

DIVERSIDADE GENÉTICA FUNCIONAL EM LINHAGENS DE MILHO-
PIPOCA (*Zea mays* L. var. Everta) VIA MARCADORES SSR-EST

LAVÍNIA SANTANA LADEIRA GOMES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO - 2025

DIVERSIDADE GENÉTICA FUNCIONAL EM LINHAGENS DE MILHO-
PIPOCA (*Zea mays* L. var. Everta) VIA MARCADORES SSR-EST

LAVÍNIA SANTANA LADEIRA GOMES

“Dissertação 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 Mestra em Genética e Melhoramento de Plantas”

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Vivas

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO – 2025

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

G633

Gomes, Lavínia Santana Ladeira.

Diversidade Genética Funcional em Linhagens de Milho-Pipoca (*Zea mays* L. var. Everta) Via Marcadores *SSR-EST* / Lavínia Santana Ladeira Gomes. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

112 f.

Bibliografia: 72 - 100.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025. Orientador: Marcelo Vivas.

1. Microsatélites. 2. Dissimilaridade. 3. Heterose. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

DIVERSIDADE GENÉTICA FUNCIONAL EM LINHAGENS DE MILHO-
PIPOCA (*Zea mays* L. var. Everta) VIA MARCADORES SSR-EST

LAVÍNIA SANTANA LADEIRA GOMES

"Dissertação 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 Mestra em Genética e Melhoramento de Plantas."

Aprovada em 10 de fevereiro de 2025

Comissão Examinadora:



Documento assinado digitalmente
AMANDA GONCALVES GUIMARAES
Data: 13/03/2025 18:45:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Amanda Gonçalves Guimarães (D. Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UFVJM

Prof.^a. Helaine Christine Cancela Ramos (D. Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF

Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D. Sc., Genética e Melhoramento) - UENF

Prof. Marcelo Vivas (D. Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, fonte de toda sabedoria e graça, que me capacitou e guiou em cada passo desta jornada, concedendo-me força e entendimento para buscar um futuro melhor para mim e para a minha família.

Dedico também ao meu sobrinho, Vicente Gomes da Silva, para que o esforço da sua família se torne um forte exemplo na sua vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela capacitação, direcionamento e graça que me concedeu durante todo o percurso deste trabalho;

Agradeço a minha mãe, Gisele Santana Ladeira, pelo amor incondicional e por ter me ensinado o quão transformadora é a educação. A minha irmã, Lívia Ladeira Gomes, por ouvir e me aconselhar em todos os passos até aqui. A minha família de modo geral, seja de sangue ou de coração, sou eternamente grata por tudo o que fizeram e fazem por mim;

Ao meu orientador, Doutor Marcelo Vivas, pelo apoio acadêmico e pessoal. Obrigada por ver seus alunos de forma muito humana, sempre paciente e solícito. Agradeço também aos meus conselheiros Doutora Helaine Christine Cancela Ramos e Doutor Antonio Teixeira do Amaral Júnior pelos ensinamentos e contribuições ao longo do desenvolvimento deste projeto;

Aos membros da banca, que incluem os meus conselheiros e à Doutora Amanda Gonçalves Guimarães pela disponibilidade em contribuir com o meu trabalho. Aos membros suplentes, à Doutora Monique Moreira Moulin e à Doutora Lília Marques Gravina. Os comentários e críticas construtivas de todos são essenciais para aprimorar esta pesquisa e a minha formação profissional;

Aos meus colegas de laboratório por toda troca ao longo dos anos. Aos meus colegas e amigos, em especial Lília Marques Gravina e Alex Souza Rodrigues, pelo suporte e disponibilidade em ajudar. Ao meu namorado Filipe da Silva Nascimento, pelo companheirismo, incentivo e inúmeras horas de auxílio;

Agradeço também ao Laboratório de Engenharia Agrícola que me acolheu desde a graduação. Também ao Setor de Marcadores Moleculares de DNA/LMGV pelo fornecimento de recursos, infraestrutura e ambiente de trabalho, que tornaram este estudo possível. Agradeço à técnica Marcela Santana Bastos Boechat por todo conhecimento compartilhado e paciência para ensinar;

Agradeço à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pela formação que me proporcionou desde a graduação, assim como ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da UENF pela excelente formação acadêmica e pela oportunidade de desenvolver minha pesquisa. Agradeço à coordenação do programa, em especial o secretário José Daniel Valle de Almeida e à coordenadora Helaine Christine Cancela Ramos, sempre próativos e dispostos a ajudar;

Agradeço aos órgãos de fomento que permitiram o desenvolvimento do presente trabalho, que incluem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); e destaco que o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, colaboraram com este trabalho, seja com palavras de encorajamento ou com ajuda prática. A cada um de vocês, meu sincero agradecimento.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo geral	4
2.2. Objetivos específicos	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Aspectos gerais sobre a cultura do milho-pipoca	5
3.2. O milho-pipoca como milho especial	7
3.3. Importância econômica	9
3.4. Importância social	10
3.5. Desafios na produção do milho-pipoca	10
3.6. Marcadores moleculares em pesquisas de diversidade	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1. Aquisição do material vegetal	14
4.2. Extração do DNA	17
4.3. Quantificação do DNA	17
4.4. Seleção dos <i>primers</i>	18
4.5. Reação em cadeia da polimerase - PCR	24

4.6. Protocolo de eletroforese capilar	25
4.7. Análise de dados	25
4.7.1. Parâmetros de diversidade	25
4.7.2. Métodos de agrupamento	27
4.7.3. Caracterização fenotípica e fator de correção de dados	28
4.7.4. Análise de correlação canônica	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1. Estrutura populacional por índices de fixação alélica	31
5.2. Diversidade genética funcional	35
5.3. Estrutura genética da população (Método <i>Bayesiano</i>)	39
5.4. Estrutura genética da população (Método Hierárquico)	44
5.5. Comparação entre as metodologias de agrupamento	46
5.6. Diversidade genética funcional para a característica de resistência a doenças fúngicas	47
5.7. Agrupamento hierárquico para a característica de resistência a doenças fúngicas	50
5.8. Diversidade genética funcional para característica de produtividade	53
5.9. Agrupamento hierárquico para a característica de produtividade	57
5.10. Diversidade genética funcional para característica de capacidade de expansão	60
5.11. Agrupamento hierárquico para a característica de capacidade de expansão	63
5.12. Avaliação do desempenho dos <i>primers</i> utilizados com base em Análise de Correlação Canônica com dados fenotípicos em diferentes ambientes.....	66
6. CONCLUSÕES	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

