possibility of simultaneous recommendation of superiors genotypes for both places. According to the results of the genetic parameters estimates about the morphoagronomic characteristics, it was observed that the selection procedure presents big possibilities of success, because it presents a wide genotypic variability with values of middle coefficient of heritability (h^2) between 32.72 and 72.43 % and the variation index (V_i) with magnitude superiors to the unity. In relation to the genetic gains, the predicted genetic gain was 14.10% and it was obtained in the 11th selection cycle. This value will be close to the value found in

the previous cycle (10th cycle) and beyond the predicted gains mentioned in the literature, mainly, when it is compared with the gains obtained in other programs of recurrent selection. Therefore, the results of the estimates of the genetic parameters and the predicted genetic gains are signs that the evaluated populations present genetic variability for the evaluated characteristics and, they are promising to obtain new selections cycle.

3.1.3. INTRODUÇÃO

As regiões Norte e Noroeste fluminense se caracterizam por apresentar pequenos produtores rurais, no qual se vêem, na maioria das vezes, muito dependentes da cultura da cana-de-açúcar e da pecuária.

Surge então a cultura do milho, a qual se coloca como uma boa alternativa aos produtores da região por ser uma cultura que se adapta bem a regiões quentes e de pouca pluviosidade, além de permitir aos produtores agregar valores a aos subprodutos obtidos com esta cultura e aumentar assim, sua fonte de renda.

Nesse contexto, justifica-se o desenvolvimento de um programa de melhoramento voltado para a obtenção de variedades, que podem provocar melhorias substanciais nos sistemas de produção dos pequenos e médios produtores rurais, predominantes na região.

Para tanto, dentre os vários métodos de melhoramento, merece destaque a Seleção Recorrente Recíproca, pois, com tal metodologia, pode-se tirar vantagem tanto dos efeitos aditivos, por meio da concentração dos alelos favoráveis em ambas as populações, bem como dos desvios de dominância, uma vez que se mantém a distância entre as populações, permitindo explorar o fenômeno da heterose por meio do cruzamento entre as populações e/ou de linhagens oriundas das mesmas (Santos et al., 2007).

Muitos trabalhos têm reportado a efetividade da seleção recorrente nos programas de melhoramento de milho, principalmente quando se considera a característica produtividade (Rezende & Souza Júnior, 2000; Souza Júnior & Pinto, 2000; Tardin et al, 2007; Santos et al., 2007; Neto e Souza Junior, 2009)

Porém, com o avanço de gerações, é esperado que haja modificações no valor de alguns parâmetros genéticos, tais como, média, variância genética, herdabilidade e ainda nas correlações genéticas (Marquez-Sanchez & Hallauer, 1970).

Sendo assim, Gama et al (2003) ressaltam que além da caracterização morfológica, é necessário que sejam estimados os parâmetros genéticos do germoplasma. Portanto, vários estudos de estimativas de parâmetros genéticos já foram realizados com diferentes tipos de populações de milho (Carvalho et al., 2003; Gama et al. 2003; Gomes et al., 2004; Amorim e Souza, 2005; Neto e Souza Junior, 2009;).

Desenvolveu-se então este trabalho para determinar os parâmetros genéticos das populações de milho CIMMYT e Piranão. Após onze ciclos de seleção recorrente recíproca.

3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.1.4.1. Material genético

Uma etapa importante na seleção recorrente é a escolha de populações de elevado potencial agrônômico. Neste sentido, em se tratando de melhoramento interpopulacional, duas populações pertencentes a grupos heteróticos distintos foram definidas para utilização conforme a seguir apresentadas:

Cimmyt: População oriunda da Universidade Federal de Viçosa, pertencente ao grupo heterótico tipo 'FLINT'. Esta população possui um gene braquítico, sendo, portanto, de porte mais baixo.

Piranão: População também oriunda da Universidade Federal de Viçosa, pertencente ao grupo heterótico tipo "DENT". Esta população também possui um gene braquítico.

Ambas as populações já foram trabalhadas tanto no programa de melhoramento da Universidade Federal de Viçosa (5 ciclos), em Viçosa - MG, quanto na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (6 ciclos) em Campos dos Goytacazes - RJ.

3.1.4.2- Seleção Recorrente Recíproca:

A metodologia utilizada seguiu aproximadamente a descrita por Hallauer e Miranda Filho (1987), conforme consta resumidamente a seguir:

3.1.4.2.1. Obtenção das famílias de irmãos completos e das autofecundações

O plantio das populações prolíficas para a obtenção das famílias de irmãos completos e dos S_1 , foi realizado em Março de 2006, no Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo em Campos dos Goytacazes.

As populações foram plantadas em fileiras alternadas com uma profundidade de 0,05 m e cada fileira continha 6,00 m de comprimento e distanciadas em 1,00 m entre si, e cada planta dentro de cada fileira foi espaçada por 0,40 m.

Aos trinta dias após a emergência foi realizado o desbaste, permanecendo uma planta por cova. A adubação do plantio foi feita com 800Kg/ha de N-P-K da formulação 04-14-08, e também aos 30 dias pós-plantio foi feita a adubação de cobertura, utilizando 300 Kg/ha de Nitrogênio, na forma de sulfato de amônio 20-0-20 e após 45 dias pós-plantio foi feita outra adubação com 260 Kg/ha também na forma de sulfato de amônio, mas na formulação 20-0-0.

Para a obtenção das progênies os seguintes procedimentos foram adotados: as espigas foram cobertas antes de soltar os estigmas com sacolas de plástico próprias a este fim. Simultaneamente, os pendões foram cobertos de forma que não ocorresse contaminação por pólen estranho. Este procedimento é extremamente necessário, pois o pólen perde sua viabilidade após oito horas do início de sua liberação; de modo que qualquer pólen viável que se encontre no saco de papel do dia seguinte ao preparo só poderá ter sido proveniente do pendão coberto.

Os cruzamentos foram feitos em plantas prolíficas, selecionadas dentro de cada par de fileiras, de maneira que a primeira espiga (superior) foi produto de autofecundação e a segunda espiga, produto de cruzamentos. As plantas de cada fileira, em um total de quinze, foram numeradas para posterior identificação por ocasião dos cruzamentos.

Para cada par de plantas foram feitas duas autofecundações e dois cruzamentos, os quais foram recíprocos. Deste modo, foram obtidas 242 famílias de irmãos completos e 484 progênies autofecundadas (S_1). As sementes S_1 foram

armazenadas em câmara fria, e as famílias de irmãos completos foram usadas para o ensaio de competição.

3.1.4.3. Avaliação das progênes de irmãos completos

As 242 famílias de irmãos completos foram plantadas em Outubro de 2006 e avaliadas em dois experimentos com 121 famílias cada experimento.

Cada experimento foi avaliado no delineamento em látice 11x11 com duas repetições, em dois ambientes diferentes: Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo em Campos dos Goytacazes (Norte do Estado do Rio de Janeiro) e na Estação Experimental da PESAGRO-RIO em Itaocara (Nordeste Fluminense).

Cada unidade experimental (famílias de irmãos completos) foi cultivada em fileiras de 5,00 m de comprimento, espaçadas 1,00 m uma das outras e 0,20 m entre plantas. Foram semeadas 50 sementes por fileira, sendo feito o desbaste um mês após o plantio, deixando apenas 25 plantas por fileira. Todos os outros tratamentos culturais foram seguidos de acordo com exigências da cultura.

Após o florescimento das plantas, foram avaliadas, em cada unidade experimental, as seguintes características:

- a) Altura de Planta (alp): altura média de seis plantas competitivas, medidas do nível do solo até o nó de inserção da folha-bandeira em metros;
 - b) Altura de Espiga (ale): altura média das mesmas seis plantas competitivas, medidas do nível do solo até a base da espiga superior no colmo, em metros;
 - c) 'Stand' (npl): número total de plantas no momento da colheita;
 - d) Plantas Quebradas (npq): número de plantas que se apresentaram quebradas, abaixo da espiga superior, no momento da colheita;
 - e) Plantas Acamadas (npa): número de plantas que apresentaram ângulo de inclinação superior a 45⁰ com a vertical, no momento da colheita;
- Após a colheita foram obtidos os dados das seguintes características:
- f) Número de Espigas (nes): número total de espigas colhidas;
 - g) Número de Espigas Doentes (nd): número de espigas manifestando sintomas de doença;
 - h) Peso de Espigas (pes): peso, em quilogramas, das espigas despalhadas;
 - i) Produtividade (prod): produtividade estimada com base no peso dos grãos debulhados em quilogramas por metro de fileira.

3.1.4.4. Análise estatística

3.1.4.5. Análise de variância

As famílias foram submetidas a uma análise de variância conforme o delineamento em látice simples de acordo com o modelo genético estatístico proposto por Cochran & Cox (1957):

$$Y_{ijkl} = \mu + E_i + R/E_{ij} + B/R/E_{ijk} + G_l + GE_{il} + e_{ijkl},$$

onde :

μ = média experimental;

E_i = efeito fixo do i-ésimo ambiente;

R_j = efeito da j-ésima repetição;

B/R_{ijk} = efeito do k-ésimo bloco dentro da repetição j ;

G_l = efeito do l-ésimo genótipo;

GE_{il} = efeito da interação do i-ésimo ambiente e do l-ésimo genótipo;

e_{ijkl} = erro experimental

No Quadro 1 é apresentado o esquema da análise de variância conjunta, com as respectivas esperanças de quadrados médios, sendo que, com exceção de ambientes, as demais fontes de variação foram consideradas aleatórias.

Quadro 1 – Análise de variância conjunta e esperança de quadrados médios considerando o ambiente como sendo de efeito fixo e os demais aleatórios.

<i>FV</i>	GL	QM	E (QM)^{1/}	<i>F</i>
Ambiente (E)	$e - 1$	QME	$\sigma^2 + rb\sigma_{GE}^2 + g\sigma_B^2 + gb\sigma_R^2 + rbg\sigma_E^2$	$(QME+QMR)/(QMB+QMGE)$
Rep/E	$e(r - 1)$	QMR _{Rep}	$\sigma^2 + gb\sigma_{R/E}^2$	-
Bloco/Rep/E	$er (b - 1)$	QMB	$\sigma^2 + g\sigma_B^2$	-
Genótipo	$g - 1$	QMG	$\sigma^2 + rbe\sigma_G^2$	QMG/QMR
GxE	$(e - 1)(g - 1)$	QMGE	$\sigma^2 + rb\sigma_{EG}^2$	QMGE/ QMR
Resíduo	$e(b - 1)(g - 1)$	QMR	σ^2	-
Total	egr			

e= número de ambientes; b = número de blocos; r = número de repetições; g = número de genótipos.

3.1.4.6. Estimação dos parâmetros genéticos

De posse das esperanças dos quadrados médios, apresentados no Quadro 1, foram obtidas as estimativas dos componentes de variância:

$$\text{Variância genotípica: } \sigma_g^2 = (\text{QMG} - \text{QMR})/er$$

$$\text{Variância fenotípica: } \hat{\sigma}_f^2 = \text{QMG}/er$$

$$\text{Herdabilidade com base na média das famílias: } h^2 = \hat{\sigma}_g^2 / \hat{\sigma}_f^2$$

$$\text{Coeficiente de variação genético: } CV_g(\%) = \left(100 \cdot \sqrt{\hat{\sigma}_g^2} / \bar{x} \right)$$

$$\text{Índice de variação: } I_v(\%) = 100(CV_g / CV_e)$$

Em que: QMG = quadrado médio dos genótipos;

QMR = quadrado médio do resíduo;

r = repetição;

e = ambiente.

Estimaram-se os ganhos de seleção direta para a característica produtividade (GS_{dx}) e os ganhos para as características afetadas pela seleção direta em produtividade, através do sistema adotado por Falconer (1987): $GS = DS_x \cdot h^2$, sendo: DS_x = diferencial de seleção e h_x^2 = coeficiente de herdabilidade.

3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos quadrados médios para as fontes de variação utilizados na análise conjunta estão apresentados no Quadro 2.

De acordo com a classificação de Scapim et al. (1995), a qual foi elaborada levando-se em consideração a cultura estudada, o milho, e a natureza das

características avaliadas, os coeficientes de variação da maioria dos caracteres foram considerados médios (Quadro 2).

Quadro 2: Quadrados médios para as características das famílias de irmãos completos do experimento 1 e 2 avaliadas no delineamento em látice

EXPERIMENTO 1							
FV							
Caract ^{1/}	Genótipo						CV(%)
	Ambiente (E)	Rep/E	Bloco/Rep/E	(G)	G*E	Resíduo	
Prod	32,3202626**	1182754,9	1,6357042 ^{ns}	24,481629**	1,220628 ^{ns}	931491	20,24
Alp	4,89355746**	0,26381535	0,11834866**	0,06881039*	0,0221440 ⁿ _s	0,0169376	5,95
Ale	6,82595550**	0,02313302	0,07930502**	0,05498536* _*	0,0147409 ⁿ _s	0,0128861	8,41
Npl	39,9327520**	24,753124	7,976694**	7,994755**	7,59869*	6,943096	12,56
Npq	38,926198**	18,479478	16,797310*	11,509075*	7,605481*	5,837203	60,10
Npac	31,986128**	24,250802	21,495438*	9,927845 ^{ns}	8,91597*	7,441653	71,80
Nes	36,9143974**	109,992044	26,372069 ^{ns}	40,016599*	20,778865**	15,28254	15,95
Ned	58,7142166**	6,0678610	2,344339 ^{ns}	3,4374928 ^{ns}	1,687296 ^{ns}	2,007996	74,65
Pes	10,1782584**	442090,4	5,445151 ^{ns}	7,912305*	3,955966 ^{ns}	30,92165	19,66
EXPERIMENTO 2							
Caract ^{1/}	Ambiente (E)	Rep/E	Bloco/Rep/E	Genótipo (G)	G*E	Resíduo	CV(%)
Prod	42,9748149**	2280380,6	1,769637 ^{ns}	16,399780**	1,136791 ^{ns}	870397	19,50
Alp	7,8413704**	0,06771966	0,11258592*	0,03981484 ^{ns}	0,012506 ^{ns}	0,0121515	4,90
Ale	4,77162011**	0,01023387	0,04492025*	0,03348362 ^{ns}	0,009717 ^{ns}	0,0109482	7,50
Npl	23,5686014**	16,228729	15,057264*	13,359426*	7,350281*	6,374103	11,95
Npq	50,1003480**	11,818394	17,762131*	10,339295*	9,020669*	7,147560	58,48
Npac	34,308407**	7,758311	38,087192*	13,536406*	13,517978*	8,190621	72,13
Nes	48,4562512**	3,812065	19,875381 ^{ns}	33,656869*	19,754821*	18,76218	17,93
Ned	0,2167003 ^{ns}	49,0344368	2,6959180 ^{ns}	3,6068473 ^{ns}	2,6692827 ^{ns}	2,044619	69,02
Pes	13,4667896**	698637,0	590335,3 ^{ns}	534367,6*	368750,7 ^{ns}	299978,8	19,31

^{1/} Prod = produtividade; Alp = altura de plantas; Ale = altura de espiga; Npl = número de plantas; Npq = número de plantas quebradas; Npac = número de plantas acamadas; Nes = número de espigas; Ned = número de espigas doentes e Pes = peso de espiga
 *, ** Significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.
^{ns} Não significativo.

Porém, as características número de plantas quebradas (npq), número de plantas acamadas (npa) e número de espigas doentes (ned), apresentaram valores de coeficiente de variação muito altos em ambos os experimentos, o que

é explicado pelo fato destas características terem uma distribuição binomial (Quadro 2).

Daros et al. (2004), Freitas Junior (2005), Santos et al. (2008) ao avaliar famílias de irmãos completos e S_1 em milho pipoca também encontraram valores considerados altos e muito altos de coeficiente de variação para estas mesmas características.

Segundo Coimbra (2000), os valores elevados dos coeficientes de variação para essas características estão de acordo com os encontrados na literatura para milho comum. O que indica que para essas características há a necessidade de um rigoroso controle experimental nas avaliações em campo.

Ainda pela análise de variância (Quadro 2), nota-se que o efeito de ambiente proporcionou diferenças significativas entre as famílias de irmãos completos.

Constataram-se ainda diferenças significativas pelo teste F entre os genótipos para as características mais importantes (produtividade (prod); número de plantas (npl); número de espigas doentes (nes) e peso de espigas (pes), indicando a presença de variabilidade genética entre os genótipos, o que é de fundamental importância para obtenção de ganhos genéticos em programas de melhoramento.

Apenas as características número de plantas quebradas (npq), acamadas (npac) e número de espigas doentes (ned) não apresentaram significância pelo teste F, o que pode estar indicando uma reduzida variabilidade genética para essas características, o que revela uma maior homogeneidade para tais características nas populações CIMMYT e Piranão, o que condiz com as expectativas deste programa de melhoramento, pois tais populações já foram submetidas a 10 ciclos de seleção, e na etapa de seleção, esses caracteres, não são prioritários.

A análise da interação genótipo por ambiente (Quadro 2) revelou ausência de significância para a maioria das características, indicando, assim, um comportamento similar desses genótipos nos dois ambientes. Isto sugere que há possibilidade de recomendação simultânea de genótipos superiores para ambos os locais, facilitando assim a recomendação dos híbridos, pois um único programa de seleção recorrente recíproca para o Norte e Noroeste Fluminense poderá

promover o acúmulo de alelos favoráveis na população em seleção, o que implica em economia de tempo, esforço e recurso.

A presença de valor significativo, na interação genótipo x ambiente para estas características, evidencia que as famílias estudadas não mantiveram a mesma equivalência para tais características nas duas localidades, indicando que as melhores famílias em um local podem não sê-las em outro.

Resultados de interações significativas entre o genótipo e o ambiente para estas e demais características, inclusive peso de grãos, considerada como a mais importante, por representar a produtividade das famílias, também foi encontrado por Ferrão (1985), Daros et al. (2004), Santos et al. (2008), Tardin et al. (2007), entre outros.

Os resultados das estimações dos parâmetros genéticos e os elevados ganhos genéticos preditos, são indicativos de que as famílias de irmãos completos dispõem de variabilidade genética para as características e, portanto, são promissores para o avanço dos ciclos (Quadro 3).

Situação contrária a esta foi encontrada por Santos et al. (2007), quando comparando o ciclo zero e o ciclo três de seleção recorrente recíproca em famílias de irmãos germanos de milho, gerados pelo intercruzamento das populações IG-1 e IG-2 do departamento de genética da ESALQ/USP verificaram significativas reduções nas estimativas das variâncias genéticas e coeficientes de herdabilidade para quase todos os caracteres avaliados (produtividade, altura de planta e de espiga e prolificidade).

Nota-se que apenas as características número de plantas, número de plantas quebradas e número de plantas acamadas obtiveram baixa herdabilidade. Os demais caracteres apresentaram herdabilidade mediana a alta entre 42 e 72%.

Os valores das estimativas dos índices de variação foram satisfatórios para todas as características. Tal parâmetro contribui para indicar a presença de variabilidade genética suficiente na população em estudo e contribui para a tomada de decisão quanto ao método de melhoramento a ser utilizado no programa em questão.

Quadro 3: Estimativas referentes às variâncias genotípica (σ_g^2), fenotípica (σ_f^2) e da interação genótipo por ambiente (σ_{ge}^2), coeficiente de herdabilidade (h^2), coeficientes de variação genética (CV_g), índice de variação (I_v), as médias de cada característica e seus respectivos ganhos genéticos com pressão de seleção de 20% em cada experimento.

EXPERIMENTO 1								
Caract. ¹	Parâmetros genéticos						Média	GS(%)
	σ_g^2	σ_f^2	σ_{ge}^2	h^2	CV_g (%)	I_v (%)		
Prod	379167,98	612040,7	232872,7	61,95	12,92	63,83	4766	17,50
Alp	0,01	0,02	0,01	75,38	5,22	87,79	2,18	3,72
Ale	0,01	0,01	0,01	76,56	7,66	91,03	1,34	2,58
Npl	0,26	2,00	1,74	13,15	2,45	19,48	21,0	0,38
Npq	1,42	2,88	1,46	49,28	29,77	49,53	4,0	-5,75
Npac	0,62	2,48	1,86	25,04	20,75	28,90	3,8	3,14
Nes	6,18	10,00	3,82	61,81	16,27	102,03	15	9,10
Ned	0,36	0,86	0,50	41,59	31,46	42,15	1,90	-1,45
Pes	120503,50	197807,6	77304,13	60,92	6,14	31,22	5656	14,9

EXPERIMENTO 2								
Caract. ¹	σ_g^2	σ_f^2	σ_{ge}^2	h^2	CV_g (%)	I_v (%)	Média	GS(%)
Prod	192395,25	409994,50	217599,2	46,93	9,16	46,96	4790	10,70
Alp	0,0069158	0,01	0,01	69,48	3,71	75,77	2,24	0,15
Ale	0,0056338	0,01	0,01	67,30	5,36	71,48	1,40	0,69
Npl	1,7463307	3,34	1,59	52,29	6,29	52,66	21	3,00
Npq	0,7979337	2,58	1,79	30,87	19,42	33,21	4,6	-0,70
Npac	1,3364462	3,38	2,05	39,49	28,90	40,07	4,0	2,23
Nes	3,7236722	8,41	4,69	44,25	8,04	44,84	24	5,80
Ned	0,3905570	0,90	0,51	43,31	29,76	43,12	2,0	-5,70
Pes	58597,2	133591,90	74994,70	43,86	4,27	22,11	5670	9,30

VALORES MÉDIOS DO EXPERIMENTO 1 e 2								
Caract. ¹	σ_g^2	σ_f^2	σ_{ga}^2	h^2	CV_g (%)	I_v (%)	Média	GS(%)
Prod	285781,61	511017,61	225236,0	54,44	11,04	55,40	4478,00	14,10
Alp	0,01	0,01	0,01	72,43	4,47	81,78	2,21	1,93
Ale	0,01	0,01	0,01	71,93	6,51	81,26	1,37	1,63
Npl	1,00	2,67	1,66	32,72	4,37	36,07	20,98	1,69

Continua...