RESUMO

GOMES, Lavínia Santana Ladeira; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro de 2025; Diversidade genética funcional em linhagens de milho-pipoca (*Zea mays* L. var. *everta*) via marcadores *SSR-EST*; Orientador: D.Sc. Marcelo Vivas; Conselheiros: D.Sc. Antônio Teixeira do Amaral Júnior e D.Sc. Helaine Christine Cancela Ramos.

O milho-pipoca é um produto de importante demanda no mercado, mas o Brasil enfrenta um déficit de cultivares nacionais que atendam às necessidades de produção, o que resulta na importação de sementes. Para potencializar a produção da cultura no país, é crucial desenvolver pesquisas que gerem novas variedades com características favoráveis à produção. Nesse contexto, tecnologias como o uso de marcadores moleculares, especialmente os microssatélites (*SSR*), têm se mostrado eficazes na caracterização genética e no estudo da diversidade de linhagens. Este trabalho teve como objetivo analisar regiões gênicas de interesse em 47 linhagens de milho-pipoca do Banco de Germoplasma da UENF, utilizando 35 marcadores *SSR-EST*. Essas linhagens já passaram por etapas de melhoramento e apresentaram bons rendimentos. Por meio da amplificação do DNA via PCR e da eletroforese capilar, os dados foram convertidos em uma matriz numérica, permitindo o agrupamento das linhagens com base na dissimilaridade genética via método UPGMA. Além disso, foram avaliados parâmetros de diversidade, como o Número de alelos (N_a), o Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC), a Heterozigosidade observada (H_o) e a Heterozigosidade esperada (H_e),

bem como o Coeficiente de Endogamia (F). Os resultados demonstraram que as linhagens possuem variabilidade genética para os *loci* analisados, com valores de PIC moderados e Na variando entre 2 e 6. A análise revelou um alto nível de homozigose, tanto por *locus* quanto por linhagens. Para relacionar os marcadores com as características de interesse, foi realizada uma Análise de Correlação Canônica (CCA), utilizando dados de Capacidade de Expansão, Rendimento de Grãos e Severidade ao *Fusarium* spp., Severidade à *Bipolaris maydis* e Severidade à *Exserohilum turcicum*, oriundos de dois experimentos distintos, implementados em Campos dos Goytacazes/RJ, para avaliar o desempenho dos *primers* em associar-se às características alvo. As correlações se mostraram medianas, mas satisfatórias dada a herança genética que rege as características estudadas. Em síntese, o estudo alcançou seus objetivos ao fornecer *insights* sobre a estrutura populacional e à diversidade genética funcional das linhagens de milho-pipoca, contribuindo para a indicação de linhagens para futuros cruzamentos visando a máxima exploração da heterose no desenvolvimento de cultivares mais adaptadas e produtivas.

Palavras-chave: Microssatélites; dissimilaridade; heterose.

ABSTRACT

GOMES, Lavínia Santana Ladeira; M.Sc.; State University of Northern Fluminense Darcy Ribeiro; february 2025; Functional genetic diversity in popcorn (*Zea mays* L. var. *everta*) lines through SSR-EST markers; Advisor: D.Sc. Marcelo Vivas. Counselors: D.Sc. Antônio Teixeira do Amaral Júnior and D.Sc. Helaine Christine Cancela Ramos.

Popcorn is a highly demanded product in the market, but Brazil faces a shortage of domestic cultivars that meet production needs, which results in seed imports. To boost crop production in the country, it is crucial to develop research that generates new varieties with characteristics developed for production. In this context, technologies such as the use of molecular markers, especially microsatellites (SSR), have proven effective in genetic characterization and in the study of lineage diversity. This study aimed to analyze gene regions of interest in 47 popcorn lines from the UENF Germplasm Bank, using 35 SSR-EST markers. These lines have already undergone improvement stages and have good yields. Through DNA amplification via PCR and capillary electrophoresis, the data were converted into a numerical matrix, allowing grouping of lines based on genetic dissimilarity via the UPGMA method. Furthermore, diversity parameters such as Number of Alleles (Na), Polymorphic Information Content (PIC), Observed Heterozygosity (Ho) and Expected Heterozygosity (He), as well as the Inbreeding Coefficient (F) were evaluated. The results demonstrated that the lines have genetic variability for the based loci, with moderate PIC values and Na ranging from 2 to 6. An analysis

revealed a high level of homozygosity, both by locus and by lines. To relate the markers to the traits of interest, a Canonical Correlation Analysis (CCA) was performed, using data on Expansion Capacity, Grain Yield and Severity to *Fusarium* spp., Severity to *Bipolaris maydis* and Severity to *Exserohilum turcicum*, from two different experiments, implemented in Campos dos Goytacazes/RJ, to evaluate the performance of the primers in associating with the target traits. The correlations were moderate but satisfactory given the genetic background that governs the scientific characteristics. In summary, the study achieved its objectives by providing insights into the population structure and functional genetic diversity of popcorn lines, contributing to the indication of lines for future crosses, through maximum exploitation of heterosis in the development of more adapted and productive cultivars.