Continua...

Caract. ¹	σ_g^2	σ_f^2	σ_{ga}^2	h^2	CV _q (%)	I _v (%)	Média	GS(%)
Npq	1,11	2,73	1,62	40,08	24,59	41,37	4,30	-3,22
Npa	0,98	2,93	1,95	32,27	24,82	34,48	3,90	2,68
Nes	4,95	9,21	4,26	53,03	12,16	73,44	19,64	7,45
Ned	0,37	0,88	0,51	42,45	30,61	42,63	2,00	-3,57
Pes	89550,35	165699,76	76149,41	52,39	5,20	26,66	5663,00	12,10

^{1/} Prod = produtividade; Alp = altura de plantas; Ale = altura de espiga; Npl = número de plantas; Npq = número de plantas quebradas; Npa = número de plantas acamadas; Nes = número de espigas; Ned = número de espigas doentes e Pes = peso de espiga.

Como observado no Quadro 3, para a característica produtividade (prod) o ganho direto estimado foi de 14,10%. Este valor tem se mantido muito próximo aos ganhos genéticos obtidos nos ciclos anteriores, os quais foram avaliados por Tardin et al (2003) e Gabriel et al (2006), quando os autores encontraram 14,58 e 18,80% de ganhos estimados no oitavo e no décimo ciclo, respectivamente.

No entanto, no nono ciclo de seleção o ganho estimado foi de apenas 4,68%. Segundo Tardin et al (2007), esta diferença pode ser explicada pela diferença na intensidade de seleção aplicada entre os ciclos. Enquanto no atual trabalho a intensidade de seleção foi de 40%, no oitavo ciclo esta foi de 23%.

Vale a ressalva que os valores negativos para ganhos estimados são de interesse para o programa de melhoramento nas características em questão, visto que estas características afetam negativamente a característica produtividade, considerada a característica mais importante do programa.

Souza Jr. e Pinto (2000) obtiveram um ganho direto de 7,2% para a característica produtividade com a seleção recorrente recíproca para famílias de meios-irmãos. O número de famílias obtidas. Queiroz et al. (2007) encontraram um ganho de 9% também trabalhando com seleção recorrente em milho.

Portanto, o ganho estimado neste ciclo tem se mostrado mais alto que os ganhos citados na literatura, principalmente quando se considera o método de seleção recorrente recíproca. Este diferencial pode ser explicado, como citado anteriormente, pelos diferentes valores de pressão de seleção aplicados nas populações e também pelo número de famílias obtidas e avaliadas no experimento, pois se espera que quanto maior este número, maior será o ganho.

3.1.6. RESUMO E CONCLUSÕES

Com o avanço de gerações, é esperado que haja modificações no valor dos parâmetros genéticos das populações em trabalho, tais como, média, variância genética, herdabilidade entre outros.

A análise de variância revelou diferenças significativas entre os genótipos para as características consideradas mais importantes, e, ainda, a interação genótipo por ambiente revelou ausência de significância para a maioria das características avaliadas, indicando, assim, um comportamento similar desses genótipos nos dois ambientes estudados.

Pelos resultados do presente trabalho, as seguintes conclusões foram possíveis:

- 1 - Há variabilidade a ser explorada nos sucessivos ciclos de seleção recorrente recíproca;
- 2 - A ausência de significância para a interação genótipos por ambiente sugere que há possibilidade de recomendação simultânea de genótipos superiores para ambos os locais;
- 3 - O ganho direto estimado para a característica produtividade foi de 14,10%.
- 4 - A seleção recorrente recíproca tem se mostrado um método efetivo em proporcionar ganhos genéticos e assegurar, assim, o avanço de gerações.

3.1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amorim , E. P.; Souza, J. C. de (2005) Híbridos de milho inter e intrapopulacionais obtidos a partir de populações S_0 de híbridos simples comerciais. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.3, p.561-567.

Carvalho, H.W.L.;Guimarães, P. E. de O; Leal, M. L. da S.; et al. (2000) Avaliação de progênies de meios-irmãos da população de milho CMS-453 no Nordeste Brasileiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, V. 35, n. 8, p. 1577-1584. Agosto 2000.

Carvalho, H.W.L , Leal, M. L. da S, Santos, M. X. et al. (2003). Estimativas de parâmetros genéticos na população de milho CPATC-3 em dois locais de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 73-78.

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.

Daros, M.; Amaral Jr., A. T.; Pereira, M. G. (2002) Genetic gain for grains yield and popping expansion in full-sib recurrent selection in popcorn. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. Vol.2, p 339 - 344.

Daros, M.; Amaral Jr, A. T.; Pereira, M.G; Santos, F.S.; Gabriel, A. P.C.; Scapim, C. A.; Freitas Jr, S.P. and Silvério, L. (2004) Recurrent selection in inbred popcorn families. **Scientia. Agricola** Vol 61, n 6, p 609 – 614, Nov/Dec 2004.

Embrapa (1993). **Recomendações técnicas para o cultivo o milho**, 204p

Freitas Jr, S.P. (2005) Capacidade combinatória em milho pipoca por meio de dialelo circulante. **Tese de Mestrado em Produtividade Vegetal**. Campos dos Goytacazes – RJ, CCTA-UENF, 117p.

Gama, E. E. G., Santos, M. X. dos, 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 grãos duros para formação de híbridos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, julho.

Gomes, M. de S., Von Pinho R. , Ramalho, M. A.P. , Ferreira D. V. e Brito A. H. de. (2004) Variabilidade genética em linhagens de milho nas características relacionadas com a produtividade de silagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** Brasília, v.39, n.9, p.879-885.

Hallauer, A. R.; Eberhart, S.A. (1970) Reciprocal full-sib selection. **Crop Science**, 10: 315-316.

Marquez-Sanchez, F.; Hallauer, A. R. (1970.) Influence of sample size on the estimation of genetic variances in a synthetic variety of maize, I.grain yield. **Crop Science**, v.10, n.4, p.357-361,

Neto F. P. L.; Souza Júnior C. L. de (2009) Number of recombinations and genetic properties of a maize population undergoing recurrent. **Scientia Agricola**, v.66, n.1, p.52-58, January/February.

Rezende GSP, Souza Jr CL (2000) A reciprocal recurrent selection procedure outlined to integrate hybrid breeding programs in maize. **J Genetics Breed** 54:57–66

Santos, F.S.; Amaral Júnior, A.T.; Freitas Júnior, S.P.; Rangel, R.M.; Scapim, C.A. (2008) Genetic gain prediction of the third recurrent selection cycle in a popcorn population. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, p. 651-65.

Santos M. F.;T. Câmara M. M; Moro G. V; Costa E. F. N; Souza Jr C. L. de. (2007) Responses to selection and changes in combining ability after three cycles of a modified reciprocal recurrent selection in maize. **Euphytica** 157:185–194.

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, 30 (5): 683-686.

Souza Jr CL, Pinto RMC (2000) Responses to a short-term reciprocal recurrent selection procedure in maize. **Maydica** 45:21–28.

Tardin, F. D.; Pereira, M.G.; Gabriel, A.P.C.; Amaral Júnior, A.T; Filho, G. A. S.
Selection index and molecular markers in reciprocal recurrent selection in maize
Crop Breeding and Applied Biotechnology 7: 225-233, 2007

3.2. PREDIÇÃO DE GANHOS GENÉTICOS NO PROGRAMA DE SELEÇÃO RECORRENTE RECÍPROCA DE MILHO

3.2.1. RESUMO

Como diferentes índices de seleção representam diferentes alternativas de seleção e conseqüentemente ganhos, este trabalho teve como objetivo testar os diferentes índices de acordo com os melhores ganhos preditos e praticar assim seleção das famílias superiores. Foram avaliadas 242 famílias de irmãos completos originadas do cruzamento entre as populações CIMMYT e Piranão, em dois ambientes, Campos dos Goytacazes e Itaocara, no delineamento em látice. Os índices de seleção empregados foram os de Smith e Hazel, Mulamba e Mock e Williams. No entanto, o índice de Mulamba & Mock permitiu a predição de ganhos que melhor responderam aos objetivos do programa, ou seja, um maior ganho para produtividade 19,34% (experimento 1) e 9,44% (experimento 2), considerada a característica de maior importância, e um ganho menor para as características consideradas indesejáveis, como número de plantas quebradas, acamadas, sendo, portanto, o índice eleito para selecionar as quarenta famílias consideradas superiores.

3.2.2. ABSTRACT

As different selection indices represent different alternatives of selection and, in addition, gains, this work aimed to test the different indices according to the best predicted gains and to practice the selection of superior families. 242 full-sib families generated by the crossing of the populations CIMMYT and Piranão were evaluated in two places, Campos dos Goytacazes and Itaocara, using the Látice design. The selection indices of Smith, Hazel, Mulamba & Mock and Williams were used. However, the index of Mulamba & Mock permitted the predictions of the gains that best answered to the program aims, in other words, a bigger gain to the productivity 19.34% (experiment 1) and 9.44% (experiment 2), which is considered the most important characteristic, and a smaller gain to characteristics that are considered undesirable, such as the number of broken plants, lodged plants and, thus, the elected index in order to select the forty families that are considered superiors.

3.2.3. INTRODUÇÃO

De forma geral, no melhoramento genético do milho, duas alternativas podem ser utilizadas em conjunto: a obtenção de populações melhoradas para a consecução de variedades e a obtenção de linhagens para a formação de híbridos. Neste aspecto, a utilização adequada de métodos de seleção está diretamente vinculada ao aumento da freqüência de genes favoráveis na população em melhoramento (Paterniani, 1980).

Considerando que os materiais genéticos realmente superiores são aqueles que reúnem simultaneamente uma série de atributos favoráveis que satisfaça as exigências do consumidor, o índice de seleção surge como um supercaráter, estabelecido pela combinação linear de vários caracteres (Cruz e Regazzi, 2001).

Segundo Cruz et al. (2004), os índices de seleção permitem obter valores que quantificam o potencial genético de um indivíduo, com base em uma série de

características. Ademais, o uso de índices de seleção permite a identificação de genótipos superiores em uma combinação de características consideradas no índice, sendo, dessa forma, uma técnica útil, independente da existência ou não de correlações entre os caracteres, e deveriam ser usados com mais freqüência nos programas de melhoramento (Vilarinho 2003; Santos 2005).

Atualmente, existem vários métodos para obtenção desses índices: Smith e Hazel, Willians, Pesek e Baker, Mulamba e Mock, dentre outros, mas, como diferentes índices representam diferentes alternativas de seleção e conseqüentemente de ganhos (Cruz et al., 2004), este trabalho teve como objetivo testar os diferentes índices de seleção e predizer os ganhos devido à seleção simultânea das famílias de irmãos completos, bem como selecionar as melhores famílias para compor o 11º ciclo de seleção recorrente recíproca para posterior obtenção de um milho híbrido interpopulacional.

3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.4.1. Material genético

Foram avaliadas 242 famílias de irmãos completos oriundas do cruzamento entre as populações de milho pertencentes a dois grupos heteróticos distintos: CIMMYT (grão duro) e Piranão (grão dentado). Tais populações possuem o alelo braquítico e foram submetidas a dez ciclos de seleção recorrente recíproca.

3.2.4.2. Avaliação das progênies de irmãos completos

As famílias de irmãos completos foram plantadas em Outubro de 2006 e avaliadas no delineamento em dois experimentos com 121 famílias em cada látice simples 11 x 11 com duas repetições, em dois ambientes diferentes: Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo em Campos dos Goytacazes (Norte do Estado do Rio de Janeiro) e na Estação Experimental da PESAGRO-RIO em Itaocara (Noroeste Fluminense).

Cada unidade experimental (famílias de irmãos completos) foi cultivada em fileiras de 5,00 m de comprimento, espaçadas 1,00 m uma das outras e 0,20 m entre plantas. Foram semeadas 50 sementes por fileira, sendo feito o desbaste

um mês após o plantio, deixando apenas 25 plantas por fileira. Todos os outros tratamentos culturais foram seguidos de acordo com as exigências da cultura.

Após o florescimento das plantas, avaliaram-se as seguintes características, em cada unidade experimental:

- a) Altura de Planta (alp): altura média de seis plantas competitivas, medidas do nível do solo até o nó de inserção da folha-bandeira em metros;
- b) Altura de Espiga (ale): altura média das mesmas seis plantas competitivas, medidas do nível do solo até o nó de inserção da espiga superior no colmo, em metros;
- c) Número de plantas (npl): número total de plantas no momento da colheita;
- d) Plantas Quebradas (npq): número de plantas que se apresentaram quebradas, abaixo da espiga superior, no momento da colheita;
- e) Plantas Acamadas (npa): número de plantas que apresentaram ângulo de inclinação superior a 45° com a vertical, no momento da colheita;

Após a colheita foram obtidos os dados das seguintes características:

- f) Número de Espigas (nes): número total de espigas colhidas;
- g) Número de Espigas Doentes (nd): número de espigas manifestando sintomas de doença;
- h) Peso de Espigas (pes): peso, em quilogramas, das espigas despalhadas e
- i) Produtividade (prod): produtividade estimada com base no peso dos grãos debulhados em quilogramas por metro de fileira.

A colheita foi realizada quatro meses após o plantio em fevereiro de 2007.

3.2.4.3. Análise estatística

3.2.4.3.1. Análise de variância

As estimativas de ganhos por seleção utilizando índices de seleção foram consideradas com base na média da análise conjunta, ou seja, dos dois ambientes estudados (Campos e Itaocara).

As características mensuradas foram submetidas a uma análise de variância conforme o delineamento em látice simples de acordo com o modelo genético estatístico proposto por Hallauer e Miranda Filho (1981):

$$Y_{ijkl} = \mu + E_i + R_j/E_{ij} + B/R/E_{ijk} + G_l + EG_{il} + e_{ijkl},$$

onde :

μ = média experimental;

E_i = efeito fixo do i-ésimo ambiente;

R_j = efeito da j-ésima repetição;

B/R_{ijk} = efeito do k-ésimo bloco dentro da repetição j ;

G = efeito do l-ésimo genótipo;

EG / S_{ijl} =efeito da interação de ambientes e genótipos;

e_{ijkl} = erro experimental

No Quadro 1 é apresentado o esquema da análise de variância conjunta, com as respectivas esperanças de quadrados médios, sendo que, com exceção de ambiente, as demais fontes de variação foram consideradas aleatórias.

Quadro 1 – Análise de variância conjunta e as esperanças de quadrados médios para as respectivas fontes de variação

<i>FV</i>	GL	QM	E (QM)¹⁷	<i>F</i>
Ambiente (E)	e - 1	QME	$\sigma^2 + rb\sigma_{GE}^2 + g\sigma_B^2 + gb\sigma_R^2 + rbg\Phi$	(QME+QMR)/ (QMB+QMGE)
Rep/E	e(r - 1)	QMRep	$\sigma^2 + gb\sigma_{R/E}^2$	-
Bloco/Rep/E	er (b - 1)	QMB	$\sigma^2 + g\sigma_B^2$	-
Genótipo	g -1	QMG	$\sigma^2 + rbe\sigma_G^2$	QMG/QMR
GxE	(e - 1)(g - 1)	QMGE	$\sigma^2 + rb\sigma_{EG}^2$	QMGE/ QMR
Resíduo	e(b - 1) (g - 1)	QMR	σ^2	-
Total	egr			

e= número de ambientes; b = número de blocos; r = número de repetições; g = número de genótipos.

3.2.4.4. Identificação das progênies superiores

Para a seleção das famílias superiores priorizou-se a seleção de famílias mais produtivas e que possuísem uma menor média de características consideradas indesejáveis tais quais: número de plantas quebradas, número de plantas acamadas e número de espigas doentes.

Devido ao alto número de famílias de irmãos completos (242 famílias) foram montados dois experimentos em látice com 121 famílias em cada experimento.

Assim, para a seleção das famílias superiores aplicou-se os diferentes índices de seleção com uma pressão de seleção de 20%, ou seja, foram selecionadas 20 famílias de irmãos completos, eleitas como sendo superiores pelo índice de seleção em cada experimento, totalizando assim 40 famílias.

Foram utilizados os recursos computacionais do Programa GENES (Cruz, 2001) para as análises estatísticas.

Os diferentes índices de seleção testados se encontram relacionados abaixo, bem como seus respectivos pesos para as características conforme pode ser observado no quadro a seguir:

Quadro 2: Valores dos pesos atribuídos aos diferentes índices de seleção para cada característica avaliada

Características	Smith & Hazel	Mulamba & Mock	Willians
Prod	400	2000	500
Alp	0	0	0
Ale	0	0	0
Npl	100	500	200
Npq	-100	-100	-100
Npa	-100	-100	-100
Nes	100	500	200
Ned	-100	-100	-100
Pes	100	500	200

^{1/} Prod = produtividade; Alp = altura de plantas; Ale = altura de espiga; Npl = número de plantas; Npq = número de plantas quebradas; Npa = número de plantas acamadas; Nes = número de espigas; Ned = número de espigas doentes e Pes = peso de espiga.

3.2.4.5. Seleção Direta

Estimaram-se os ganhos de seleção direta para a característica produtividade (GS_{dx}) e os ganhos para as características afetadas pela seleção direta em produtividade, pelo sistema adotado por Falconer (1987): $GS = DS_x \cdot h_x^2$, sendo: DS_x = diferencial de seleção e h_x^2 = coeficiente de herdabilidade.

3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser observado no quadro 3, a análise de variância evidenciou a existência de variabilidade genética para as variáveis e, por conseguinte, a possibilidade de progresso genético com a seleção, principalmente para a característica produtividade, considerada a de maior importância neste trabalho, pois esta apresentou-se com efeito significativo para a fonte de variação genótipo e um valor médio de herdabilidade (54,44%) (Quadro 3). Maiores comentários sobre a análise de variância do Quadro 3 são apresentados no trabalho 1.

Após a aplicação dos três diferentes índices de seleção nas famílias de irmãos completos, optou-se por trabalhar com índice de Mulamba & Mock, assim sendo, das 242 famílias avaliadas, 40 foram selecionadas por meio deste índice, sendo que 20 foram selecionadas no experimento 1 e as outras 20 selecionadas no experimento 2, totalizando assim 40 famílias selecionadas.

Entre os índices testados, o índice de seleção de Mulamba & Mock permitiu a predição de ganhos que melhor se adequaram aos objetivos do programa, ou seja, um maior ganho para produtividade, considerada a característica de maior importância, e um ganho menor para as características consideradas indesejáveis ao programa, tais como número de plantas quebradas, acamadas e espigas doentes, sendo, portanto, o índice eleito para selecionar as quarenta famílias consideradas superiores (Quadro 4).

Quadro 3: Resumo da análise de variância e estimativas do coeficiente de herdabilidade (h^2) e do Coeficiente de variação (CV) da média dos experimentos 1 e 2 avaliados no 11^o ciclo de seleção recorrente recíproca.

Carac ¹	ANOVA								
	Prod	Alp	Ale	Npl	Npq	Npa	Nes	Ned	Pes
FV ²									
Genótipo									
(G)	2044070,45**	0,05 ^{ns}	0,04 ^{ns}	10,68**	10,92**	11,73**	36,84**	3,52*	662799,05*
E*G	1178710,05**	0,02 ^{ns}	0,01 ^{ns}	7,47*	8,31**	11,22**	20,27**	2,18*	382173,65
Resíduo	900944,00	0,01	0,01	6,66	6,49	7,82	17,02	2,03	304597,65
Mínimo	2737	1,73	0,98	16,5	0,30	0,25	17	0,12	3525
Média	4478,00	2,21	1,37	20,98	4,30	3,90	19,64	2,00	5663
Máximo	7041,5	2,58	1,72	25	10,5	9,6	35,5	5,25	8125
CV(%)	20,24	5,95	8,41	12,56	60,10	71,80	15,95	74,65	19,66
H²	54,44	72,43	71,93	32,72	40,10	32,27	53,03	42,45	52,39

¹ Prod = produtividade; Alp = altura de plantas; Ale = altura de espiga; Npl = número de plantas; Npq = número de plantas quebradas; Npa = número de plantas acamadas; Nes = número de espigas; Ned = número de espigas doentes e Pes = peso de espiga.
² Fontes de variação simplificada com seus respectivos valores de Quadrados Médios, CV(%) = coeficiente de variação e H² = Coeficiente de determinação genotípica.
*, ** Significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.
^{ns} Não significativo.

Daros et al. (2004), Cruz et al. (1993), Granate et al. (2002) e Tardin et al. (2003), todos trabalhando com milho, mas com diferentes populações, também empregaram índice de seleção para a seleção de suas progênies e obtiveram sucesso em seus programas.

Queiroz et al (2007) afirmaram que o método de seleção recorrente recíproca em famílias de meios-irmãos de milho aliado ao melhoramento simultâneo para as características produtividade e quebramento do colmo foi efetivo para melhorar a média de ambas as características, diminuindo assim o acamamento e o quebramento do colmo.

Os valores dos ganhos genéticos preditos de cada característica para cada índice aplicado se encontram no Quadro 4.

Como pode ser observado, haveria um ganho maior para a característica produtividade e número de espigas considerando a seleção direta.

Quadro 4: Média original dos indivíduos selecionados, ganhos por seleção direta e os ganhos fornecidos pelos diferentes índices de seleção em cada experimento do látice simples 11 x 11.

EXPERIMENTO 1					
Caracter. ^{1/}	X ₀	GS(%)			
		Direta	Mul e Mock	Smith e Haz.	Willians
Prod	4766	17,46	16,34	12,66	17,46
Alp	2,18	3,72	2,02	1,70	3,45
Ale	1,34	2,58	3,0	4,3	2,60
Npl	20	0,38	0,63	0,12	0,31
Npq	4,00	-5,75	-9,39	5,16	-5,75
Npa	3,80	3,14	2,00	-0,38	2,82
Nes	15,30	9,07	9,32	7,80	9,20
Ned	1,90	-1,45	-2,53	5,01	-1,45
Pes	5656	14,87	15,14	10,27	14,91

EXPERIMENTO 2					
Caracter. ^{1/}	X ₀	GS(%)			
		Direta	Mul. E Mock	Smith e Haz.	Willians
Prod	4790	10,67	9,44	8,87	10,65
Alp	2,24	0,15	0,69	-0,11	0,16
Ale	1,40	0,69	1,89	0,49	0,96
Npl	210	3,01	4,00	5,00	3,26
Npq	4,50	-0,69	-1,70	-1,70	-0,36
Npa	4,00	2,23	3,18	12,15	2,73
Nes	24	5,80	6,17	2,74	5,71
Ned	2,10	-5,73	-6,78	-6,78	-5,73
Pes	5670	9,29	8,74	7,76	9,38

^{1/} Prod = produtividade; Alp = altura de plantas; Ale = altura de espiga; Npl = número de plantas; Npq = número de plantas quebradas; Npa = número de plantas acamadas; Nes = número de espigas; Nd = número de espigas doentes e Pes = peso de espiga.
X₀ = média inicial; direta = ganho por seleção direta; Mul e Moch = índice de seleção de mulamba e Moch; Smith e Haz = índice de seleção de Smith e Hazel e Willians = índice de seleção de Willians.

No entanto, a seleção direta prioriza apenas uma característica e pode fazer com que juntamente com esta característica, considerada a principal, também haja ganho em características consideradas indesejáveis, tais quais número de plantas quebradas, acamadas, espigas doentes entre outras.

Fazendo uma comparação entre o índice de Mulamba & Mock e a seleção direta, por exemplo, pode-se observar tal fato, ou seja, o ganho predito para a produtividade com a seleção direta é de, em média, 13,5%, já com o índice de Mulamba & Mock este ganho é ligeiramente menor (12,5%), no entanto, quando se observa as características número de plantas quebradas, número de plantas acamadas e número de espigas doentes, o ganho para seleção direta é maior para todas estas características, -3,59; 2,68 e -3,59, respectivamente. Estas características, no entanto são consideradas indesejáveis, portanto, quanto menor o ganho para o próximo ciclo de seleção, melhor será.

Para característica produtividade, considerada a mais importante, o ganho foi, considerando a média dos dois experimentos, de 14%. Este mesmo ganho foi obtido por Gabriel et al. (no prelo) quando na obtenção do 10º ciclo de seleção recorrente recíproca, no entanto, o índice aplicado foi o índice de Smith & Hazel.

Porém, este valor está muito acima do ganho encontrado por Tardin et al.(2007), no qual o ganho predito foi 4,68% na obtenção do 9º ciclo de seleção.

Tal fato pode ser explicado pelo efeito de uma maior manifestação da heterose neste ciclo atual. Pois no 9º ciclo (ciclo anterior), pela primeira vez no programa, foi aplicada, na etapa de seleção, a ferramenta dos marcadores moleculares, justamente com objetivo de aumentar a distância genética das famílias selecionadas, de forma que os progenitores que deram origem a este ciclo e ao 10º ciclo foram superiores em suas características morfoagronômicas e divergentes geneticamente, o que já pode estar favorecendo maiores valores de ganhos genéticos.

Santos (1991), utilizando a seleção recorrente recíproca com famílias de irmãos completos entre as variedades braquíticas de milho 'Piranão' e 'Cimmyt', estimou um ganho de seleção de 7,66% para a característica peso de grãos. Tal valor, comparado com o encontrado nesse trabalho, que utilizou populações também oriundas das populações 'Piranão' e 'Cimmyt', demonstra a eficiência da utilização do índice de seleção como instrumento eficaz na seleção simultânea de características.

Outrossim, Daros et al. (2004) utilizaram o índice de Smith e Hazel em um programa de seleção recorrente de famílias S_1 em milho pipoca e obtiveram ganhos de 26,95% para produtividade e de 17,80% para capacidade de expansão. Santos et al. (2008), trabalhando com seleção recorrente de meios-

irmãos em milho pipoca, basearam-se no índice de Mulamba e Mock, e encontraram ganhos preditos de 7,16% para capacidade de expansão e 10,00% de ganho para a característica produtividade.

Granate et al. (2002) concluíram que o uso do índice de seleção é adequado porque permitiu a predição de ganhos simultâneos nas duas características principais do seu trabalho: produtividade e capacidade de expansão.

Segundo Vilarinho et al. (2003), o critério de seleção mais adequado para a seleção das 60 famílias S_2 superiores baseou-se no índice de Mulamba e Mock com pesos iguais para produtividade e CE.

O Quadro 5 traz as médias das famílias selecionadas para a obtenção do próximo ciclo. As médias dos selecionados para cada característica foram estimadas com base nos ganhos preditos de cada índice e também com base nos ganhos da seleção direta.

Quadro 5: Média das 20 famílias de cada experimento selecionadas com os diferentes índices de seleção.

EXPERIMENTO 1				
Características	X selecionados			
	Direta	Mul e Mock	Smith e Haz.	Willians
Prod	6013	5998	5650	5813
Alp	2,27	2,28	2,23	2,27
Ale	1,40	1,41	1,43	1,40
Npl	21	21	20	21
Npq	3,60	3,30	4,50	3,60
Npac	4,40	4,50	3,85	4,35
Nes	28	28	27	28
Ned	1,85	1,80	2,15	1,85
Pes	6984	6918	6560	6988

Continua...

Continua...

EXPERIMENTO 2				
Características	X selecionados			
	Direta	Mul. e Mock	Smith e Haz.	Willians
Prod	5770	5646	5589	5768
Alp	2,25	2,28	2,24	2,25
Ale	1,41	1,44	1,40	1,42
Npl	22	22	23	22
Npq	4,50	4,35	4,35	4,55
Npac	4,20	4,80	5,20	4,25
Nes	27	27	25	27
Ned	1,80	1,75	1,75	1,80
Pes	6748	6678	6554	6760

Prod = produtividade; Ale = altura de espiga; Npl = número de plantas; Npq = número de plantas quebradas; Npac = número de plantas acamadas; Nes = número de espigas; Nd = número de espigas doentes e Pes = peso de espiga x_0 = média inicial; direta = ganho por seleção direta; Mul. e Moch = índice de seleção de Mulamba e Mock; Smith e Haz = índice de seleção de Smith e Hazel e Willians = índice de seleção de Willians.

3.2.6. RESUMO E CONCLUSÕES

Considerando que os materiais genéticos realmente superiores são aqueles que reúnem simultaneamente uma série de atributos favoráveis que satisfaçam as exigências do consumidor, o índice de seleção surge como um supercaráter, estabelecido pela combinação de vários caracteres.

Para tanto, das 242 famílias de irmãos completos avaliadas em látice em dois ambientes, priorizou-se a seleção das 40 famílias mais produtivas e que possuíssem uma menor média de características consideradas indesejáveis como número de plantas quebradas, acamadas e número de espigas doentes.

O índice aplicado foi o de Mulamba & Mock, que entre os índices testados, foi o que mais se adequou aos objetivos do programa, ou seja, os ganhos preditos com o índice de seleção Mulamba & Mock foram superiores aos preditos com os

outros índices, para característica produtividade, considerada a mais importante, o ganho foi de em média de 14 %.

Com base nesses resultados pode-se concluir que:

- a) Os índices de seleção avaliados são eficientes na identificação de famílias superiores constituindo, assim, uma ferramenta útil para se obter ganhos simultâneos em duas ou mais características;
- b) O índice de Mulamba & Mock é eficiente em prever ganhos genéticos satisfatórios em produtividade e nas demais características, o que favorece a continuidade do programa de melhoramento de milho na UENF com essas populações.

3.2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cruz, C.D. (1997) **Programa GENES** – Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV

Cruz, C. D. e Regazzi, A. J. (2001). **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2^o edição. Viçosa: UFV. 390p.

Cruz, C. D.; Vencovsky, R.; Silva, S. O.; Tosello, G. A. (1993) Comparison of gains from selection among corn progenies, based on different criteria. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, V. 16, n. 1, p. 79 – 89.

Daros, M.; Amaral Jr, A. T.; Pereira, M.G; Santos, F.S.; Gabriel, A. P.C.; Scapim, C. A.; Freitas Jr, S.P. and Silvério, L. (2004) Recurrent selection in inbred popcorn families. **Scientia Agrícola**. vol 61, n 6, p 609 – 614, Nov/Dec 2004.

Embrapa (1993). **Recomendações técnicas para o cultivo o milho**, 204p.

Granate, M. J.; Cruz, C. D.; Pacheco, C. A. P. (2002) Predição de ganho genético com diferentes índices de seleção no milho pipoca CMS-43. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, V.37, n 7, p. 1001 – 1008, Jul. 2002.

Santos, N.T. (1991) Seleção recorrente recíproca entre as variedades braquíticas de milho (*Zea mays* L.) 'Piranão' e 'Çimmyt', usando famílias de irmãos germanos obtidas de plantas prolíficas. Viçosa: UFV, 76 p. **Tese** (Mestrado).

Santos, F.S.; Amaral Júnior, A.T.; Freitas Júnior, S.P.; Rangel, R.M.; Scapim, C.A. Genetic gain prediction of the third recurrent selection cycle in a popcorn population. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, p. 651-655, 2008.

Tardin, F. D.; Pereira, M.G.; Gabriel, A.P.C.; Amaral Júnior, A.T; Filho, G. A. S. Selection index and molecular markers in reciprocal recurrent selection in maize **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 7: 225-233, 2007

Vilarinho, A. A.; Viana, J.M.S.; Santos, J.F.; Câmara, T.M.M. (2003) Eficiência da seleção de progênies S_1 e S_2 de milho pipoca, visando à produtividade de linhagens. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.1, p.9-17.

3.3. IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES MONITORADA POR MARCADORES MOLECULARES NA SELEÇÃO RECORRENTE RECÍPROCA

3.3.1. RESUMO

Em um programa de melhoramento que utiliza a seleção recorrente recíproca, visa-se explorar a heterose entre as populações, por isso é de grande interesse que tais populações possuam, preservem ou, se possível, aumentem sua distância genética. Assim, este trabalho priorizou, além da manutenção da variabilidade genética entre e dentro das populações CIMMYT e Piranão, tentou-se ainda distanciar geneticamente as populações, garantindo assim a longevidade do programa de melhoramento. Para tanto, com base nos resultados do índice de seleção de Mulamba & Mock, selecionou-se as 40 famílias de irmãos completos, consideradas superiores em suas características morfoagronômicas, e recorreu-se então a seus respectivos S_1 (autofecundações), os quais foram submetidos a 'genotipagem' via marcadores ISSR. Com um total de 13 "primers" de ISSR, foram obtidos 140 fragmentos amplificados de DNA, sendo que deste total 114 marcas foram polimórficas e 26 monomórficas. Os locos ISSR também identificaram genótipos contaminantes e foram efetivos na alocação das famílias em seus devidos grupos heteróticos. Além disso, a aplicação dos marcadores na etapa de seleção demonstrou o distanciamento entre as duas populações e ainda foi possível concluir que as populações CIMMYT e Piranão, mesmo tendo sido submetidas a 11 ciclos de seleção recorrente recíproca, ainda possuem

variabilidade genética intra e interpopulacional suficiente para a continuidade deste programa de melhoramento genético

3.3.2. ABSTRACT

An improvement program that uses the reciprocal recurrent selection, it aims to explore the heterosis among populations, because it is interesting that such populations get, preserve or, if it is possible, increase their genetic distance. Thus, this work prioritized the maintenance of genetic variability inside and between the populations CIMMYT and Piranão and, it tried to distance genetically the populations, assuring the longevity of the improvement program. Then, based on the results of the selection index of Mulamba & Mock, 40 full-sib families were selected, which presented superiors morphoagronomic characteristics, and turned to their respective S1 (selfing), which were submitted to genotyping using ISSR markers. Totalizing 13 ISSR primers, 140 amplified fragments of DNA were obtained, but 114 marks were polymorphic marks and 26 were monomorphic. The ISSR loci also identified contaminants and they were effectives in placing the families in their respective heterotic groups. Moreover, the application of markers during the selection stage showed the distance between the populations and, it was possible to conclude that the population CIMMYT and Piranão, even after they were submitted to 11 cycles of reciprocal recurrent selection, they still get enough genetic variability intra- and interpopulation to continue the genetic improvement program.

3.3.3. INTRODUÇÃO

O conhecimento da diversidade genética e da relação entre os materiais usados em programas de melhoramento tem um forte impacto no desenvolvimento de qualquer cultura vegetal (Hallauer et al., 1988).

As populações de milho tropical usadas nos programas de melhoramento diferem das populações de milho da região temperada, principalmente pelo fato das populações tropicais serem formadas por compostos com uma variabilidade genética maior do que as populações de clima temperado (Lanza et al., 1997). No entanto, é difícil alocar essas populações tropicais em grupos heteróticos bem definidos baseando-se apenas nas características fenotípicas.

Segundo Bispo et al. (2009), a diversidade genética do germoplasma de milho tropical ainda é pouco estudada, diferentemente dos grupos heteróticos dos germoplasmas de clima temperado.

Considerando esta importância, após o desenvolvimento da técnica do RFLP (Restriction fragment length polymorphisms) na década de 80, os marcadores moleculares foram identificados como uma poderosa ferramenta nos programas de melhoramento, surgindo assim o melhoramento molecular (Eathington et al., 2007).

Em estudos sobre o milho, os marcadores moleculares têm sido empregados com maior frequência na avaliação da divergência genética entre linhagens e na determinação de grupos heteróticos (Guimarães et al., 2007). Neste âmbito se destacam os trabalhos de Tardin et al., (2007); Barbosa et al., 2003; Laborda et al., 2005; Lanza et al., 1997; Paterniani et al., 2008; Bruel et al., 2006.

O presente trabalho faz parte do programa de melhoramento de milho da UENF e visa melhorar simultaneamente as populações de milho “CIMMYT e PIRANÃO”, por meio do método de seleção recorrente recíproca entre famílias de irmãos completos.

Este método visa explorar tanto os efeitos aditivos, bem como os desvios de dominância, favorecendo a heterose para a obtenção de híbridos e também a extração de linhagens das populações em estudo Comstock e Robinson (1948). No entanto, embora este método tenha como premissa manter a variabilidade genética, é importante que se monitore o quanto há de variabilidade nas populações trabalhadas e também nas famílias selecionadas (Neto & Souza Junior, 2009).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a divergência genética, via ISSR (Inter seqüência simples repetida), entre e dentro das populações de milho CIMMYT e Piranão, as quais já foram submetidas a dez ciclos de

seleção. Assim, espera-se que os progenitores a serem recombinados sejam superiores, portadores de maior frequência de alelos favoráveis, e divergentes o suficiente para a manutenção da variabilidade genética e maior exploração da heterose durante a condução de cada ciclo de seleção.

3.3.4. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.4.1. Material Genético

Com base nos resultados do índice de seleção de Mulamba & Mock, das 242 famílias de irmãos completos avaliadas no delineamento em látice simples em dois ambientes, selecionou-se as 40 famílias, consideradas superiores em suas características morfoagronômicas.

As famílias de irmãos completos foram obtidas pelo cruzamento entre as populações de milho CIMMYT (grão duro) e Piranão (grão dentado), as quais se encontram no 10^o ciclo de seleção recorrente.

No entanto, das 40 famílias selecionadas de cada população, recorreu-se às sementes dos seus respectivos S_1 , que se encontravam armazenados em câmara fria, para submetê-los a 'genotipagem' via marcadores ISSR.

Os genótipos de número 1 a 42 pertencem à população Piranão, enquanto que os genótipos de 43 a 84 pertencem à população CIMMYT.

3.3.4.2. Preparo das amostras para avaliação da diversidade genética

Para a análise da diversidade via marcadores de DNA, parte das sementes S_1 em estoque foi plantada em vasos de 5 litros em casa de vegetação para extração de DNA.

Foram coletadas pelo menos 10 plântulas de cada genótipo pertencentes a grupos heteróticos distintos, totalizando 84 genótipos, sendo 42 genótipos pertencentes à população CIMMYT e os outros 42 pertencentes à população Piranão.

Em seguida as amostras foram maceradas em nitrogênio líquido e acondicionadas em ultrafreezer (-86°C) em tubos fechados com capacidade de 15 ml. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal

do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (LMGV/CCTA/UENF), em Campos dos Goytacazes – RJ.

3.3.4.3. Extração do DNA

Aproximadamente 200mg de tecido macerado foram transferidos para tubos de capacidade 1,5 ml e imersos em nitrogênio líquido. A extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo “mini-prep” de Doyle e Doyle, 1990, com modificações, como a adição de proteinase K no tampão de extração, na concentração final de 0,125 mg/ml.

3.3.4.3.1. Quantificação do DNA

Para avaliação da concentração e da qualidade de DNA as amostras foram avaliadas em gel de agarose 1,0% e foram coradas com brometo de etídio. Como padrão foi utilizada amostra de DNA com concentração conhecida de DNA de fago λ (10, 20, 30, 50 e 100ng).

As amostras de trabalho foram posteriormente padronizadas na concentração de 5 ng. μl^{-1} e mantidas a -20°C.

3.3.4.4. Análise molecular via ISSR (Seqüências Internas Simples Repetidas)

Os procedimentos descritos foram realizados de acordo com a metodologia sugerida por Zietkiewicz et al, (1994) com algumas modificações.

3.3.4.4.1. Seleção de primers

Foram realizados testes preliminares de amplificação para determinação da melhor temperatura de anelamento TM e maior nível de polimorfismo de 30 primers diferentes. No entanto, apenas 13 foram eleitos para serem aplicados na população, por apresentarem maior número de polimorfismo e maior nitidez das bandas.

Foram utilizados 5 primers dímeros, 6 trímeros e 2 tetrâmeros, como pode ser observado na tabela 1 a seguir.

A amplitude de temperatura de anelamento, a qual variou de 45 a 55°C, foi testada no termociclador de gradiente Eppendorf.

Quadro 1 – Primers ISSR utilizados e suas respectivas temperaturas de anelamento (TM).

Primer nº	Seqüência (5' → 3')	TM (°C)
Dímeros		
1	(GA) ₈ YC	50°
2	GC(GA) ₈	50°
3	(AG) ₈ YC	50°
4	(CT) ₈ RC	45°
5	(CT) ₈ TG	45°
Trímeros		
6	(AGC) ₅ GR	47°
7	(AGC) ₅ AY	50°
8	(GAA) ₆	50°
9	(GTG) ₅ RG	55°
10	(GCT) ₅ Y	55°
11	(CTC) ₅ RC	50°
Tetrâmeros		
12	(CAGA) ₄	45°
13	GGGT(GGGGT) ₂ G	54°

Y = C ou T ; R = A ou G

3.3.4.4.2. Condições da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR):

Foram testadas diferentes condições de amplificação como diferentes concentrações de primer, bem como número de ciclos e duração de cada etapa dos ciclos.

No entanto, as concentrações adotadas para um volume final de 20µL foram: 2 µL de Tampão 10X (500 mM KCl, 100mM Tris-HCl pH 8,4, 1% de Triton X-100); 0,5 µM de primer (100 µM); 2mM de MgCl₂; 100µM de cada dNTP; 0,6U de Taq DNA polimerase; 1µL (5%) de DMSO e 2µL de DNA genômico (5ng/µL), completando o volume final com água ultrapura.

Um controle negativo com omissão de DNA foi incluído em cada corrida para verificar a ausência de contaminação

As reações de amplificação foram realizadas no termociclador gradiente Eppendorf com o seguinte programa: Um ciclo de desnaturação inicial a 94 °C por 4 minutos, seguido de 37 ciclos de amplificação de 94° por 1 minuto (desnaturação), 46 a 50 °C por 2 minutos (anelamento), 72 °C por 2 minutos (extensão), e uma extensão no último ciclo de 72 °C por 7 minutos.