Keywords: Microsatellites; dissimilarity; heterosis.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) é um dos cereais mais cultivados no mundo e possui muita versatilidade, podendo ser processado em diversos subprodutos (Wang e Hu, 2021). Há alguns tipos distintos de milho, como o milho-doce, o milho dentado, o milho branco e outros, que se distinguem em grupos heteróticos ou subespécies (Mascarenhas, 2019; Ascheria, 2021). Dentre os diversos tipos de milho cultivados, o milho-pipoca (*Zea mays* L. var. everta) se destaca por possuir uma composição de grão específica, que o diferencia das demais variedades (Kaur et al., 2021).

Os grãos de milho-pipoca, em geral são pequenos, ricos em amido e com pericarpo duro, características essas que os anuem em uma das suas principais qualidades, a capacidade de expansão - CE (Ziegler e Ashman, 1994). É devido à CE que o milho-pipoca gera a pipoca propriamente dita, através do cozimento do endocarpo e rompimento do pericarpo quando em alta temperatura e pressão (Zunjare et al., 2015). O resultado deste fenômeno é a formação de flocos leves, conhecidos como pipoca, comumente consumida como petisco em todo o mundo (Zulkadir e Idikut, 2021).

Comparativamente, o histórico do melhoramento de outros tipos de milho, é mais extenso do que o do milho-pipoca, como o do milho dentado, por exemplo (Ascheria, 2021). Além disso, uma das principais características da cultura, a produtividade, apresenta correlação genética negativa com a CE, dificultando o melhoramento da cultura (Cabral et al., 2016).

Deste modo, quando comparado ao milho comum, o milho-pipoca apresenta menor rendimento de grãos, menos vigor, é mais suscetível a doenças e pragas que acometem a cultura, é mais propenso ao acamamento no campo e possui sistema radicular menos desenvolvido, fatores esses que influenciam diretamente nos índices de produção (Sawazaki, 2010; Coan, 2019). Logo, as variedades de milho-pipoca são geneticamente limitadas e possuem potencial agrônômico abaixo do ideal (Parsons et al., 2020).

Somado a isto, os diversos fatores bióticos e abióticos que acometem a cultura e que impactam a produção representam uma contraparte significativa (Pereira Filho et al., 2021; Silva et al., 2020). E, neste cenário, o desenvolvimento de cultivares que apresentem bons rendimentos para as principais características se faz necessário, visando atender o mercado interno e diminuindo a elevada dependência por importação de sementes (Carvalho et al., 2015; Valadares, 2023).

Os programas privados ou públicos que buscam o melhoramento da cultura e o desenvolvimento dessas cultivares usam de diferentes metodologias, fundamentadas no melhoramento clássico, que usa principalmente a predição do valor genético de indivíduos com base no fenótipo, ou biotecnologias, como os marcadores moleculares, que permitem a avaliação de genomas, de forma precisa e precoce, sem interferência do meio (Galvão et al., 2015; Peixoto, 2022).

Dentre os marcadores moleculares, o tipo *SSR* (*Simple Sequence Repeat*) é comumente empregado em estudos da cultura do milho, pois possuem alta abundância no genoma, são de fácil execução e precisos (Muller et al., 2014). Os marcadores *SSR* são sequências de DNA repetidas em *tandem*, multialélicos e altamente polimórficos, além de possuírem bom custo-benefício com alta reprodutibilidade e eficiência (Ramos et al., 2006; Galvão et al., 2015; Muzdalifah, 2020).

Estudos com marcadores em milho-pipoca têm utilizado o genoma do milho comum como referência (Muzdalifah, 2020). Desse modo, os genomas de referência de milho comum depositados em bancos de dados como o NCBI e o Maize GDB, sequenciados com tecnologias de ampla cobertura, são de grande valia, pois podem ser usados como parâmetro de estudos para o milho-pipoca (Pinto et al., 2023).

O uso de marcadores *SSR* em genomas de milho-pipoca permite a realização de inferências sobre a variabilidade a nível gênico e genômico. As

variações genômicas são aquelas que ocorrem em qualquer parte do genoma. Já as variações gênicas ocorrem exclusivamente em regiões codantes, fazendo menção a sequências transcritas e têm a vantagem adicional de avaliar a funcionalidade dos produtos (Hendre e Aggarwal, 2014; Galvão et al., 2015). Os marcadores *SSR* gênicos são chamados de *SSR-EST*, do inglês *Expressed Sequence Tag*, e embora tenham sido relatados como menos polimórficos que os marcadores genômicos, são considerados superiores em termos de diversidade funcional e transferibilidade (Kara, 2023). Os polimorfismos podem resultar na modificação do produto final da expressão gênica, influenciar na regulação da expressão gênica de outros compostos, ou levar a alterações de cascatas metabólicas, e como consequência estarem modulando características de interesse agrônomo (Galvão et al., 2015).

Portanto, este trabalho visou estudar o genoma de linhagens de milho-pipoca através da detecção de variações genéticas funcionais via marcadores *SSR-EST*, descritos em literatura como associados com as características de interesse produtividade, capacidade de expansão, resistência ao *Fusarium* spp., resistência ao *Bipolaris maydis* e resistência ao *Exserohilum turcicum*.

Os genótipos foram previamente selecionados de outras etapas de melhoramento da cultura dentro do Programa de Melhoramento Genético de milho-pipoca da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), apresentando bons rendimentos. O resultado deste trabalho permite a identificação de grupos geneticamente contrastantes para definição de blocos de cruzamentos o que leva a redução do número de gerações necessárias pelo direcionamento acurado de genitores mais promissores (Silva et al., 2009; Vettorazzi, 2016; Guimarães et al., 2018).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliação da diversidade genética funcional de linhagens de milho-pipoca que se destacaram em etapas anteriores no Programa de Melhoramento Genético de milho-pipoca da UENF, através do uso de marcadores *SSR-EST*.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar nível de homozigose das 47 linhagens de milho-pipoca utilizando marcadores *SSR-EST*, por *locus* e por linhagem;
- Identificar polimorfismos no genoma e relacioná-los com as características fenotípicas avaliadas nas etapas anteriores do Programa de Melhoramento do milho-pipoca da UENF, como produtividade, capacidade de expansão, resistência ao *Fusarium* spp., resistência ao *Bipolaris maydis* e resistência ao *Exserohilum turcicum*;
- Avaliar o potencial de hibridação das linhagens de milho-pipoca e apontar genótipos promissores para cruzamentos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Aspectos gerais sobre a cultura do milho-pipoca

O milho-pipoca (*Zea mays* var. *everta* (Sturtev) LH Bailey) é uma angiosperma monocotiledônea e uma subespécie do milho comum (*Zea mays*). O milho-pipoca pertence à classe Liliopsida, ordem Poales, família Poaceae e gênero *Zea* (Santos, 2010; Santos^a, 2022). É uma espécie vegetal com genoma diploide, ou seja, possui um par de cada cromossomo, onde $2n = 2x = 20$ (Paterniani, 2005; Valadares, 2023).