3.3.4.4.3. Eletroforese:

Os fragmentos de DNA foram separados por eletroforese horizontal em gel de agarose 2,0% e tampão TAE 1X, a 70 volts por 3 horas e posteriormente corados em brometo de etídio (0,5 mg/μL). O marcador Ladder de 100 pares de bases foi utilizado para a determinação do tamanho dos fragmentos gerados.

Os géis foram fotodocumentados no sistema de revelação sob luz ultravioleta no equipamento Mini Bis Pro (BioAmérica).

3.3.4.5. Análise dos dados

A partir da análise dos géis foi construída uma matriz binária, onde a presença de bandas é indicada pelo número 1 e a ausência pelo número 0. Essa matriz foi utilizada para calcular a matriz de dissimilaridade, considerando o complemento aritmético do índice de Jaccard, e, a partir desta matriz, obteve-se o agrupamento de UPGMA.

A análise dos dados foi realizada pelo programa Genes e pelo programa R.

3.3.4.6. Recombinação das progênies selecionadas

Os 40 genótipos de cada população, identificados como superiores na etapa de avaliação morfoagronômica foram plantados em linhas individuais de 6 metros de comprimento, espaçadas de 1 m uma da outra, com 15 plantas, dentro da linha, distanciadas em 0,4 m entre si. Todos os tratos culturais foram realizados conforme a necessidade da cultura (Facelli e Dourado Neto, 2000).

Dos 40 genótipos S₁, de cada população, 15 foram eliminados e os 25 restantes foram utilizados para recombinação e formação do 12º ciclo das populações Cimmyt e Pirão. Tal seleção procedeu-se de forma a maximizar a variabilidade genética nas populações trabalhadas e tentando manter, e até mesmo ampliar, a distância genética entre as mesmas. Na escolha daqueles genótipos que deveriam ser mantidos, e então recombinados, e daqueles que

deveriam ser eliminados, levou-se em consideração diversos fatores, podendo citar em nível crescente de importância:

1º – Eliminação dos genótipos considerados como ‘contaminantes’, ou seja, aqueles genótipos que pertencem à população CIMMYT, mas que se agruparam com a população Piranão ou vice-versa;

2º – Eliminação de genótipos geneticamente próximos, mantendo aqueles cujas médias de produtividade de grãos foram superiores;

3º – Eliminação dos genótipos que se posicionaram muito próximos da área de intercessão dos dois grupos heteróticos na dispersão gráfica.

4º - Eliminação dos Genótipos que tiveram problemas de germinação gerando poucas plantas para serem utilizadas para recombinação;

Aos sessenta dias, em média, após o plantio, iniciou-se o processo de recombinação em lotes isolados, das famílias selecionadas. De forma análoga à obtenção das progênes, as espigas foram cobertas antes da emissão dos estigmas, utilizando-se sacolas plásticas.

Havendo espigas aptas, os grãos de pólen de todos os pendões, previamente preparados, eram colhidos e misturados para formarem assim, uma única amostra. Essa amostra de grãos de pólen foi utilizada para polinizar todas as espigas receptivas, com exceção daquelas cujas plantas ofereceram grãos de pólen para compor a referida amostra, garantindo assim, que não ocorresse autofecundação. Tal procedimento foi repetido por diversos dias, enquanto existiram pendões liberando pólen e espigas aptas a serem fecundadas.

3.3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com um total de 13 “primers” de ISSR, foram obtidos 140 fragmentos de DNA, os quais variaram em tamanho de 110 a 2100 pares de base. Deste total 114 marcas foram polimórficas e 26 monomórficas. Essas marcas foram utilizadas para a confecção de uma matriz de dados binários, a qual compôs uma matriz de distâncias com base no Complemento Aritmético do Índice de Jaccard.

Os loci ISSR identificaram como genótipos mais distantes os de número 28 e 61, por apresentarem a maior distância, ou seja, 0,511111. Em contrapartida, os genótipos 4 e 5 foram os mais similares, apresentando distância de 0,26286. O que está de acordo com o esperado, pois os genótipos 28 e 61 pertencem a populações diferentes, enquanto os genótipos 4 e 5 pertencem à mesma população.

Quadro 2 – Número de marcas obtidas e tamanho dos fragmentos gerados pelos diferentes 'primers' de ISSR.

'PRIMER'	POLIMÓRFICAS	MONOMÓRFICAS	TAMANHO
(GA) ₈ YC	8	2	280 – 900
GC(GA) ₈	11	1	400 – 1100
(AG) ₈ YC	9	1	350 – 950
(CT) ₈ RC	14	1	280 – 2100
(CT) ₈ TG	11	1	350 – 850
(AGC) ₅ GR	10	3	200 – 700
(AGC) ₅ AY	9	2	300 – 750
(GAA) ₆	8	3	300 – 1300
(GTG) ₅ RG	9	2	150 – 800
(GCT) ₅ Y	9	2	250 – 1100
(CTC) ₅ RC	6	3	350 – 1100
(CAGA) ₄	6	1	400 – 1000
GGGT(GGGGT) ₂ G	6	4	350 – 900

Na Figura 1, pode-se observar parte de um gel de agarose 2% obtido com o 'primer' dímero GC(GA)₈. É possível observar uma diferença no padrão de marcas amplificadas entre as duas populações, o que contribui para demonstrar a diferença entre os grupos heteróticos e evidenciar a distância genética entre as duas populações, o que está diretamente relacionado à heterose.

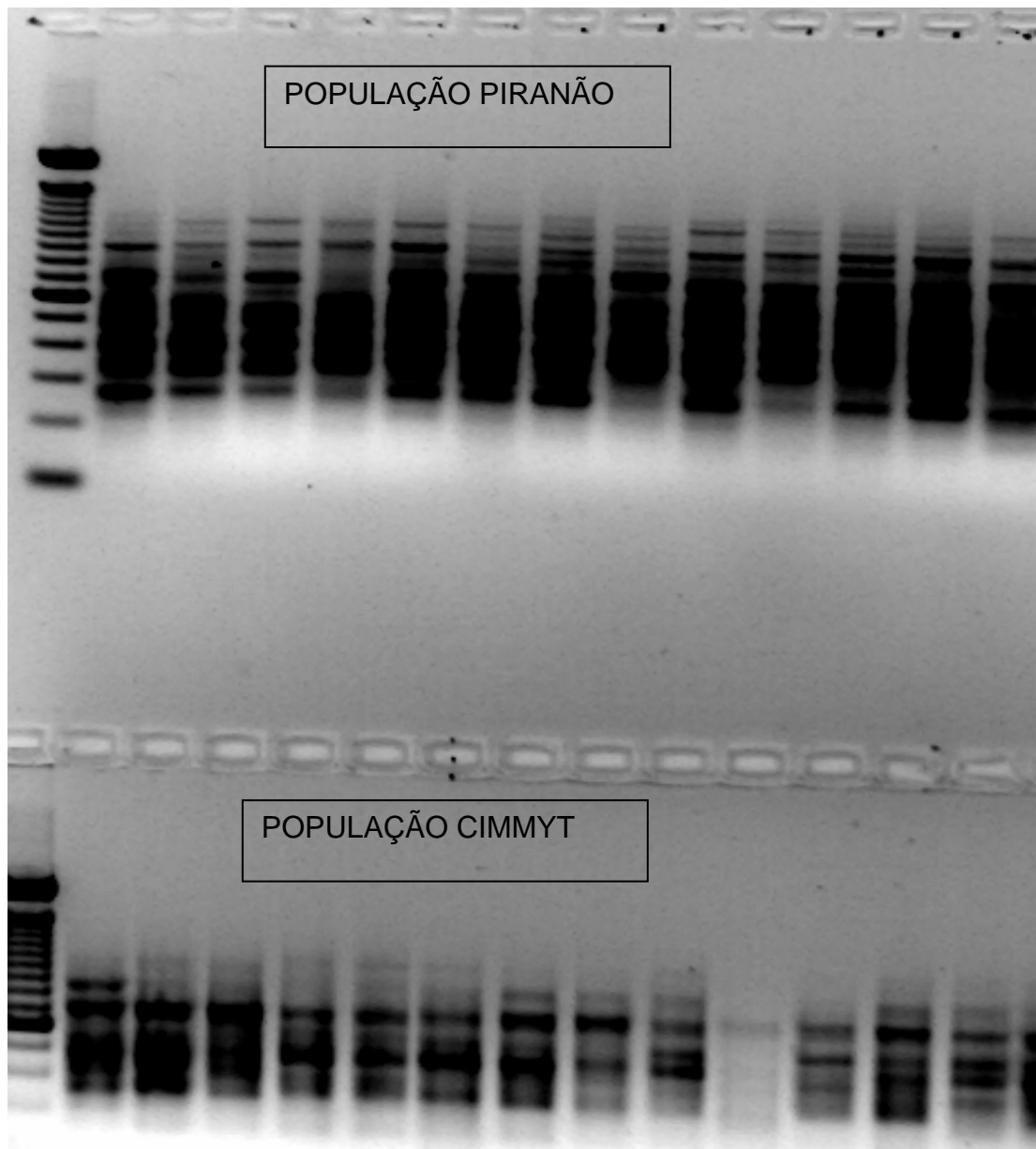


Figura 1: Foto do gel de agarose 2% com o 'primer' GC(GA)₈ mostrando um padrão diferente de amplificação entre as duas populações.

O diagrama de árvore contendo as famílias, gerado pelo método UPGMA, (Figura 2), tomando-se por base, para a formação de grupos, mudanças abruptas no diagrama mostrou nitidamente a formação de dois grandes grupos, separando assim as populações CIMMYT e Piranão.

É clara também a formação de subgrupos dentro dos dois grandes grupos formados, o que pode ser confirmado com o dendograma individual das populações CIMMYT e Piranão, (Figuras 3 e 4, respectivamente), tal fato demonstra existência de variabilidade entre e dentro das populações, indicando possibilidades de ganhos 'per si', por meio da seleção, bem como de ganhos pela

exploração da heterose em um cruzamento interpopulacional ou entre linhagens oriundas das distintas populações.

Esses resultados foram condizentes com os dados de Tardin et al. (2007) e Gabriel (2006), em que utilizando a técnica de RAPD e AFLP, respectivamente, para o estudo de divergência genética também entre famílias de irmãos completos em milho, observaram variabilidade genética tanto entre quanto dentro das populações.

Ainda em relação ao dendograma obtido na Figura 2, foi possível identificar que os genótipos 25, 37, 42, 62, 76 e 77 aparecem como 'contaminantes', definidos aqui como genótipos pertencentes a um dos grupos, mas que, no entanto, agruparam-se no outro grupo heterótico, sabendo-se que os genótipos de 1 a 42 são pertencentes ao grupo Pirão e os genótipos de 42 a 84 são representantes do grupo CIMMYT.

Algumas hipóteses são levantadas para explicar a ocorrência desses indivíduos considerados 'contaminantes': a planta originária da semente autofecundada poderia já ser proveniente da outra população ocorrendo tal infortúnio por uma mistura de sementes das duas populações; pólen da outra população pode ter polinizado a planta pertencente à população que deu origem à semente, porém a análise molecular a identificou como mais próxima geneticamente da população paterna; ou as populações mesmo sendo consideradas de grupos heteróticos distintos possuem uma sobreposição, ou seja, descendentes semelhantes, como um ponto de interseção de dois conjuntos.

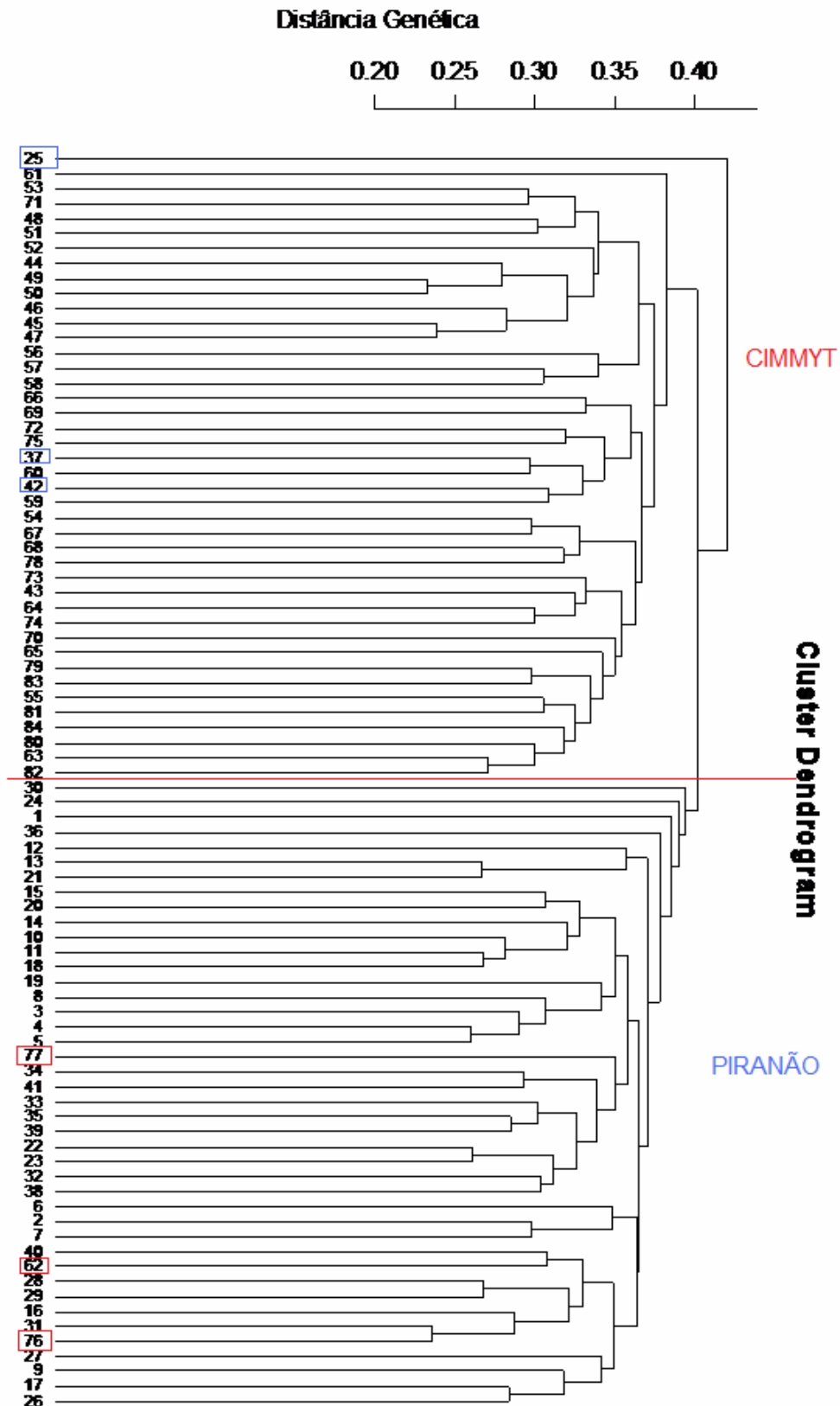


Figura 2: Dendrograma dos 84 genótipos S_1 obtido pelo método de UPGMA no Programa R. Os genótipos de 1 a 42 são do grupo Piranão e os genótipos de 43 a 84 pertencem ao grupo CIMMYT.

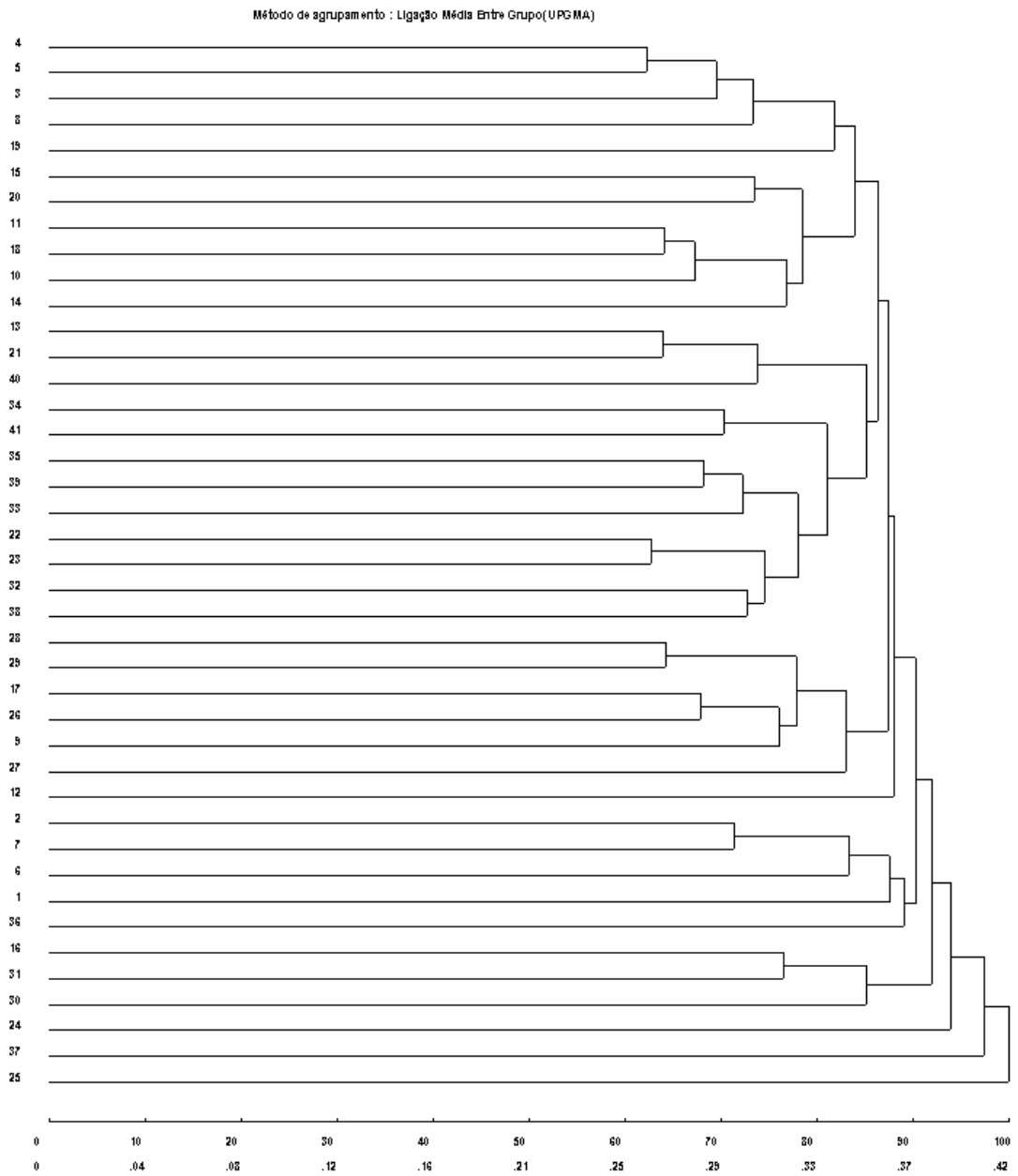


Figura 3: Dendrograma da população Piranão obtido pelo método de UPGMA.

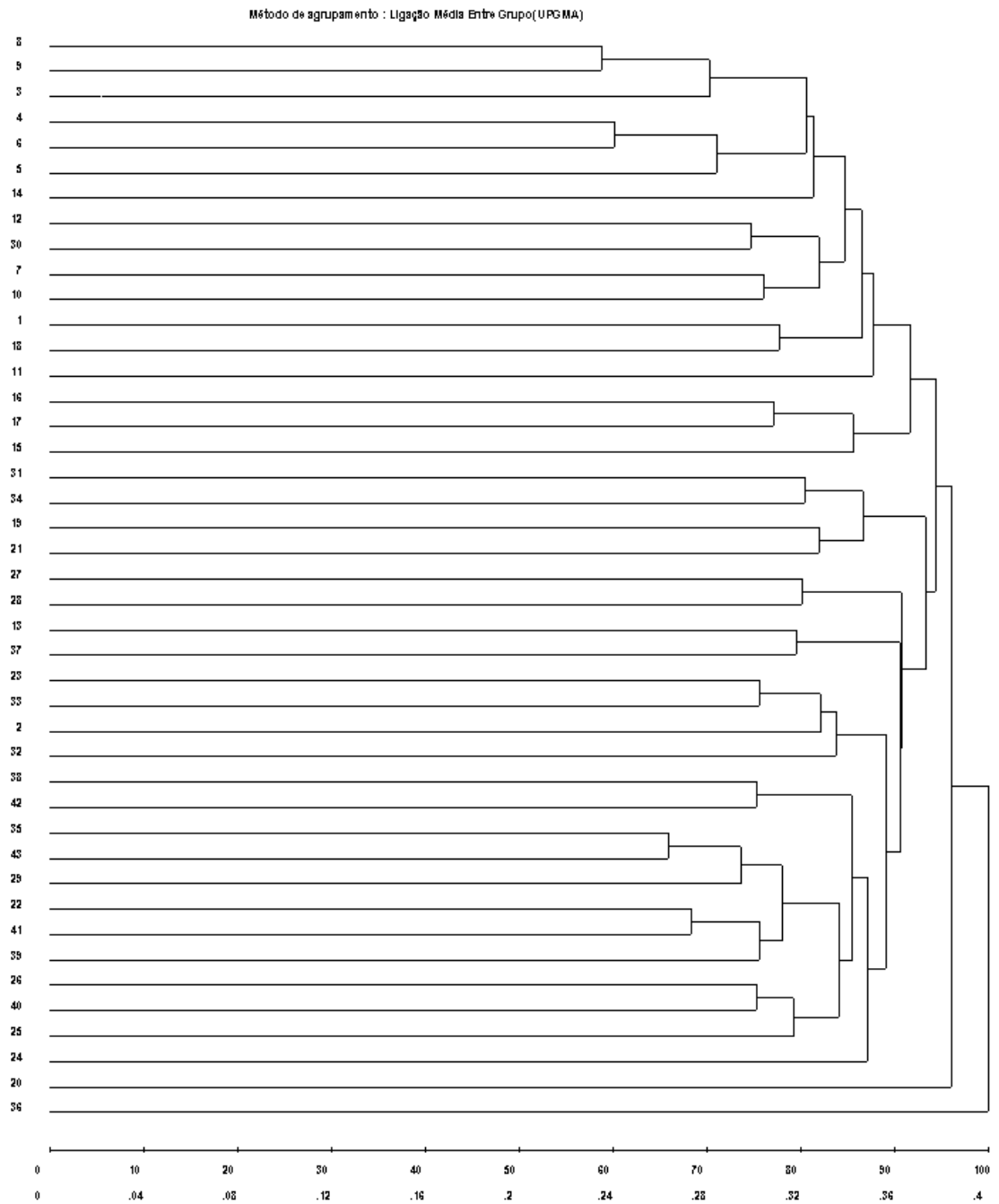


Figura 4: Dendrograma da população CIMMYT obtido pelo método de UPGMA.