Os tratos culturais do milho-pipoca são, de modo geral, muito semelhantes aos do milho comum, logo, pode ser cultivado em diversas regiões e em diferentes tipos de solo, desde que sejam consideradas as condições ambientais e que as demandas da cultura sejam atendidas (Pereira Filho et al., 2021). Entretanto, para melhor desempenho no campo, são indicados solos bem aerados, com boa drenagem e ricos em nutrientes (Guadagnin, 2002).

A época de plantio indicada varia de localidade para localidade, mas deve-se haver atenção para que os períodos de florescimento e enchimento de grãos não coincidam com períodos de estiagem. A falta de água em alguns estágios de desenvolvimento pode levar a perdas de até metade da produção, principalmente nas fases de emergência e de reprodução (Magalhães, 2006).

Um aspecto importante a ser considerado é a época da colheita, pois influencia na qualidade do grão de milho-pipoca, de modo que, o processo repetitivo

de hidratação e secagem do grão devido a condições climáticas deve ser evitado, dado que provoca rachaduras no pericarpo (Freire, 2019; Pereira Filho et al., 2021). A CE está ligada diretamente com a estrutura dos grãos, logo, caso o pericarpo esteja trincado, a pressão interna ideal no processo de pipocamento poderá não ser alcançada e, conseqüentemente, a pipoca não atingirá seu máximo potencial genético de expansão (Valadares, 2023).

O milho-pipoca é uma planta anual e seu ciclo de vida dura em média de quatro a cinco meses (Guadagnin, 2002; Santos^a, 2022). É uma espécie prolífica, e os órgãos reprodutivos feminino e masculino, respectivamente, espiga e pendão, são encontrados na mesma planta, portanto, são classificados como monoicos, todavia, as estruturas florais se encontram separadas. Normalmente, o pendão surge primeiro do que a espiga, mas é de interesse do produtor que o intervalo entre os florescimentos seja o mais curto possível, a fim de viabilizar o máximo o processo de polinização (Cruz^a et al., 2011).

A polinização consiste na transferência do pólen da antera da inflorescência masculina para o estigma da inflorescência feminina (Santos^a, 2022). O milho-pipoca é uma planta alógama, que naturalmente se reproduz por fecundação cruzada, e a autofecundação representa apenas cerca de 2% dos cruzamentos (Almeida, 2022; Santos^a, 2022). As condições em que cada planta é submetida durante o período de desenvolvimento floral determina o potencial de rendimento de grãos (Magalhães, 2006).

Em relação à ecofisiologia, o milho-pipoca tende a ser mais sensível a estresses bióticos e abióticos quando comparados ao milho comum. Deste modo, o milho-pipoca, se mostra mais vulnerável a intempéries climáticas, a ocorrência de doenças e a infestação por insetos-praga, que se tornam fatores limitantes de produção (Santos^b, 2022). Além disso, o milho-pipoca apresenta sistema radicular menos desenvolvido, número menor de folhas, colmo mais fino e altura de planta reduzida, em relação ao milho comum (Coan, 2019; Valadares, 2023).

O processamento pós-colheita, em geral, é bastante simples, onde deve haver a secagem adequada, onde recomenda-se um processo lento e com temperatura próxima de 35°C, a fim de conservar a integridade dos grãos. O milho-pipoca deve ser colhido com teor de umidade acima do ideal de pipocamento, e devem ser armazenados em local bem ventilado até alcançar o parâmetro estipulado, para que então haja o seu empacotamento e posterior comercialização.

3.2. O milho-pipoca como milho especial

A composição do grão do milho-pipoca o distingue das demais variedades de milho, tornando-o um tipo de milho chamado especial. O grão do milho-pipoca é uma cariopse, e cada componente estrutural se difere em composição química e funcionalidade (Pereira Filho et al, 2021).

A estrutura denominada ponta corresponde a 2% do grão, e é a região que o conecta ao sabugo. O gérmen configura a parte vegetativa quando semente, e representa cerca de 11% do grão, sendo marcado pela presença de compostos com alta qualidade nutricional, como óleos, açúcares, proteínas, minerais e vitaminas (Cruz^a et al., 2011; Vilar, 2022). O pericarpo constitui, aproximadamente, 5% do grão, e é formado por polímeros orgânicos, como celulose e lignina, o que o faz espesso e garante resistência mecânica, tornando-o a estrutura que protege as outras das condições do meio externo. O pericarpo do milho-pipoca é até 1,4 vezes mais espesso do que o pericarpo do milho comum (Silva et al., 1993; Damasceno et al., 2021).

O endosperma compreende, em média, 82% do grão, e por constituir a maior parte da estrutura, os seus componentes são essenciais na determinação das propriedades químicas e físicas do milho-pipoca (Silva et al., 2000). O endosperma é composto principalmente por amido, entretanto, proteínas de reserva como a prolamina também se fazem presentes (Pereira Filho et al., 2021; Vilar, 2022). Esses compostos orgânicos são direcionados para o fornecimento energético na fase de germinação. O endosperma é subdividido nas porções vítreo e farináceo, que se distinguem principalmente pelo formato e arranjo dos grânulos de amido e pelas proteínas que se associam a eles.