A identificação de indivíduos considerados ‘contaminantes’ é importante porque indica quais genótipos devem ser eliminados da etapa de recombinação, para que seja garantida a distância genética entre as populações, fator de grande importância quando se deseja explorar a heterose.

Com a análise molecular tentou-se maximizar a variabilidade genética dentro dos grupos e ampliar a distância intergrupo, como pode ser observado nos gráficos de dispersão (Figuras 05 e 06). Com base na dispersão gráfica foi possível observar o distanciamento entre as duas populações após as devidas eliminações.

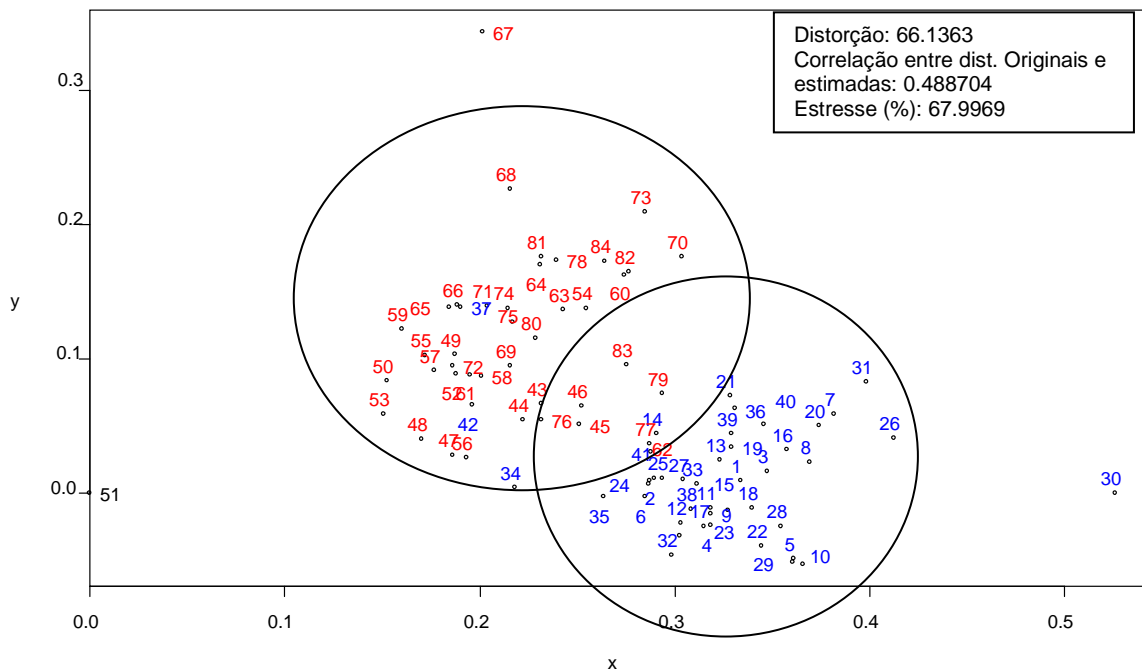


Figura 5: Gráfico de dispersão, gerado pelo Programa R, das 84 famílias genotipadas via ISSR. Genótipos em azul pertencem à população Piranão e em vermelho à população CIMMYT.

Observando-se o gráfico 6 percebe-se que os marcadores aplicados na etapa de seleção contribuíram para aumentar a distância entre as duas populações, espera-se com isso, maximizar também a heterose nos híbridos interpopulacionais e entre linhagens a serem derivadas de ambas populações.

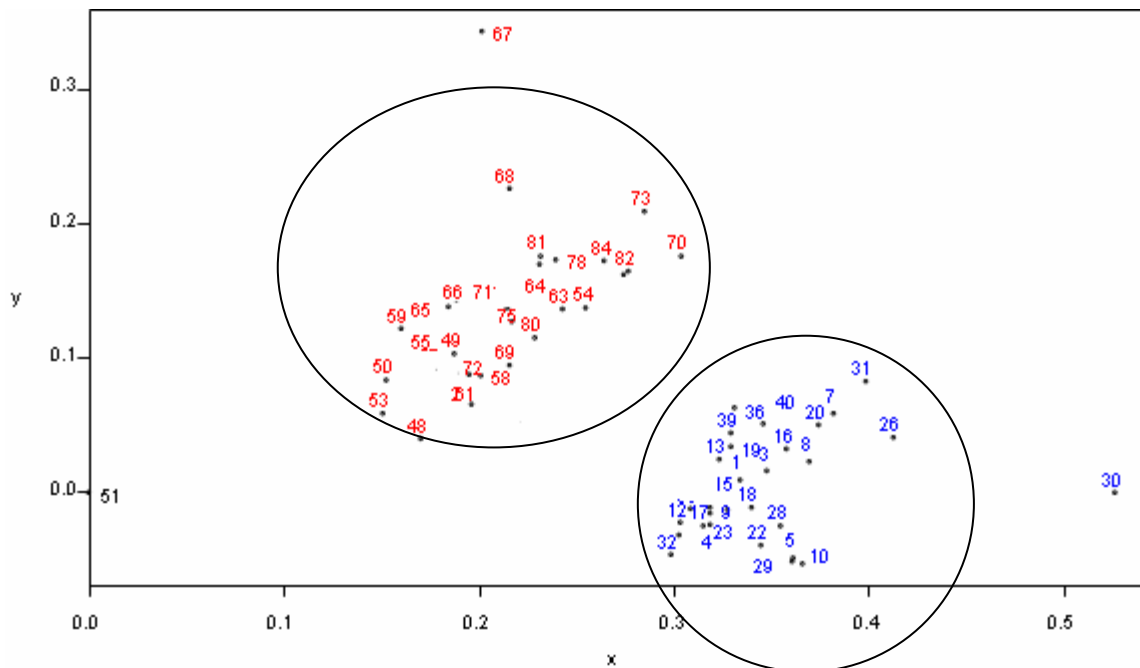


Figura 6: Dispersão gráfica das 50 famílias selecionadas para a etapa de recombinação. Genótipos em azul pertencem à população Piranão e em vermelho à população CIMMYT.

Como citado antes, a partir do oitavo ciclo de seleção de seleção, iniciou-se uma nova metodologia de seleção recorrente, que é a seleção recorrente assistida por marcadores. Os marcadores aplicados até o momento foram o RAPD, o AFLP e por último os ISSR_s. Os resultados encontrados neste ciclo de seleção estão condizentes com os ciclos anteriores, ou seja, Tardin et al. (2007) e Gabriel (2003) e Gabriel (2006) trabalhando com marcadores RAPD e AFLP, respectivamente, também encontraram divergência genética entre e dentro das populações, bem como verificaram o distanciamento entre as populações.

No entanto, os primeiros autores encontraram 84 locos RAPD polimórficos, já o segundo autor encontrou 85 locos de AFLP polimórficos, e no presente ciclo foram obtidos 114 locos polimórficos de ISSR.

Estes resultados revelam que os marcadores ISSR têm um bom poder discriminante e ainda revelam que os marcadores aplicados nos ciclos anteriores foram efetivos em aumentar a variabilidade da população, aumentando o número em locos polimórficos em ambas as populações. No entanto, para confirmar estas hipóteses são necessários mais estudos, inclusive o estudo da divergência entre os ciclos, antes e após, a aplicação dos marcadores.

3.3.6. RESUMO E CONCLUSÕES

Avaliações de diversidade genética dos potenciais genitores por meio de marcadores moleculares são muitas vezes correlacionados com resposta heterótica (Townsend et al., 2005). A escolha de genitores mais divergentes pode aumentar a performance dos híbridos obtidos ou simplesmente aumentar a chance de obter diferentes combinações gênicas de interesse (Pinto, 2002).

Portanto, conhecendo-se o nível de variabilidade genética da população e sabendo-se quais os indivíduos mais distantes geneticamente, pode-se direcionar os cruzamentos com maior exatidão, de modo que o objetivo do presente trabalho foi avaliar a divergência genética, via ISSR, entre e dentro das populações de milho CIMMYT e Piranão, as quais já foram submetidas a dez ciclos de Seleção Recorrente Recíproca.

Para tanto, com bases nos resultados do índice de seleção de Smith e Hazel, selecionou-se as 40 famílias de irmãos completos, consideradas superiores em suas características morfoagronômicas, recorreu-se então, aos seus respectivos S_1 , para submetê-los a 'genotipagem' via marcadores ISSR. Com um total de 13 "primers" de ISSR, foram obtidos 140 fragmentos amplificados de DNA, sendo que deste total 114 marcas foram polimórficas e 26 monomórficas.

Com base nos resultados foi possível concluir que:

- a) As populações CIMMYT e Piranão, mesmo tendo sido submetidas a 10 ciclos de seleção recorrente recíproca, ainda possuem variabilidade genética intra e interpopulacional suficiente para a continuidade do programa Seleção Recorrente Recíproca de milho;
- b) O ISSR mostra-se uma técnica eficiente para estudos de diversidade e na alocação dos genótipos nos seus devidos grupos heteróticos;
- c) Por meio do marcador ISSR é possível identificar indivíduos considerados 'contaminantes';

3.3.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral Júnior, A. T., Thébaut J.T.L (1999) **Análise multivariada na avaliação de diversidade em recursos genéticos vegetais**. Campos dos Goytacazes: CCTA-UENF, 55p.
- Borém, A. (2001) **Melhoramento de Plantas**, 3^o edição. Viçosa: UFV. 453 p.
- Cruz, C.D. (1997) **Programa GENES** – Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L. (1997) Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12:13-15.
- Fanceli, A. L.; Dourado Neto, D. (2000) **Produtividade de milho**. Guaíba: Agropecuária, 360p.
- Falconer, D.S. (1987) **Introdução à genética quantitativa**. Tradução: Silva, M.A, Silva,J.C. Viçosa, MG: Impr. Univ., 279p.
- Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. (1998) **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética** . Brasília: Embrapa - CENARGEM, 3^o edição, 220p.
- Gupta M, Chyisys, Romero-Severson J, Owen JL (1994) Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple sequence repeats. **Theoretical Applied Genetics** 89: 998–1006.
- Hallauer, A. R. e Miranda, J.B. (1985) **Quantitative Genetics in Mayze Breeding**. 286p
- Joshi, S.P., V.S. Gupta, R.K. Aggarwal, P.K. Ranjekar & D.S, (2000). Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter-simple sequence

repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. **Theoretical Applied Genetics** 100: 1311–1320.

Kantety, R.V., X.P. Zeng, J.L. Bennetzen & B.E. Zehr, (1995). Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. **Molecular Breeding** 1: 365–373.

Meyer, A.S. (2002) Comparação de coeficientes de similaridades usados em análises de agrupamento com dados de marcadores moleculares dominantes. **Dissertação de Mestrado em Agronomia**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba – São Paulo. 106p.

Padilha, L. (2002) Marcadores moleculares semi-automatizados e determinação da diversidade genética entre linhagens de milho tropical. **Tese de Doutorado** Lavras: UFLA. 85p.

Pinto, R.M.C.; Carlini-Garcia, L.A.; Garcia, A. A. F.; Souja Jr, C.L. (2003) Comparação entre diversidade genética molecular e capacidade específica de combinação na alocação de linhagens S₃ de milho em grupos heteróticos. **Anais do 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**. Porto Seguro, Bahia.

Reddy, M.P.; Sarla, N.; Siddiq, E.A. (2002) Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, 128: 9 – 17.

Santos, M. F., Aguiar, A. M., Filho, N. O. et al. (2003). Efeitos da seleção recorrente recíproca em um programa de melhoramento de milho. **Anais do 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**. Porto Seguro, Bahia.

Schwars, K.; Herz, M.; Huang, X.Q., Michalek, W.; Jahoor, A.; Wenzel, G.; Mohler, V. (2000) Application of fluorescence-based semi-automated AFLP analysis in barley and wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, V. 100, n.3 / 4, p. 545-551, Feb.2000.

Townsend, M. and Henning, J. A. (2005) Potential heterotic groups in hop as determined by AFLP analysis. **Crop Sci** 45: 1901-1907. Aug. 2005.

Vieira, E. A.; De Carvalho, F.I.F.; De oliveira, A.C.; Benin, G.; et al. (2005) Comparação entre medidas de distância genealógica, morfológica e molecular em aveia em experimentos com e sem a aplicação de fungicida. **Bragantia**, Campinas, V. 64, n1, p. 51-60, 2005.

Zietkiewicz E, Rajalski A, Labuda D (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics** 20:176–183.

3.4. DESEMPENHO AGRONÔMICO DE HÍBRIDOS DE MILHO ORIUNDOS DE UM PROGRAMA DE SELEÇÃO RECORRENTE RECÍPROCA

3.4.1. RESUMO

No intuito de melhorar as populações *per se* e, ao mesmo tempo, distanciá-las geneticamente, estas populações podem ser submetidas a metodologias que possibilitem identificar genótipos superiores – com base em seus caracteres morfoagronômicos de interesse e destes ainda, selecionar os mais divergentes entre e dentro das populações – possibilitando, assim, ganhos tanto na população *per se* quanto em cruzamentos. Sendo assim, fazendo uso destas metodologias, a UENF vem mantendo um programa de seleção recorrente recíproca assistida por marcadores moleculares que se encontra no 11^o ciclo. O uso dos marcadores moleculares visa aumentar a eficiência do programa a longo prazo aumentando a variabilidade genética da população e também potencializando a heterose para obtenção de híbridos interpopulacionais e também híbridos de linhagens. No entanto, os marcadores começaram a ser aplicados a partir do oitavo ciclo de seleção, de modo que se tem três ciclos, aqui chamados de seleção recorrente clássica, e três ciclos de seleção assistida por marcadores. O presente trabalho apresenta uma avaliação do progresso genético dos diferentes híbridos interpopulacionais obtidos ao longo dos diferentes ciclos de seleção recorrente

recíproca bem como avalia a contribuição dos marcadores moleculares na produtividade destes híbridos e na capitalização da heterose. Para tanto, o experimento foi avaliado no delineamento em blocos ao acaso em três locais com cinco repetições e teve como tratamento as populações parentais, CIMMYT e Piranão, nos diferentes ciclos de seleção (do 5^o ao 11^o ciclo), os respectivos híbridos interpopulacionais, bem como as testemunhas. A análise de variância demonstrou que os híbridos obtidos pelo programa estão bem próximos ou até superiores às testemunhas já bem estabelecidas no mercado. Ademais, foi revelado pela análise de regressão que há um aumento progressivo na produtividade entre os diferentes ciclos de seleção de aproximadamente 338 kg/ha/ciclo, o que, além de favorecer o valor comercial do híbrido, também beneficia o produtor que adquire tal produto. Pode-se perceber também o incremento da heterose com os diferentes ciclos, o que contribui para o aumento do vigor híbrido das plantas. Os ganhos indiretos, nas populações em cruzamento são mais evidentes e mais constantes do que os ganhos diretos nas populações 'per se' e por fim a seleção de genótipos superiores auxiliada pelos marcadores se torna uma boa alternativa para aumentar os ganhos genéticos, para dar longevidade aos programas de melhoramento, para potencializar a heterose e para ajudar as populações a manterem suas propriedades genéticas.

3.4.2. ABSTRACT

Aiming to improve each population isolated and, at the same time, to distance them genetically, these populations can be submitted to methodologies that make possible to identify superior genotypes – based on interesting morphoagronomic characters and selecting the most divergent inside and between the populations – and make possible to occur gains in each population and in crossing populations. Thus, UENF has been managing a program of reciprocal recurrent selection assisted by molecular markers that is in the 11th cycle. The use of molecular markers aims to increase the efficiency of the program in long term, increasing the genetic variability of the population and also, potentiate the heterosis in order to obtain interpopulation hybrids and line hybrids too. However, the markers has started to be applied since

the eighth selection cycle, thus, there are three cycles named classic recurrent selection, and three selection cycles assisted by markers. This work presents an evaluation of the genetic progress of the different interpopulation hybrids obtained during different cycles of reciprocal recurrent selection and, moreover, it evaluates the contribution of molecular markers to the productivity of the hybrids and to the capitalization of heterosis. Thus, the experiment was evaluated by the randomized block design in three places with five repetitions and the parental populations, CIMMYT and Piranão, the respective interpopulation hybrids and the experimental control, were the treatment used in the different selection cycles (5th to 11th). The analysis of variance showed that the hybrids obtained by the program are really close or even superior to the experimental control that had already been established in the market. Moreover, the regression analysis revealed that there is a progressive increase in productivity, about 338 kg/ha/cycle, among the different selection cycles, what favors the hybrid commercial value and benefits the farmer that buy such product. It is also possible to realize the increase of heterosis with the different cycles, what contributed to increase the hybrid force of plants. The direct gains in the populations under crossing are more obvious and constant than the direct gains in the each one of the populations and, at last, the selection of superior genotypes assisted by markers became a good alternative to increase the genetic gains, to give longevity to the improvement programs, to potentiate the heterosis and to help the populations to keep their genetic characteristics.

3.4.3. INTRODUÇÃO

Sabe-se que o incremento da produtividade envolve diversos fatores, destacando-se, entre eles, a escolha correta de uma cultivar para exploração em uma determinada região. Neste sentido, anualmente diversos híbridos de milho vêm sendo lançados no mercado, havendo necessidade de avaliá-los em uma grande amplitude de condições ambientais, visando identificar aqueles de maior potencial produtivo nas condições ambientais da região (Cardoso et al. 2003).

Atualmente, estima-se que quase 60% da área brasileira plantada com milho utiliza mais de 160 híbridos diferentes. A indústria sementeira do milho é muito

dinâmica, e a cada ano novas cultivares são recomendadas, tanto pela iniciativa privada quanto pela pública.

Diante de tantas opções, a escolha certa sobre qual híbrido plantar é fundamental para que o produtor obtenha alta produtividade e boa lucratividade. Por isso, é importante verificar periodicamente o desempenho agrônômico dos cultivares recomendados para suas respectivas regiões.

Desde o ano 2000 a UENF mantém um programa de melhoramento de milho com o método de Seleção Recorrente Recíproca, e este programa tem o objetivo de liberar ao fim de cada ciclo (dois anos), híbridos interpopulacionais oriundos do cruzamento entre as populações CIMMYT e Piranão. A cada ciclo estes híbridos tendem a ser mais produtivos, no entanto, é preciso, avaliar o desempenho de tais cultivares e averiguar, de fato, se os produtores rurais da região Norte e Noroeste Fluminense estão realmente adquirindo híbridos mais produtivos e de melhor qualidade.

O objetivo, portanto, deste trabalho é avaliar o progresso genético dos diferentes híbridos intervarietais de milho oriundos de um programa de Seleção Recorrente Recíproca em Famílias de Irmãos Completos, bem como avaliar a efetividade dos marcadores moleculares como estratégia complementar para a seleção de genótipos.

3.4.4 MATERIAL E MÉTODO

3.4.4 1. Material genético

As populações parentais CIMMYT e Piranão, as quais fazem parte do programa de seleção recorrente recíproca, se encontram no 11^o ciclo de seleção, e a cada ciclo de seleção recorrente (dois anos) é liberado um híbrido interpopulacional. Assim, os tratamentos avaliados foram os híbridos interpopulacionais do 5^o ao 11^o ciclo, seus parentais, outros híbridos que fazem parte do banco de germoplasma da UENF, bem como algumas testemunhas comerciais que se encontram disponíveis no mercado, totalizando 33 tratamentos (Tabela 1).

Quadro 1: Relação das variedades, dos híbridos interpopulacionais e de seus parentais, híbridos comerciais e suas respectivas características.