A parcela denominada vítreo é majoritária no grão de milho-pipoca, e os grânulos de amido assumem a conformação poligonal e são organizados em uma trama compacta, juntamente com uma matriz proteica densa. Já a fração chamada farinácea é menor, os grânulos de amido são arredondados e sem presença de matriz proteica, o que leva a uma disposição dispersa e à formação de lacunas, que por sua vez são preenchidas por água, e aumentam a umidade no interior do grão (Sawazaki, 2010). O teor ideal de umidade nos grãos de milho-pipoca é de aproximadamente 13,5% (Brasil, 2011). As nomenclaturas vítreo e farináceo fazem referência aos seus respectivos aspectos quando expostos à luz, e é comum os

termos cristalino e opaco serem designados, respectivamente, para essas porções (Silva et al., 2000; Vilar, 2022).

Pigmentos também estão presentes no endosperma, como os carotenoides, antocianinas e flavonoides, que em diferentes concentrações conferem cores distintas aos grãos (Ronsoni, 2023). A coloração dos grãos pode variar, abrangendo uma ampla paleta de cores, que inclui o amarelo, o laranja, o branco, o vermelho, o preto e o azul. O formato dos grãos pode ser do tipo arroz, caracterizados como longos, finos e com pontas agudas nas extremidades, ou do tipo pérola, com configuração arredondada e extremidade abaulada. Dentre todos, grãos do tipo pérola e de coloração amarelo-alaranjados representam o padrão aceito comercialmente (Ziegler e Ashman, 1994; Ronsoni, 2023; Valadares, 2023).

A capacidade de expansão (CE) é a relação entre o volume de pipoca estourada e o volume de grãos utilizados e é considerada a principal característica do milho-pipoca, oriunda das especificidades de sua composição (Gama, 1990). É devido à CE que os grãos de milho-pipoca podem chegar a até 40 vezes o seu volume inicial (Senhorinho, 2019; Pereira Filho et al., 2021). A CE está estreitamente relacionada com as características de qualidade do grão, principalmente endosperma e pericarpo (Santos^a, 2022).

De modo geral, a concentração de água no endosperma do grão leva a um significativo aumento no coeficiente de transferência de calor interno, permitindo que a pressão no interior do grão cresça rapidamente quando submetido ao aumento de temperatura (Schambri et al., 2021). O coeficiente de transferência de calor do grão de milho-pipoca pode ser até 1,9 vezes maior do que o do milho comum (Damasceno et al., 2021). Logo, o teor de umidade do grão do milho-pipoca dado pela conformação das estruturas do endosperma, corrobora para o processo de estouro e expansão (Pereira Filho et al., 2021).

O aumento da temperatura, faz com que o amido contido no endosperma passe por um processo de cozimento, o que leva a uma mudança no seu estado físico, do sólido para o gelatinoso, fazendo-o dilatar, e aumentando a pressão interna ainda mais. O pericarpo resiste a pressão, entretanto, um ponto de ruptura é alcançado quando uma temperatura crítica próxima a 180°C é atingida, expondo assim o endosperma que, em contato com as condições externas, assume a forma sólida leve, conhecida popularmente como pipoca, consumida mundialmente como

petisco. Esse processo é conhecido como estouro (Pereira Filho et al., 2021; Zulkadir e İdikut, 2021).

3.3. Importância econômica

No mundo, o Brasil se encontra como o terceiro maior produtor da cultura do milho-pipoca (Chancellor, 2021). Em 2022, o *ranking* referente à exportação de milho-pipoca indicou que os três maiores exportadores são, respectivamente, Estados Unidos, Brasil e Argentina (FAO, 2022). Dentre os principais países importadores da produção brasileira encontram-se, respectivamente, Japão, Irã e Espanha, contudo há indícios de queda nos últimos anos, principalmente pela escassez hídrica oriunda de problemas climáticos no país, que afeta diretamente na produção (Faria et al., 2020; Kamphorst, 2021; FAO, 2022).

No Brasil, a cultura do milho-pipoca é produzida principalmente por pequenos produtores ou produtores de soja no período da entressafra (Pereira Filho et al., 2021; Almeida, 2022). A comercialização tem se expandido significativamente nos últimos anos, e movimentado um montante expressivo para a economia do país, representando uma alternativa atrativa para muitos produtores (Valadares, 2023).

Os estados brasileiros que mais se destacam na produção são, respectivamente, Mato Grosso e Goiás, localizados na região Centro-Oeste (Junior, 2020; Pereira Filho et al., 2021). Empresas privadas mantêm parcerias com produtores regionais e movimentam a produção da cultura (Bertolucci, 2022; Indea, 2008). Além disso, há indicativos que mostram que o mercado global de pipoca irá crescer a uma taxa anual de 6,7% até 2027 (Perez, 2008; Zunjare et al., 2015). A expectativa é de que a produção brasileira alcance a marca de 113,2 milhões de toneladas para a safra 2027/28 (Chancellor, 2021). Contudo, os dados referentes à cultura do milho-pipoca ainda são informais.

O valor monetário do grão de milho-pipoca pode chegar a até três vezes o valor do grão do milho comum, o que atrai a atenção dos produtores (Lima et al, 2020). Em contrapartida, a produção do milho-pipoca ainda é pelo menos 1,5 vezes menor quando comparada a do milho comum (Almeida, 2022). Porém, parte do valor agregado é consequência da importação de sementes, que se tornou uma dependência dos produtores brasileiros e aumenta o custo de produção. Isso

ocorre, pois uma das maiores problemáticas sobre a cultura do milho-pipoca no Brasil é a falta de cultivares nacionais que atendam aos parâmetros comerciais e de produção (Lima et al, 2020). O baixo acesso a variedades com elevada produtividade e capacidade de expansão faz com que a oferta de sementes nacionais seja pouco competitiva com as sementes importadas (Cabral et al., 2016).