Genótipos	Ciclo	Grão	Tipo do cultivar
C5	Normal	Duro	População do 5º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Flint" (CIMMYT)
C6	Normal	Duro	População do 6º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Flint".
C7	Normal	Duro	População do 7º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Flint".
C8	Normal	Duro	População do 8º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Flint".
C9	Normal	Duro	População do 9º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Flint".
C10	Normal	Duro	População do 10º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Flint".
C11	Normal	Duro	População do 11º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Flint".
P5	Normal	Dentado	População do 5º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Dent".
P6	Normal	Dentado	População do 6º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Dent".
P7	Normal	Dentado	População do 7º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Dent".
P8	Normal	Dentado	População do 8º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Dent".
P9	Normal	Dentado	População do 9º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Dent".
P10	Normal	Dentado	População do 10º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Dent".
P11	Normal	Dentado	População do 11º ciclo de SRRIC do grupo heterótico "Dent".
C5xP5	Normal	Semi-Duro	Híbrido interpopulacional entre as populações C5 e P5.
C6xP6	Normal	Semi-Duro	Híbrido interpopulacional entre as populações C6 e P6.
C7xP7	Normal	Semi-Duro	Híbrido interpopulacional entre as populações C7 e P7.

Continua ...

Continua...

C8xP8	Normal	Semi-Duro	Híbrido interpopulacional entre as populações C8 e P8.
C9xP9	Normal	Semi-Duro	Híbrido interpopulacional entre as populações C9 e P9.
C10xP10	Normal	Semi-Duro	Híbrido interpopulacional entre populações C10 e P10.
C11xP11	Normal	Semi-Duro	Híbrido interpopulacional entre os genótipos C11 e P11.
Composto Braq.Piran/ CIMMYT	Normal	Semi-Duro	Composto formado pelo inter cruzamento das populações C8 e P8
Composto Braq. Caboclo	Normal	Semi-Duro	Composto formado por 'landraces', após a introgressão do gene <i>br₂</i> .
Fortaleza x C8	Normal	Semi-Duro	Híbrido simples
Caiano de Alegre	Normal	Duro	Variedade de polinização aberta
Cravo <i>br₂</i>	Normal	Duro	Variedade de polinização aberta
Palha roxa	Normal	Dentado	Variedade local – Muqui, ES
Fortaleza	Normal	Semi-Duro	Variedade local – Muqui, ES
BR 106	Normal	Semi-Duro	Variedade de polinização aberta
Sol da manhã	Precoce	Duro	Variedade de polinização aberta
Biomatrix	Precoce	Semi-Duro	Híbrido Simples - Biomatrix
BR 206	Precoce	Semi-Duro	Híbrido Duplo – EMBRAPA
AG-1051	Precoce	Dentado	Híbrido Duplo - Monsanto

3.4.4.2. Delineamento experimental

O experimento foi avaliado no delineamento em blocos ao acaso em três ambientes diferentes: Campos dos Goytacazes - Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo e Estação Experimental da PESAGRO-Rio e em Itaocara - Estação Experimental da PESAGRO-RIO) com cinco repetições.

Cada unidade experimental foi constituída de uma fileira de 5 metros de comprimento, espaçadas de 1 m entre fileiras, e 0,2 m entre covas.

3.4.4.3. Características avaliadas

Após o florescimento das plantas, foram avaliadas, em cada unidade experimental, as seguintes características:

- a) Produtividade – peso de grãos da fileira, convertido para kg/ha;
- b) Altura de Planta: altura média de seis plantas competitivas, medidas do nível do solo até o nó de inserção da folha-bandeira em metros;
- c) Número de plantas: número total de plantas no momento da colheita;
- d) Plantas Quebradas: número de plantas que se apresentaram quebradas, abaixo da espiga superior, no momento da colheita;
- e) Plantas Acamadas: número de plantas que apresentaram ângulo de inclinação superior a 45° com a vertical, no momento da colheita;
- f) Número de Espigas: número total de espigas colhidas;
- g) Número de Espigas Doentes: número de espigas manifestando sintomas de doença;
- h) Peso de 100 grãos: peso, em gramas, de uma amostra de 100 grãos sadios, com precisão de centésimos de gramas.

3.4.4.4. Análise estatística

3.4.4.4.1. Análise de variância

As características foram submetidas a uma análise de variância conjunta. O modelo estatístico adotado foi o modelo genético estatístico proposto por Hallauer e Miranda Filho (1987):

$$Y_{ijkl} = \mu + L_j + R/L_{ijk} + G_l + LG_{jl} + e_{ikl},$$

Onde:

μ = média experimental;

L_j = efeito fixo do j-ésimo local;

R/L_{ik} = efeito da k-ésima repetição dentro da interação entre o j-ésimo local;

G_l = efeito do l-ésimo genótipo;

GL_{ij} = efeito da interação de local e genótipo e
 e_{ikl} = erro experimental.

No Quadro 2 é representado o esquema da análise de variância, com as respectivas esperanças de quadrados médios, adotando-se o modelo misto, com efeito de genótipo e local fixos e os demais sendo aleatórios.

Quadro 2: Análise de variância com as devidas fontes de variação, os graus de liberdade, as esperanças de quadrados médios e a estatística F, considerando o efeito de ambiente como sendo fixo e os demais aleatórios.

<i>FV</i>	GL	QM	E (QM)	<i>F</i>
Bloco/Ambiente	$ae(r - 1)$	QMB	$\sigma^2 + g \sigma^2 B$	-
Ambiente (E)	$e - 1$	QME	$\sigma^2 + rg \theta E$	QMA/QMR
Genótipo (G)	$g - 1$	QMG	$\sigma^2 + re \theta G$	QMG/QMR
Genótipo* Ambiente (GA)	$(g-1)(e - 1)$	QMGL	$\sigma^2 + r \sigma^2 GE$	QMGL/QMR
Resíduo	$ae(g - 1)(r - 1)$	QMR	σ^2	QMR

$e = n^0$ de ambientes; $r = n^0$ de repetições; $g =$ número de genótipos.

3.4.4.2. Estimação dos parâmetros genéticos

As estimativas de parâmetros genéticos são importantes para identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle das características de interesse (caracteres quantitativos).

De posse das esperanças dos quadrados médios, apresentados no Quadro 2, foram obtidas as estimativas dos componentes de variância:

$$\text{Variabilidade genotípica: } \theta_{\text{g}}^2 = (\text{QMG} - \text{QMR})/rl$$

$$\text{Variância fenotípica: } \sigma_{\text{f}}^2 = \text{QMG}/rl$$

$$\text{Coeficiente de Determinação Genotípica: } H^2 = \theta_{\text{g}}^2 / \hat{\sigma}_{\text{f}}^2$$

$$\text{Heterose: } h(\%) = \frac{F1 - MP}{MP} \times 100$$

Em que: QMG = quadrado médio dos genótipos;
 QMR = quadrado médio do resíduo;
 QMGA = quadrado médio da interação genótipo e ano;
 r = repetição;
 l = locais;
 F1 = híbrido interpopulacional;
 MP = média dos parentais.

3.4.4.3. Estimação dos ganhos genéticos

Para avaliar o ganho genético dos híbridos dos diferentes ciclos de seleção, bem como o ganho das populações per si para a característica produtividade (prod) em kg/ha foi utilizada a seguinte fórmula para os ciclos de acordo com a metodologia clássica: $\Delta G = (X_{C8P8} - X_{C5P5})/3$ e para a seleção assistida por marcadores utilizou-se a fórmula $\Delta G = (X_{C11P11} - X_{C8P8})/3$ para o cálculo do ganho genético total a fórmula aplicada foi $\Delta G = (X_{C11P11} - X_{C5P5})/6$, onde:

X_{C5P5} = média do híbrido C₅P₅

X_{C8P8} = média do híbrido C₈P₈

X_{C11P11} = média do híbrido C₁₁P₁₁

3.4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média geral da produtividade de grãos foi de 4994 kg/ha, embora este valor seja bem maior que a média do estado do Rio de Janeiro que é de 2444 kg/ha (Conab, 2008), esta média está muito aquém do esperado, pois o ano agrícola 2008/2009 foi um ano com alto índice pluviométrico, o que pode ter afetado o verdadeiro potencial dos materiais genéticos.

De maneira geral, o coeficiente de variação (CV) foi mediano, com exceção para as características número de plantas quebradas (npq), acamadas (npac) e espigas doentes (Ned), que assumiram os valores 75,60; 126,40 e 67,40% respectivamente, mas no geral os valores de CV indicam um bom controle experimental (Quadro 3).

O híbrido mais produtivo, AG-1051, com produtividade média de 6866 kg/ha seguido dos híbridos C11xP11 (6440 kg/ha) e Fortaleza x C8 (6373 kg/ha), no entanto, estes valores não diferem estatisticamente. O tratamento com menor desempenho foi o Caiano de Alegre com produtividade média de 1933 kg/ha (Quadro 3).

Quadro 3: Médias dos caracteres agrônômicos dos 33 híbridos e variedades avaliados na região Norte e Noroeste Fluminense.

Tratamento	Média das características								
	Prod	Alp	Npl	Npq	Npac	Nes	Ned	P100	
C5		3093	1,77	22	2,00	1,20	22	6,00	27,63
C6		3973	1,92	22	2,50	1,26	21	4,33	26,62
C7		3271	1,83	20	5,00	1,60	21	3,26	28,73
C8		3973	1,81	22	6,50	0,93	25	3,60	28,80
C9		3586	1,80	21	4,20	1,20	23	4,53	26,58
C10		3706	1,77	22	3,01	1,40	24	4,66	27,13
C11		4200	1,83	23	3,06	0,80	25	4,73	27,84
P5		3720	1,90	23	2,00	0,40	22	3,93	31,47
P6		4200	2,01	23	1,86	1,40	26	4,26	33,20
P7		3433	1,77	22	1,33	0,46	23	3,33	32,74
P8		4306	1,88	23	3,13	1,73	27	5,20	31,81
P9		3746	1,84	22	1,60	1,13	26	4,53	29,40
P10		4666	2,00	23	2,13	1,06	31	3,40	30,60
P11		4586	1,96	23	3,45	1,53	30	2,80	29,00
C5xP5		3866	1,75	23	2,65	0,86	22	5,60	29,61
C6xP6		4733	1,98	22	2,60	1,73	25	3,80	28,17
C7xP7		4440	1,81	21	2,45	1,80	22	4,60	34,43
C8xP8		4986	1,96	23	3,53	1,66	27	3,60	29,96
C9xP9		5320	1,91	23	2,60	1,66	27	4,10	30,81
C10xP10		5173	1,94	24	2,20	2,33	28	3,40	29,63
C11xP11		6440	2,02	24	2,85	2,00	33	5,00	32,49

Continua...

Continua...

Composto	4640	1,85	25	2,85	1,33	27	4,80	31,67
Braq.Piranão/CIMMYT								
Composto Braq. Caboclo	3946	2,04	24	1,50	0,73	21	3,26	32,94
Fortaleza x C8	6373	2,20	25	1,25	0,60	27	2,40	32,19
CaianoAlegrebr ₂	1933	1,61	22	2,00	0,26	16	1,85	28,27
Cravo br ₂	3493	1,89	23	2,95	0,86	22	4,45	27,96
Palha roxa	4057	2,32	24	2,25	1,53	18	2,60	30,98
Fortaleza	4520	2,11	23	0,75	0,46	20	3,00	30,45
BR 106	5120	2,11	24	1,10	0,20	25	3,40	21,15
Sol da manhã	3640	1,65	23	1,50	0,33	21	3,40	29,17
Biomatrix	4780	1,67	24	0,33	0,00	22	2,60	29,89
BR 206	5920	1,78	24	0,60	0,26	23	2,26	27,75
AG-1051	6866	1,94	24	0,66	0,00	23	2,26	33,78
Média	4388	1,90	23	2,38	1,05	24	3,75	30
DMS (5%)	1406	0,23	3,12	2,50	1,85	5,40	3,50	5,40
CV(%)	22,89	9,00	9,60	75,60	126,40	15,71	67,40	12,90
H²	93,61	91,70	70,94	86,72	96,90	99,23	95,91	97,78

¹⁷ Prod = produtividade; Alp = altura de plantas; Npl = número de plantas; Npq = número de plantas quebradas; Npac = número de plantas acamadas; Nes = número de espigas; Ned = número de espigas doentes e P100 = peso de 100 grãos.

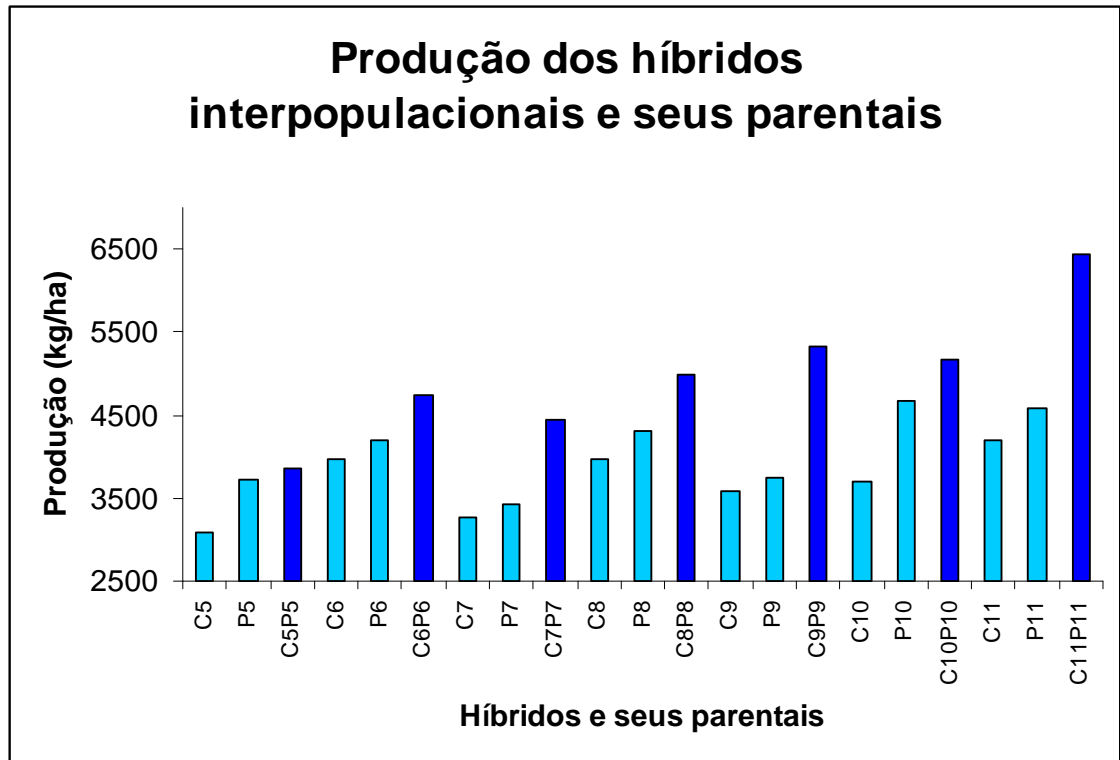
Média = média geral de cada carácter considerando os três locais;

CV (%) = coeficiente de variação de cada carácter considerando os três locais;

H² = coeficiente de determinação genotípica de cada carácter.

No Gráfico 1, é possível avaliar a diferença da produtividade média entre as populações 'per si' e seus respectivos híbridos interpopulacionais, mostrando a superioridade destes últimos e enfatizando a manifestação da heterose na produtividade de híbridos. Os híbridos interpopulacionais tornam-se uma boa alternativa para os produtores rurais porque sua semente é mais barata, pois seu sistema de obtenção é mais simples e o tempo para sua obtenção é menor que o tempo gasto para obtenção de híbridos provenientes de linhagens.

Gráfico 1: Relação da produtividade em kg/ha dos híbridos interpopulacionais e seus genitores para os diferentes ciclos de seleção recorrente recíproca.



O gráfico 2 mostra a heterose nos híbridos interpopulacionais. Observando-se este gráfico pode-se confirmar a importância da heterose para obtenção de híbridos mais produtivos, pois realizando uma comparação entre os gráficos 1 e 2 pode-se observar que os ciclos que apresentaram um valor mais alto, em porcentagem, da heterose (gráfico 3), também apresentaram uma maior média de produtividade em kg/ha (gráfico 1). Esta relação fica ainda mais evidente se observado que o valor da heterose no ciclo dez de seleção foi de 23,58%, enquanto que no ciclo nove e onze foi de 42,15 e 46,60%, respectivamente. E no gráfico 1 também se observa um pequeno decréscimo na média de produtividade no décimo ciclo de seleção (5173 kg/ha).

Gráfico 2: Valores da heterose em porcentagem por ciclo de seleção recorrente.

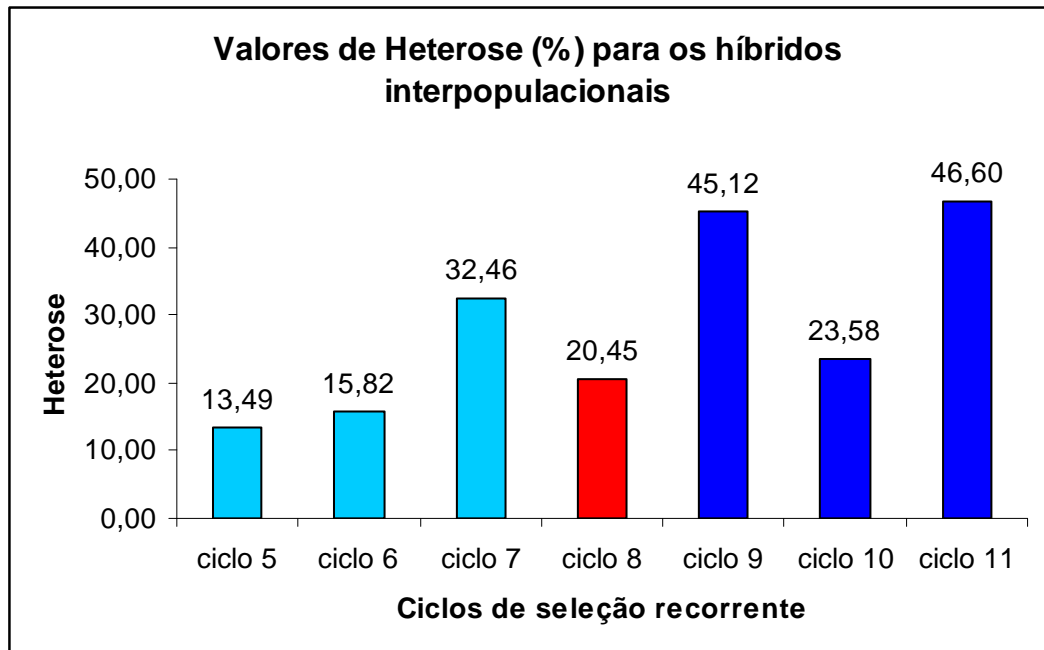
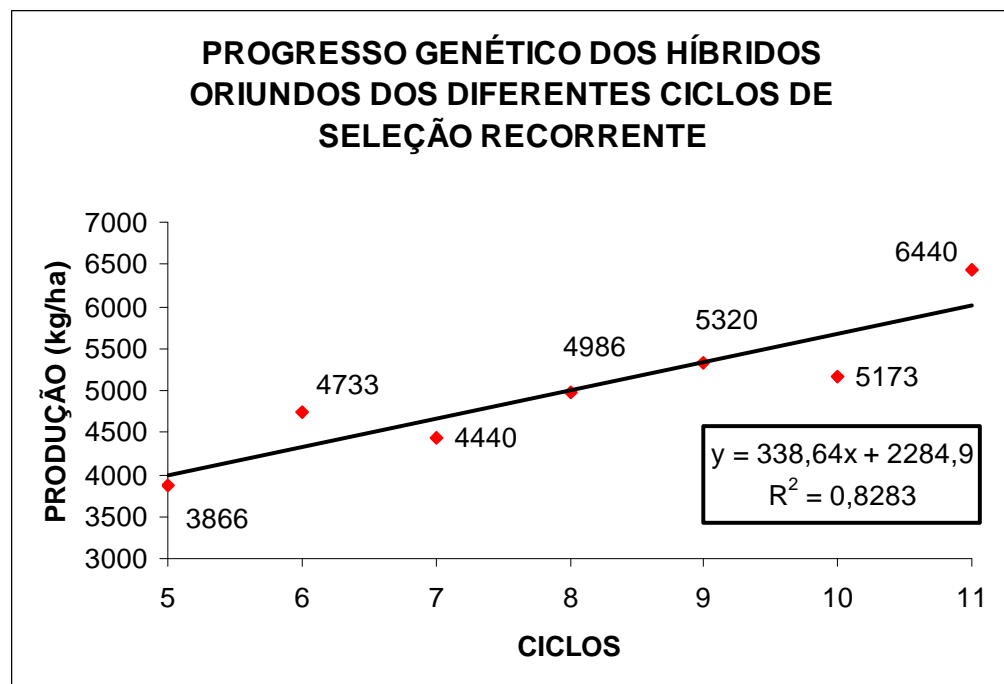


Gráfico 3: Análise de regressão comparando a produtividade em Kg/ha nos diferentes ciclos de seleção recorrente.



Ainda em relação ao gráfico 2 é importante enfatizar que após o oitavo ciclo de seleção recorrente, uma nova etapa foi inserida na metodologia descrita por Comstock e Robinson (1948). Na etapa de seleção, além da seleção das famílias superiores com base nas suas características morfoagronômicas, considera-se também a distância genética entre as famílias selecionadas, a qual é obtida com base em marcadores moleculares, potencializando, assim, a heterose.