3.4. Importância social

Estudos apontam que os centros de origem e de diversidade do milho-pipoca se encontram no continente americano, porém, várias hipóteses são levantadas a este respeito, e é visto que a procedência de diferentes tipos de milho confunde-se, de modo que ainda não houve sugestão passível de aceitação (Guadagnin, 2002). Apesar da grande diversidade quanto aos caracteres da planta e das sementes, o milho-pipoca possui reduzida base genética, decorrente de sua evolução proveniente de seleções principalmente do milho “flint”, modificado por seleção para maximizar a CE (Kantety et al., 1995; Vittorazzi, 2016; Valadares, 2023).

O milho-pipoca é produzido exclusivamente para alimentação humana (Almeida, 2022). A pipoca é consumida como aperitivo, sendo apreciada popularmente em diversos países, além de ofertar propriedades nutritivas (Parsons et al., 2020). Atualmente, o consumo da pipoca está vinculado à cultura dos dispositivos visuais de entretenimento. Contudo, é um alimento nativo, relacionado às tradições afro-indígenas. O próprio termo “pipoca” originou-se do tupi-guarani antigo, e faz referência a “pi(ra) + pok”, que remetem, respectivamente, ao conceito de “pele” e “estourar”, fazendo menção ao processo de pipocamento (Melchior, 2017; Ascheria, 2021).

3.5. Desafios na produção do milho-pipoca

O Brasil encontra-se na região intertropical do planeta Terra, logo, possui clima tropical e, por conseguinte, o regime climático do país acaba sendo um fator condicionante para uma maior ocorrência de doenças fúngicas no território nacional, dadas as características de precipitação, temperatura e umidade relativa

do ar que proporcionam boas condições de desenvolvimento e propagação desses agentes (Gama, 1990; Reboita, 2015; Almeida, 2022).

São diversos os patógenos que acometem o milho-pipoca, mas há destaque para as espécies *Exserohilum turcicum* (Pass.) K. J. Leonard e E. G. Suggs *Bipolaris maydis* (Nisik e Miyake) Shoemaker, que são elencados como os principais fungos causadores de doenças foliares na cultura. Esses inóculos comprometem a integridade foliar, ocasionando perda de área fotossintética, levando à diminuição do vigor e da produtividade (Tikami, 2021; Santos^b, 2022).

Dentre os muitos gêneros fúngicos que afetam amplamente a produção de milho-pipoca, o *Fusarium* spp. é frequentemente relatado (Almeida, 2022). A infecção por agentes deste gênero causa sintomas como a podridão de espigas, raízes e/ou colmos, assim como clorose e murcha, resultando na queda de produção e senescência precoce (Costa e Cota, 2021).

A disseminação dessas doenças abrange a maioria das regiões produtoras de milho-pipoca do Brasil, assim como diversos países ao redor do globo (Santos^b, 2022). São patologias que levam prejuízo aos produtores em todos os estágios de produção, além de gerar um impacto negativo sobre a qualidade fitossanitária dos grãos produzidos, podendo representar um risco à segurança alimentar (Wen et al., 2021; Almeida, 2022).

O uso de fungicidas é a forma de controle mais empregada na cultura do milho-pipoca, porém, a utilização de defensivos agrícolas, mesmo que proporcionem bons resultados a curto prazo, precisa ter seu uso discriminado, visto que não configuram soluções sustentáveis para o meio ambiente, aumentam os custos de produção e podem promover o desenvolvimento de resistência aos mecanismos de ação (Costa, 2009; Santos^b, 2022).

A alternativa mais ecológica para contornar esta questão é o desenvolvimento de cultivares com resistência aos fitopatógenos, dado que a tolerância ou resistência genética é o meio mais eficaz de controle de doenças (Wen et al., 2021). Assim, entende-se que estudos voltados para o desenvolvimento de linhagens resistentes aos principais agentes etiológicos, e não apenas características como produtividade e CE, são essenciais para o processo de produção de sementes, até porque proporcionam melhores desempenhos para essas qualidades de forma paralela (Valadares, 2023).

3.6. Marcadores moleculares em pesquisas de diversidade

Os marcadores moleculares são características específicas e mensuráveis do DNA, que oferecem informações valiosas para o melhoramento genético de plantas. No geral, o uso de técnicas moleculares aumenta a precisão e a confiabilidade na caracterização genotípica, visto que os resultados independem dos efeitos ambientais sobre o genótipo (Valadares, 2023). É certo que a soma das informações fenotípicas com os dados gerados por uso dos marcadores moleculares potencializa os estudos de diversidade, e configura o meio mais eficiente para quantificar diferenças genéticas (Vettorazzi, 2016).

Informações a respeito da variabilidade genética de indivíduos ou populações podem direcionar cruzamentos e otimizar tempo no desenvolvimento de cultivares. O processo de hibridação entre indivíduos com alta distância genética permite que a heterose seja explorada de forma mais intensa, assim como maior variabilidade genética entre genitores aumenta a probabilidade da formação híbridos superiores (Rajan et al., 2023).

Além disso, estudos de diversidade permitem que sejam melhor compreendidos os efeitos aditivos e não aditivos que regem características de interesse (Santos et al., 2011). As características determinadas pelos efeitos aditivos são aquelas que resultam da soma dos alelos herdados dos progenitores, de forma direta e proporcional. Enquanto os caracteres dados pelos efeitos não aditivos são aqueles que não derivam unicamente da interação alélica, mas também dos efeitos como dominância e epistasia (Guimarães, 2006).

Existem diferentes tipos de marcadores, que podem variar de acordo com sua natureza, o que refere-se às suas características intrínsecas, como a estrutura da variação genética detectada, o mecanismo de detecção, e o nível de polimorfismo, por exemplo. Quando os marcadores são do tipo alelo informativo, como os microssatélites, é possível determinar a frequência alélica de cada indivíduo, e a medida da dissimilaridade pode ser definida a partir da diferença entre as frequências alélicas. Nesses casos, são amplamente utilizados parâmetros como a distância Euclidiana e a Distância de Nei, e também o Coeficiente de Rogers. Para marcadores alelos não informativos, a estimação do coeficiente de dissimilaridade é realizada a partir da presença e ausência de fragmentos, onde usualmente é empregado o coeficiente de Jaccard (Meyer et al., 2004; Teixeira, 2021).

As informações de distância genética são utilizadas para realizar o agrupamento de genótipos, que define, de forma precisa, grupos heteróticos ou

blocos contrastantes. O método de aglomeração ocorre via análise multivariada. Um dos métodos é o UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Arithmetic Mean*), contudo, entende-se que os melhores métodos de agrupamento são aqueles que produzem a mínima distância dentro do grupo e a máxima distância entre grupos (Meyer et al., 2004).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Aquisição do material vegetal

Foram selecionadas 47 linhagens que se destacaram como superiores quando comparadas com outras linhagens do Banco de Germoplasma da UENF, relacionadas na tabela 1. Essas linhagens obtiveram bons rendimentos para características de produtividade, capacidade de expansão, resistência ao *Fusarium* spp., resistência ao *Bipolaris maydis* e resistência ao *Exserohilum turcicum*, avaliações estas realizadas em etapas de melhoramento anteriores desenvolvidas pelo Laboratório de Engenharia Agrícola (LEAG) (Saluci, 2019; Almeida, 2022; Saluci, 2023).

As sementes dessas linhagens foram obtidas do Banco de Germoplasma de milho-pipoca da UENF e posteriormente foi realizado o plantio do material em casa de vegetação, com o objetivo de realizar uma etapa de autofecundação, a fim de garantir a fixação alélica.

O plantio foi realizado em vasos de 20 litros usando terra como substrato (Fig 1A). Foram semeadas 8 sementes por vaso, e três vasos para cada um dos genótipos. No ato do plantio, foi realizada a adubação com NPK, nas proporções 4:14:8. A irrigação foi instalada e programada para três vezes ao dia, de 8 em 8 horas com turno de rega de 10 minutos, para que no processo de germinação as sementes estivessem constantemente umedecidas.

Tabela 1 - Número de linhagens de acordo com as respectivas genealogias / descendências, a identificação de cada genótipo, as respectivas genealogias / descendências (Gen/Desc) e as Instituições (Inst) em que foram alocadas ou desenvolvidas.

Nº de Linhagens	Genótipos	Gen/Desc	Inst
7	L381, L383, L385, L386, L390, L391, L394	SAM	América do Sul/EUA
2	L653, L656	ARZM 13 050	Argentina (CIMMYT)
8	L213, L206, L222, L209, L204, L207, L216, L217	IAC 125	Campinas, São Paulo (Brasil)
1	L443	BOYA 462	Colômbia (CIMMYT)
2	L592, L594	RS 20	IPAGRO, Porto Alegre (Brasil)
1	L480	SE 013	Maringá, Paraná (Brasil)
1	L625	PA 091	Maringá, Paraná (Brasil)
2	L501, L503	PA170 ROXO	Paraguai (CIMMYT)
1	L274	PARA 172	Paraguai (CIMMYT)
3	L61, L63, L69	Angela	Sete Alagoas, Embrapa (Brasil)
2	L353, L357	PR 023	UEM, Maringá, Paraná (Brasil)
4	L683, L689, L690, L691	UENF 14	UENF, Rio de Janeiro (Brasil)

Tabela 1 - Cont.

Nº de Linhagens	Genótipos	Gen/Desc	Inst
3	L76, L77, L80	Viçosa-Viçosa	UFV, Viçosa (Brasil)
2	L55, L55*	Beija-Flor	UFV, Viçosa (Brasil)
3	L291, L292, L294	URUG298	Uruguai (<i>CIMMYT</i>)

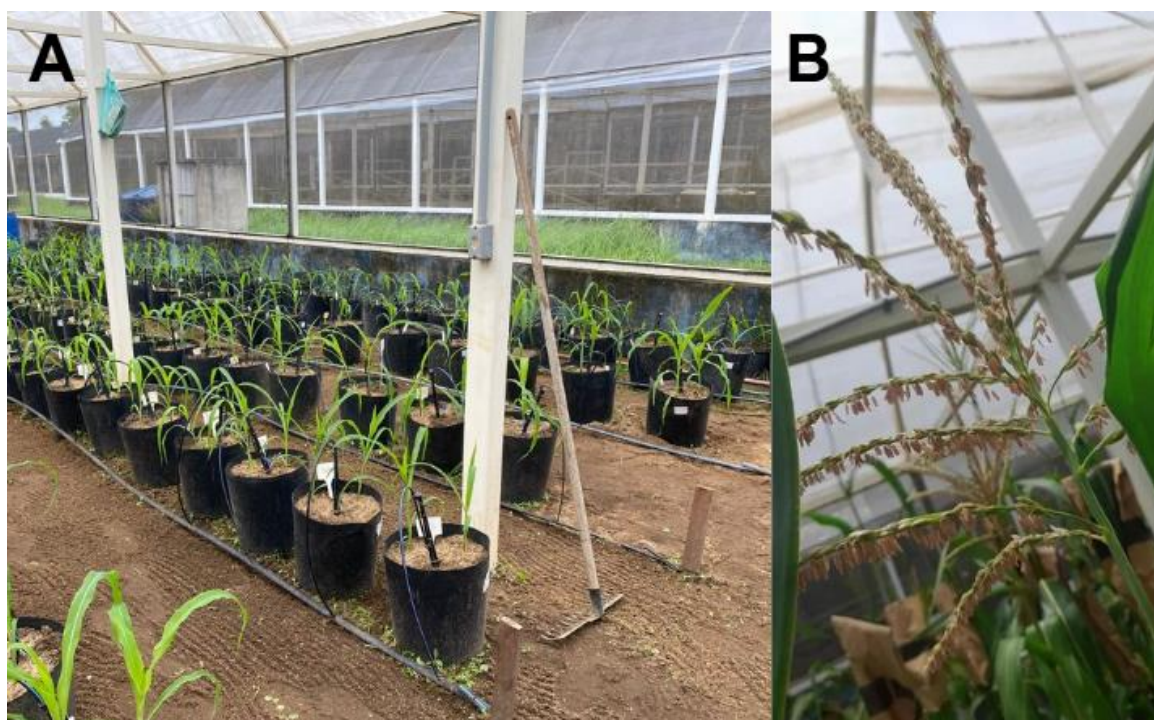


Figura 1 - A) Plantio das linhagens em casa de vegetação na etapa de multiplicação das sementes. B) Pendão liberando pólen na etapa de florescimento onde foi realizada a autofecundação controlada.