Contudo, após a aplicação dos marcadores na etapa de seleção, o valor médio em porcentagem da heterose aumentou.

Os valores da heterose indicam que as populações CIMMYT e Piranão são realmente distantes geneticamente uma da outra, já que a heterose se manifesta devido à presença de desvios de dominância e variabilidade genética entre as populações em cruzamento. Estes resultados estão de acordo com os resultados encontrados por Tardin et al. (2007), Gabriel et al. (no prelo) e Gabriel et al. (em elaboração), quando ambos os autores avaliaram a divergência genética das referidas populações com base em marcadores moleculares do tipo RAPD, AFLP e ISSR, respectivamente, e verificaram ampla distância genética entre as populações de trabalho CIMMYT e Piranão.

De acordo com o Gráfico 3, pode-se observar o avanço na produtividade entre os diferentes ciclos de seleção recorrente recíproca. Como pode ser observado o incremento foi de aproximadamente 338 kg/ha/ciclo ou 170 kg/ha/ano, o que demonstra a efetividade do programa em aumentar em quase três sacas de milho o lucro do produtor a cada ano.

Observando o aumento da produtividade, é importante averiguar qual ou quais outras características estão contribuindo para tal aumento, deste modo, a seguir estão as análises de regressão para as características número de plantas (gráfico 4), número de espigas (gráfico 5), peso de 100 grãos (gráfico 6), peso médio de espigas (gráfico 7), número de plantas quebradas (gráfico 8) e número de espigas doentes (gráfico 9).

Comparando-se estes gráficos percebe-se que as características número de plantas e peso de espigas estão tendo um comportamento similar ao da produtividade, ou seja, aumentaram ao longo dos ciclos, indicando que tais características têm contribuído para tal aumento.

Ainda em relação a estes gráficos pode-se observar que o peso médio de espigas diminuiu ao longo dos ciclos. Este fato pode ser explicado pelo aumento da

prolificidade das populações, ou seja, plantas mais prolíficas, normalmente produzem espigas menores e com menor número de grãos, conseqüentemente tem-se espigas menos pesadas.

A análise revelou também que o número de plantas quebradas não tem se alterado ao longo dos ciclos, e o número de espigas doentes diminuiu ao longo destes ciclos, o que demonstra que a o processo de seleção está sendo eficiente também em relação a estas características, pois estas são consideradas características indesejáveis na população.

Gráfico 4

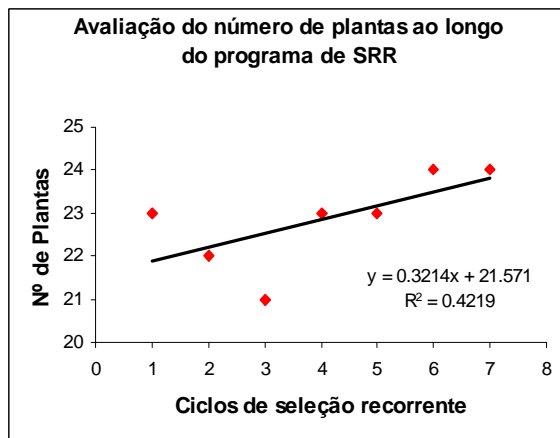


Gráfico 5

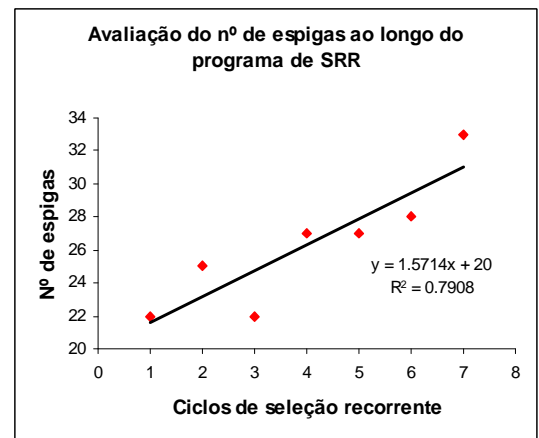


Gráfico 6

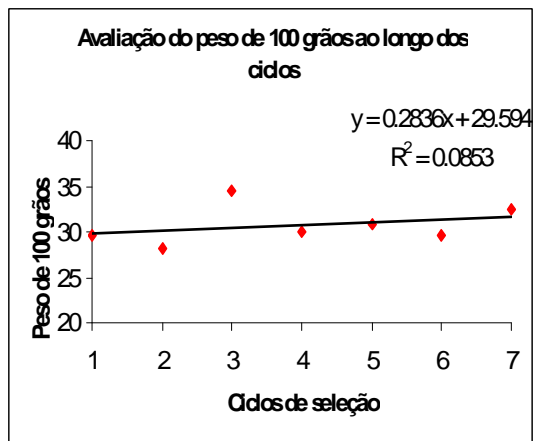


Gráfico 7

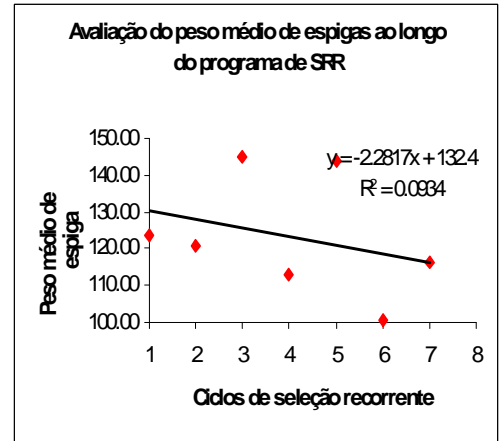


Gráfico 8

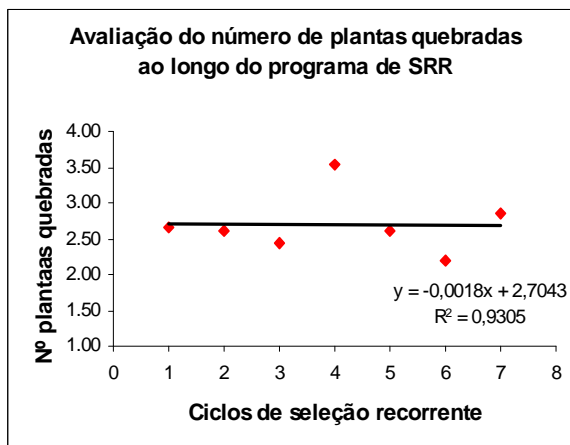
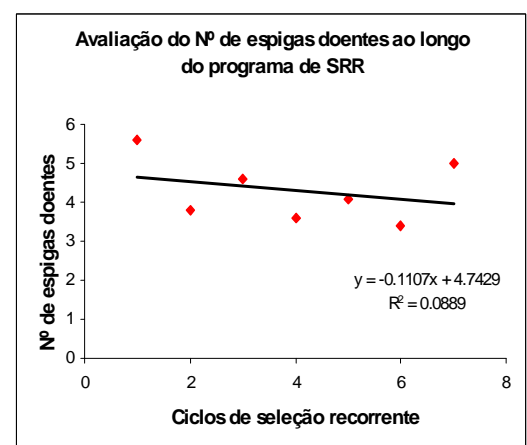


Gráfico 9



O Quadro 4 trás a relação diferenciada dos ganhos genéticos estimados para os ciclos de seleção recorrente clássicos e os ciclos de seleção monitorados por marcadores moleculares.

Quadro 4: Ganhos genéticos estimados em kg/ha/ciclo com base na média de produtividade (kg/ha) para as diferentes metodologias de seleção recorrente recíproca nos híbridos e nas populações CIMMYT e Piranão.

Método Aplicado	ΔG híbridos	ΔG pop. CIMMYT	ΔG pop Piranão
SRR clássica	373,6	293,3	195,3
SRR monitorada	484	75,6	93,3
Total	287	184,5	194,3

Com base neste quadro pode-se observar que a seleção assistida por marcadores forneceu maiores ganhos genéticos nos híbridos quando comparado com os ciclos de seleção da maneira clássica. No entanto, o ganho genético para a característica produtividade, nas populações foi bem maior nos ciclos em que houve a seleção da maneira clássica, ou seja, sem o uso dos marcadores para seleção dos genótipos mais divergentes.

Esta situação pode ser explicada, pelo fato de que quando se aplica os marcadores o número de indivíduos recombinados é menor, além disso, pode acontecer de genótipos com ótimas médias serem eliminados, por serem muito próximos geneticamente, acarretando assim, em um menor ganho nas populações, no entanto, este ganho pode ser compensado na produtividade dos híbridos por meio da exploração da heterose.

Ainda em relação ao Quadro 4 e realizando-se uma comparação entre os gráficos 10 e 11 e 12 e 13, percebe-se que os ganhos indiretos, nas populações em cruzamento são mais evidentes e mais constantes do que os ganhos diretos nas populações 'per se';

Os gráficos 10 e 11 demonstram, respectivamente, o comportamento das populações CIMMYT e Piranão em relação à característica produtividade quando submetidas à seleção recorrente clássica e à seleção recorrente assistida por marcadores.

Gráfico 10: A) Análise de regressão da população CIMMYT submetida aos ciclos de seleção recorrente clássica. B) Análise de regressão da população Piranão submetida aos ciclos de seleção recorrente clássica.

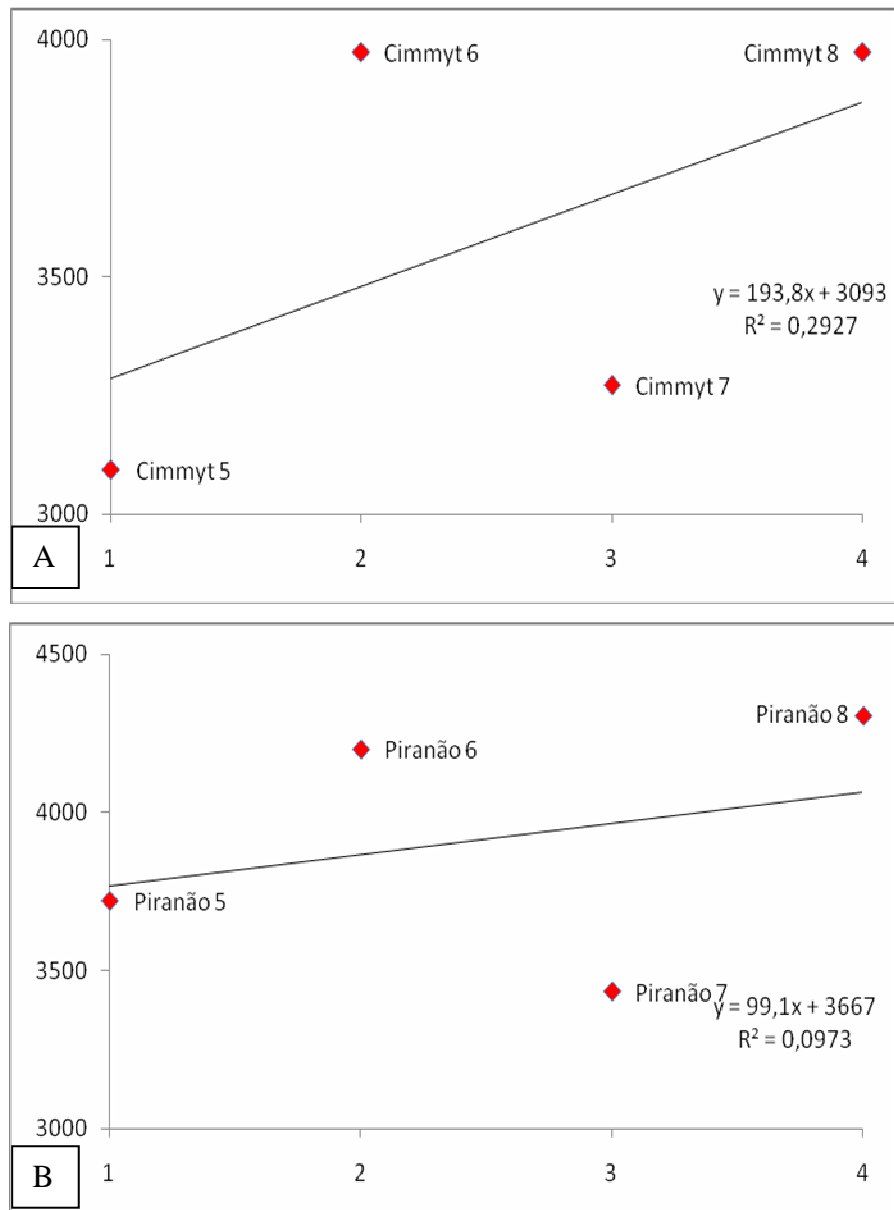


Gráfico 11: A) Análise de regressão da população Cimmyt submetida aos ciclos de seleção recorrente monitorada por marcadores moleculares. B) Análise de regressão da população Piranão submetida aos ciclos de seleção recorrente monitorada por marcadores moleculares

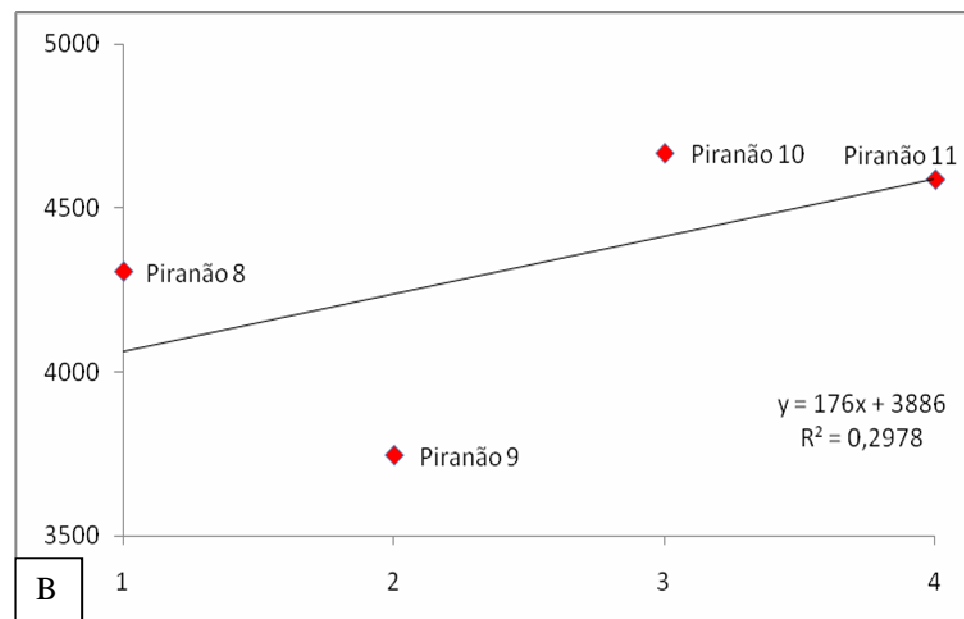
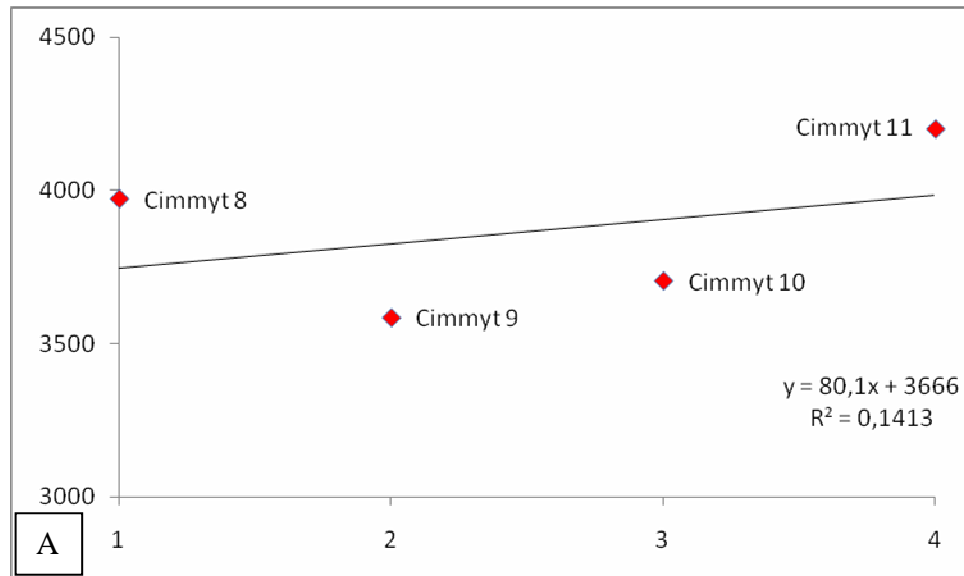


Gráfico 12: Análise de regressão dos híbridos submetidos aos ciclos de seleção recorrente clássica.

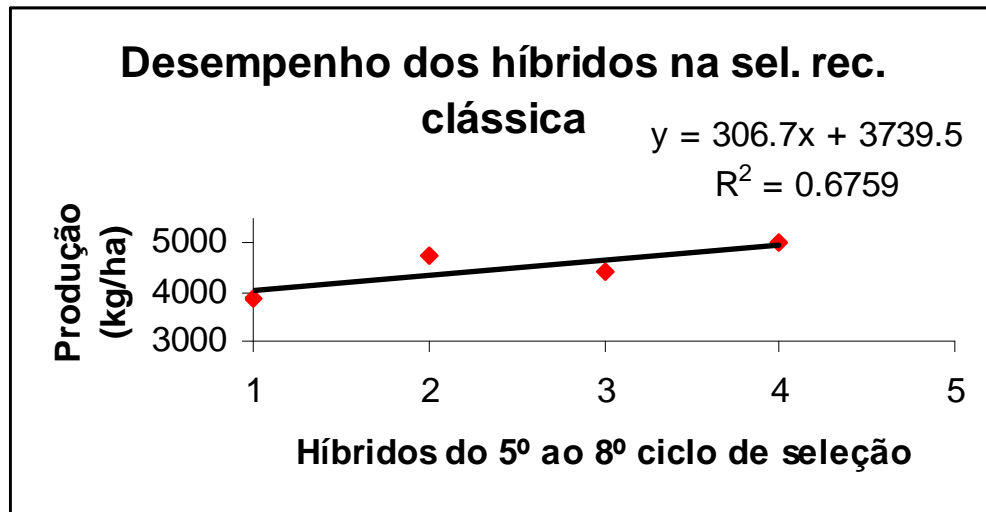
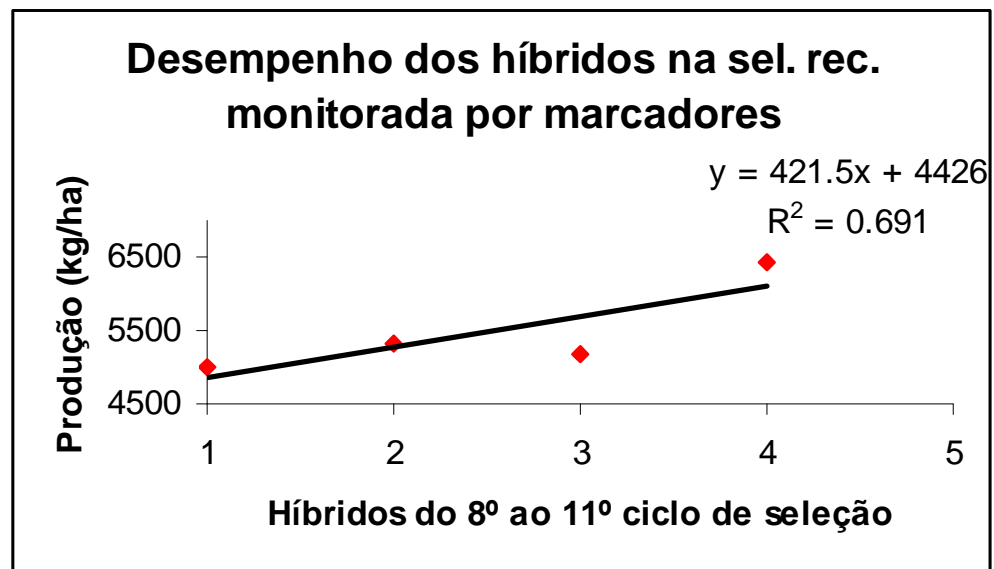


Gráfico 13: Análise de regressão dos híbridos submetidos aos ciclos de seleção recorrente monitorada por marcadores moleculares.



Pode-se observar que o desempenho foi ligeiramente maior para a seleção assistida por marcadores quando se tratam dos ganhos nas populações CIMMYT e Piranão. O avanço foi de 118 kg/ha/ciclo na seleção assistida e de 99 kg/ha/ciclo na seleção recorrente clássica.

O mesmo pode ser observado quando se considera o desempenho dos híbridos para a característica produtividade. A diferença na eficiência da seleção monitorada é ainda maior, tanto em valores absolutos quanto na diferença entre os

dois métodos. Ou seja, os ganhos observados para a seleção clássica foi de 306 kg/ha/ciclo e os ganhos para a seleção monitorada foi de 421 kg/ha/ciclo.

Estes valores demonstram que a seleção de genótipos superiores auxiliada pelos marcadores se torna uma boa alternativa para aumentar os ganhos, tanto nas populações per si quanto nas populações em cruzamento, e ainda contribuem para dar longevidade ao programa, para potencializar a heterose e para ajudar as populações a manterem suas propriedades genéticas.

3.4.6. RESUMO E CONCLUSÕES

Visando eficiência no programa de melhoramento populacional em longo prazo o presente trabalho apresenta uma avaliação do progresso genético dos diferentes híbridos interpopulacionais obtidos ao longo dos diferentes ciclos de seleção recorrente recíproca, bem como compará-los com as testemunhas já tradicionais no mercado de sementes. O experimento avaliado no delineamento em blocos ao acaso em três locais com cinco repetições teve como tratamento as populações parentais, CIMMYT e Piranão, nos diferentes ciclos de seleção (5^o ao 10^o ciclo), os respectivos híbridos interpopulacionais, bem como as testemunhas. A análise de variância demonstrou que os híbridos obtidos pelo programa estão bem próximos ou até superiores às testemunhas. No entanto, o resultado mais importante foi revelado pela análise de regressão com base na média de produtividade para os híbridos obtidos pelos ciclos de seleção, pois esta análise demonstrou que há um aumento progressivo na produtividade entre os diferentes ciclos de seleção de aproximadamente 338 kg/ha/ciclo, o que, além de favorecer o valor comercial do híbrido, também beneficia o produtor que adquire tal produto. Pode-se perceber também o incremento da heterose com os diferentes ciclos, o que contribui para o aumento do vigor híbrido das plantas.

Os resultados obtidos permitiram concluir:

a) A cada ciclo de seleção recorrente ocorreu um incremento médio de rendimento de 338 kg/ha/ciclo, ou seja, o produtor está se beneficiando de uma semente com potencial aproximado de 6 sacas de milho a mais por ha (hectare), por utilizar tais sementes melhoradas;

b) Os ganhos indiretos, nas populações em cruzamento são mais evidentes e mais constantes do que os ganhos diretos nas populações 'per se';

c) A seleção de genótipos superiores auxiliada pelos marcadores se torna uma boa alternativa para dar longevidade aos programas de melhoramento e para explorar a heterose nos cruzamentos entre as populações.

3.4.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Boletim Informativo (2006). Embrapa Milho e Sorgo.

Boletim informativo (2006). Companhia nacional de Abastecimento – Conab.

Boletim informativo (2007). Companhia nacional de Abastecimento – Conab.

Bull, L. T. **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: POTAFOS, 1993, 301 p.

Cardoso, M. J, Carvalho, H. W. L. De, Santos, M. X.;Leal, M. De L. Da S., Oliveira, A. C. Desempenho de híbridos de milho na região meio-norte do Brasil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.2, n.1, p.43-52, 2003

Coimbra, R. R. (2000). Seleção entre famílias de meios-irmãos da população DFT1-Ribeirão de milho pipoca. **Tese** (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – UFV – Viçosa – MG, 54p.

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., Carneiro, P.C.S. (2003) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 585p.

- Gomes, M. S. (1999). Heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Tese** de mestrado em Produtividade Vegetal. Lavras: UFLA. 78p.
- Goodman, M.M., Smith, J.S.C. (1987) Botânica. In: Paterniani, E., Viegas, G.P. (eds.) **Melhoramento e produtividade de milho**. Campinas: Fundação Cargill, p.41-78.
- Hallauer, A.R.; Miranda Filho, J.B. (1981). **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames. Iowa State University Press. 468 p.
- Hallauer, A.R. (1985) Compendium of recurrent selection methods and their application. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 3:01-33.
- Hull, F.H. (1945) Recurrent selection for specific combining ability in corn. *Jour. Amer. Soc. Agron.*, 37: 134-145.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2007) .
- Mangesdorf, P.C. (1974) **Corn its origin, evolution and improvment**. Cambridge, Mass, USA.
- Marques, M.J.B.S.G.S.M. (2000). Número mínimo de famílias de meios-irmãos de milho de pipoca, critérios de seleção e predição de ganhos por seleção. Viçosa: UFV, 236 p. **Tese** (Doutorado).
- Miranda, G. V. (2003) Melhoramento de milho nas Universidades. **Anais do Simpósio sobre Melhoramento e Perspectivas do Milho**. Lavras: UFLA, 2003.
- Santos, P.G.; Juliatti, F.C, Buiatti, A. L., Hamawaki, O.T. Avaliação do desempenho agrônômico de híbridos de milho em Uberlândia, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.5, p 595 – 602, 2002.
- 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, 30 (5): 683-686.

4. RESUMO E CONCLUSÃO GERAL

Com o objetivo de dar continuidade ao programa de melhoramento da UENF foi implementado o 11^o ciclo de seleção recorrente recíproca em famílias de irmãos completos assistida por marcadores moleculares, pois este método permite o aumento de freqüências de alelos favoráveis em ambas as populações, permitindo assim, ganhos diretos (na população per se) e indiretos (nas populações em cruzamento).

O uso de marcadores moleculares se justifica para o monitoramento da divergência genética entre e dentro das populações que estão sendo trabalhadas no programa de melhoramento. Esta metodologia está sendo aplicada desde o oitavo ciclo de seleção, de modo que já se obteve três ciclos de seleção recorrente de maneira clássica e três ciclos de seleção recorrente monitorados por marcadores moleculares. Os marcadores utilizados foram o RAPD no nono ciclo, o AFLP no décimo ciclo e para a obtenção deste ciclo, décimo primeiro, foi aplicado o marcador do tipo ISSR.

No entanto, como este programa visa a obtenção de híbridos torna-se necessário avaliar também o progresso genético desses híbridos, os quais são obtidos a cada ciclo de seleção, e checar também o papel da genotipagem molecular como estratégia complementar de seleção de genótipos superiores para maximizar a divergência genética intra e interpopulacional na seleção recorrente recíproca.

Para tanto, avaliou-se 242 famílias de irmãos completos no delineamento em látice em dois ambientes, Campos e Itaocara, e estimou-se os parâmetros

genéticos das populações CIMMYT e Piranão, as quais deram origem aos irmãos completos. A etapa de seleção foi potencializada pela utilização do índice de seleção de Mulamba & Mock, o qual potencializou a seleção elegendo as 40 famílias de irmãos completos consideradas superiores em suas características morfoagronômicas. Tais famílias, após selecionadas, foram submetidas à genotipagem via marcadores ISSR, para que se pudesse avaliar a distância genética dos genótipos a serem recombinados e selecionar apenas aqueles mais divergentes na etapa de recombinação, favorecendo, assim, a heterose.

Pelos resultados encontrados no presente trabalho, as seguintes conclusões foram possíveis:

- a) Foi detectada suficiente variabilidade a ser explorada nos sucessivos ciclos de seleção recorrente recíproca;
- b) A ausência de significância para a interação genótipos por ambiente sugere que há possibilidade de recomendação simultânea de genótipos superiores para ambos os locais;
- c) A seleção recorrente recíproca tem se mostrado um método efetivo em proporcionar ganhos genéticos e assegurar, assim, o avanço de gerações;
- d) Os índices de seleção avaliados foram eficientes na identificação de famílias superiores constituindo-se numa ferramenta útil para se obter ganhos simultâneos em duas ou mais características;
- e) O índice de Mulamba & Mock permitiu a predição de ganhos superiores em maior número de caracteres;
- f) O índice de Mulamba & Mock foi efetivo em predizer ganhos genéticos satisfatórios em produção e nas demais características avaliadas, o que favorece a continuidade do programa de melhoramento de milho na UENF com essas populações.

- g) As populações CIMMYT e Piranão, mesmo já tendo sido submetidas a 10 ciclos de seleção recorrente recíproca, ainda possuem variabilidade genética intra e interpopulacional suficiente para a continuidade do programa Seleção Recorrente Recíproca de milho;
- h) O ISSR mostrou-se uma técnica eficiente para estudos de diversidade e na alocação dos genótipos nos seus devidos grupos heteróticos;
- i) Por meio do marcador ISSR foi possível identificar indivíduos considerados 'contaminantes', os quais foram eliminados da etapa de recombinação e
- j) O gráfico de dispersão dos genótipos selecionados mostrou a existência de variabilidade genética em ambas as populações e ainda o distanciamento genético entre as duas, por meio da eliminação dos genótipos mais próximos geneticamente;
- l) A cada ciclo de seleção recorrente ocorreu um incremento médio de rendimento de 338 kg/ha/ciclo, ou seja, o produtor está se beneficiando de uma semente com potencial aproximado de 6 sacas de milho a mais por ha (hectare), por utilizar tais sementes melhoradas;
- m) Os ganhos indiretos, nas populações em cruzamento são mais evidentes e mais constantes do que os ganhos diretos nas populações 'per se';
- n) A seleção de genótipos superiores auxiliada pelos marcadores se torna uma boa alternativa para dar longevidade aos programas de melhoramento, para capitalizar a heterose e para ajudar as populações a manterem suas propriedades genéticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allard, R.W. Princípios do melhoramento genético em plantas. São Paulo: Ed. Blucher, 1971.381p.

Amaral Júnior, A. T., Thébaut J.T.L (1999) Análise multivariada na avaliação de diversidade em recursos genéticos vegetais. Campos dos Goytacazes: CCTA-UENF, 55p

Araújo, I.S. (2002) Mapeamento genético e identificação de QTLs associados ao teor de manteiga na amêndoa do cacaueiro (*Theobroma cacao L.*). Tese de Mestrado em Produtividade Vegetal. UENF. CCTA. Campos dos Goytacazes - RJ, 52p.

Asensio, L.J. (1989) Técnicas de análisis de datos multidimensionales: bases teoricas y aplicaciones en agricultura. Madri: Neografis, 301p.

Benchimol, L.L., Souza JR, C.L., Garcia, A.A.F., Kono, P.M.S., Mangolin, C.A., Barbosa, A.M.M., Coelho, A.S.G., Souza, A.P. (200). Genetic diversity in tropical maize inbred lines: heterotic group assignment and hybrid performance determined by RFLP markers. Plant Breeding, v. 119; p.491-496.

Boletim informativo (2003). Companhia nacional de Abastecimento - CONAB

Borém, A. (2001) *Melhoramento de Plantas*, 3^o edição. Viçosa: UFV. 453 p.

Borém, A (1999). *Melhoramento de plantas Cultivadas*. Viçosa: UFV.817p

Bull, L.T. e Cantarella, H (1993) *Cultura do Milho*. 301p.

Cattaneo, L. F. , Daher, R. F., Marin, S.L.D., Pereira, M.G. (1999) Avaliação de divergência genética em mamoeiro (*Carica papaya L.*) utilizando marcadores RAPD. *Genetics and Molecular Biology*, v.22, n.3-supplement, p.524

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., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. ((2004) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. V.1, 3.ed. Viçosa: UFV, 480p.

Cruz, C.D., Vencovsky, R., Oliveira e Silva, S., Tosello, G.A., De Oliveira e Silva, S. (1993). Comparison of gains for selection among corn progenies based on different criteria. *Revista Brasileira de Genética*, 16:1, 79-89.

Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2003) *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 585p.

Cruz, C.D. (2001) Programa GENES – Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV

Daher, R.F. (2003) Cruzamentos dialélicos entre capim-elefante (*Pennisetum purpureum Schum*) e milheto (*Pennisetum glaucumL.*) e suas relações com a divergência genética. Tese de Doutorado em Produtividade Vegetal. Campos dos Goytacazes - UENF.RJ, 125p.

Daros, M. (2003) Melhoramento de milho pipoca:seleção recorrente em famílias de irmãos completos e progênies S₁. Tese de Doutorado em Produtividade Vegetal. Campos dos Goytacazes - UENF.RJ, 92p.

Daros, M., Amaral Junior, A.T., Pereira, M.G., Santos, F.S., Scapim, C.A., Freitas Junior, S.P., Daher, R.F., Ávila, M.R. (2004) Correlações entre caracteres agronômicos em dois ciclos de seleção recorrente em milho pipoca. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.34, n. 5, p. 1389-1394, set.-out. 2004.

Daros, M., Amaral Junior, A.T., Pereira, M.G., Santos, F.S., Gabriel, A.P.C., Scapim, C.A., Freitas Junior, S.P., Silvério, L. (2004). Recurrent selection in inbred popcorn families. *Sci. Agri.*, Piracicaba, v. 61, n. 6, nov-dez, 2004.

Doebley, J. (1990) Molecular evidence and the evolution of mayze. *Economic Botany*, New York, v. 44, n.3 p. 6-27.

Doyle, J.J. & Doyle, J.L. (1997) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, v.12:13-15.

Eberhart, S.A., Debela, S., Hallauer, A.R. (1973) Reciprocal recurrent selection in the BSSS and BSCB1 maize varieties and half sib selection in BSSS. *Crop Sci.* 13: 451-456

Facelli, A.L., Dourado Neto, D. (2000) *Produtividade de milho*. Guaíba: Agropecuária, 360p.

Falconer, D.S. (1987) Introdução à genética quantitativa. Tradução: Silva, M.A, Silva, J.C. Viçosa, MG: Impr. Univ., 279p.

Ferreira, C.F. (2002) Marcadores de DNA no mapeamento de regiões genômicas do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) associados à resistência ao cretamento bacteriano comum. Tese de Doutorado em Produtividade Vegetal. Campos dos Goytacazes - UENF.RJ, 98p.

Fehr, W.R. (1987) Principles of cultivar development. Theory and technique. Volume I. Macmillan Publishing Company. New York. 536p.

Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética . Brasília: Embrapa - CENARGEM, 3º edição, 220p.

Gabriel, A.P.C. (2004) Marcadores de DNA como ferramenta para maximizar os ganhos genéticos em um programa de seleção recorrente recíproca de famílias de irmãos completos em milho (*Zea mays* L.). Campos dos Goytacazes: UENF, 34p. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas).

Galiant, W. Evolution of corn. Adv. in Agron. Vol. 47, pág 203 a 229. 1992

Galinat, W.C. (1973) Intergenomic mapping of maize, teosinte, and tripsacum. *Evolution*, 27, 644-655.

Gomes, M. S. (1999) Heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho. Tese de mestrado em produtividade Vegetal. Lavras: UFLA. 78p.

Granate, M. J.; Cruz, C. D.; Pacheco, C. A. P. (2002) Predição de ganho genético com diferentes índices de seleção no milho pipoca CMS-43. *Pesq. Agrop. Bras.* Brasília, V.37, n 7, p. 1001 – 1008, Jul. 2002.

Goloubinoff, P.; Paabo, S.; Wilson, A.C. (1993) Evolution of maize inferred from sequence diversity of an Adh 2 gene segment from archaeological specimens. *Proceedings of the National Academy Sciences*. Washington, D.C., V. 90, p. 1997-2001.

Guimarães, C. T. (2003) Técnicas moleculares aplicadas ao melhoramento de milho. *Anais do Simpósio sobre Melhoramento e Perspectivas do Milho*. Lavras: UFLA, 2003.

Hallauer, A.R. and Eberhart, S.A. (1970) Reciprocal full-sib selection. *Crop Sci.* 10:315-16.

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. (1988) *Quantitative genetics in maize breeding*. 2 ed. Ames. Iowa State University Press. 468 p.

Hazel, L.N. The genetic basis for construction selection indexes. **Genetics**, Austin, v.28, p.476-490. 1943.

Helms, T.C.; Halluer, A .R. Smith, O.S. (19889) Genetic drift and selection evaluated from selection programs in mayze. *Crop Scienc* 29: 602-607.

Hull, F.H. (1945) Recurrent selection for specific combining ability in corn. *Jour. Amer. Soc. Agron.*, 37: 134-145.

Linares, E. (1987) Seleção recorrente recíproca em famílias de meios-irmãos em milho pipoca (*Zea mays L*). Tese Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas. Piracicaba, SP., Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 78 p.

Lubbers, E.L., Arthur, L., Hanna, W.W. e Osiasakins, P.(1994) Molecular markers shared by diverse apomictic pennisetum species. *Theoretical and Applied Genetics*, 89(5):636.

Mangesldorf, P.C. (1974) *Corn its origin, evolution and improvment*. Cambridge, Mass, USA.

Martins, E.R. (2000) Conservação da Poaia (*Psychtrya ipecacuanha*): coleta, ecogeografia, variabilidade genética e caracterização reprodutiva. Tese de Doutorado em produtividade Vegetal. Campos dos Goytacazes: CCTA-UENF. 109p.

Milach, S.C.K. (1998) Marcadores Moleculares em plantas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, porto Alegre, p. 17-28.

Miranda, G.V, Coimbra, R.R., Godoy, C. L., Souza, L. V., et al.. (2002) Potencial de melhoramento e divergência genética de cultivares de milho pipoca. *Pesq. agrop. Bras.*, vol 39.

Miranda, G. V. (2003) Melhoramento de milho nas Universidades. *Anais do Simpósio sobre Melhoramento e Perspectivas do Milho*. Lavras: UFLA, 2003

Padilha, L. (2002) Marcadores moleculares semi-automatizados e determinação da diversidade genética entre linhagens de milho tropical. Tese de Doutorado Lavras: UFLA. 85p.

Paterniani, E. e Vencovsky, R. (1977) Reciprocal recurrent selection in maize (*Zea mays* L.) based on the testcross of half-sib families. *Maydica* 22: 141-152.

Paterniani, E. (1980) Melhoramento e Produtividade do Milho no Brasil. Fundação Cargil. Vol. único 650p.

Paterniani, E., Campos, M.S. (1999) Melhoramento do milho. In: Borém, A. (Editor). *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa: Editora UFV. p. 429-485.

Pereira, J. R. (1985) Seleção de irmãos completos, visando a qualidade da semente e outros caracteres agrônômicos em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Viçosa: UFV. 85p. Tese (Mestrado)

Pinto, R.J. B. (1995) Introdução ao melhoramento genético de plantas. Maringá. 275p.

Pinto, R.M.C.; Carlini-Garcia, L.A.; Garcia, A. A. F.; Souja Jr, C.L. (2003) Comparação entre diversidade genética molecular e capacidade específica de combinação na alocação de linhagens S₃ de milho em grupos heteróticos. *Anais do 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas*. Porto Seguro, Bahia.

Ramalho, M. P., Bosco J.Pinto.C.A. (2000) *Genética na Agropecuária*. Lavras: UFLA, 2000. 472p.

Ronzelli Junior, .(1996). Melhoramento Genético de Plantas. Curitiba. 219p.

Tardin, F.D. (2001) Diversidade morfoagronômica e molecular em acessos de alface (*Lactuca sativa*). Mestrado em produtividade vegetal. Campos dos Goytacazes: CCTA-UENF. 61p.

Santos, N.T. (1991) Seleção recorrente recíproca entre as variedades braquíticas de milho (*Zea mays* L.) 'Piranão' e 'Çimmyt', usando famílias de irmãos germanos obtidas de plantas prolíficas. Viçosa: UFV, 76 p. Tese (Mestrado).

Santos, F.S., Daros, M., Amaral Júnior, A.T., Pereira, M.G., Tardin, F.D., Riva, E.M. (2003) Uso do índice de seleção de Smith & Hazel na população de milho pipoca UNB-2U para obtenção do segundo ciclo de seleção recorrente. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. Londrina - PR: Brazilian Society of Plant Breeding, 2003. v.2. p.9 – 12

Santos, M. F., Aguiar, A. M., Filho, N. O. et al. (2003). Efeitos da seleção recorrente recíproca em um programa de melhoramento de milho. Anais do 2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. Porto Seguro, Bahia.

Santos, F.S. (2005) *Seleção recorrente entre famílias de meios-irmãos da população unb-2u de milho pipoca (Zea mays L.)*. Doutorado em Produtividade Vegetal. Campos dos Goytacazes: CCTA-UENF. 95p.

Silva, P.C.; Osuna, J.T.A.; Queiroz, S.R.de O.D.; Paiva, L.M. (2003) Seleção recorrente recíproca em milho (*Zea mays* L.), obtenção e avaliação de híbridos forrageiros. *Sitientibus* 3 (1/2): 125-130.

Silva, R.M.; Miranda Filho, J.B. (2003) Heterose em cruzamentos entre populações de milho: peso de espigas. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, V. 60, n.3.

Souza, P.M.; Braga, M.J. in: Galvão, J.C.C.; Miranda, G. V. (2004) Tecnologias de produtividade de milho. Viçosa, UFV, 366p.

Vieira, E.A.; Zimmer, P.D.; Oliveira, A.C.; Carvalho, F.I.F.; Malone; Benin, G. (21002) Emprego de modelos gráficos na seleção de genitores de milho paa hibridização e mapeamento genético. *Ciência Rural*, Santa Maria, V. 35, n.5, p.986-994, set-out.

Vilarinho, A. A.; Viana, J.M.S.; Santos, J.F.; Câmara, T.M.M. (2003) Eficiência da seleção de progênies S_1 e S_2 de milho pipoca, visando à produtividade de linhagens. *Bragantia*, Campinas – SP, 62(1): 9 –17.

Viliela, F.O.(2004) Impacto da seleção recorrente na variabilidade genética da população UNB-2U de milho pipoca (*Zea mays* L.) por meio de marcadores RAPD. Doutorado em Produtividade Vegetal. Campos dos Goytacazes: CCTA-UENF. 94p.

Von Pinho, R. G. (2003) Produtividade de milho no Brasil e no mundo: Realidade e perspectiva. . *Anais do Simpósio sobre Melhoramento e Perspectivas do Milho*. Lavras: UFLA, 2003.

Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M. Et al. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprint. *Nucleic Acides Research*. 23 (21):4407-4414