O processo de autofecundação das linhagens ocorreu no tempo devido, com média aproximada de 60 a 70 dias após o plantio, onde foi observada a emergência das estruturas femininas para cobertura com sacos plásticos antes da emissão dos estilo-estigmas das espigas superiores, a fim de impedir a fecundação

cruzada. Além disso, o preparo adequado e sincronizado para coleta do pólen de cada pendão foi realizado para autofecundação (Fig 1B).

Após os cruzamentos, as plantas foram mantidas em condições adequadas para que houvesse o enchimento dos grãos e o processo de secagem anterior à colheita, que ocorreu cerca de 120 dias após o plantio. As sementes colhidas foram utilizadas para realização de um plantio em bandeja com 96 tubetes, com três repetições de cada genótipo e 2 sementes por tubete. Este plantio foi irrigado e mantido em casa de vegetação, contudo, somente até a fase V2 de desenvolvimento, onde foram coletadas folhas jovens, sadias e ativas, indicadas para o protocolo de extração de DNA em laboratório. O material colhido foi imediatamente envolto por papel alumínio e armazenado em baixa temperatura para garantir a integridade do material genético.

4.2. Extração do DNA

O material vegetal coletado foi levado para o Setor de Marcadores de DNA/LMGV da UENF para que o protocolo de extração de DNA pudesse ser executado, conforme descrito por Doyle & Doyle (1987).

4.3. Quantificação do DNA

O DNA extraído foi corado com solução GelRed + Blue Juice (1:1) e submetido à eletroforese em gel de agarose metaphor a 1% em tampão TAE 1X sob voltagem (80 V) e amperagem (0,20 A) constantes. Em seguida, o gel foi exposto à luz ultravioleta para visualização das bandas, e foi fotodocumentado pelo equipamento MiniBis Pro (Figura 2). O software GelQuant forneceu uma estimativa da concentração de DNA, assim como permitiu avaliar a qualidade e integridade do material. Após este procedimento, as amostras foram diluídas para 5ng/ul, para dar continuidade às próximas etapas do projeto.

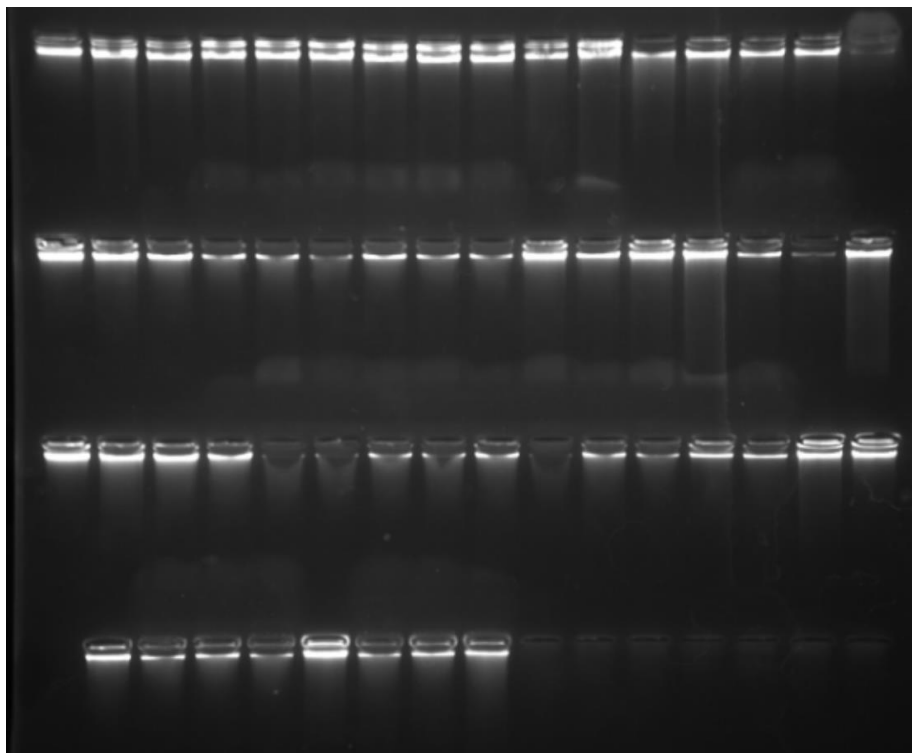


Figura 2 - Imagem de gel de agarose na concentração de 1%, gerada a partir da exposição a luz UV, utilizado em eletroforese para avaliação da integridade e quantificação do DNA genômico extraído das 47 linhagens de milho-pipoca. Há algumas repetições para realização de teste de anelamento.

4.4. Seleção dos *primers*

Foi realizada uma busca na literatura por *primers* *SSR-EST* polimórficos e informativos relacionados acerca das características de interesse mencionadas, para que pudesse ser realizada a genotipagem das linhagens selecionadas. As plataformas utilizadas foram o National Center of Biotechnology Information (NCBI) e o Maize Genetics and Genomics Data Base (Maize GDB) que dispõem de sequências desenvolvidas e mapeadas para a espécie *Zea mays*. Procurou-se selecionar uma quantidade de importância significativa que representasse uma adequada amostragem do genoma. Ao todo, 297 *primers* foram selecionados e testados em um *screening*, onde foi possível identificar 35 *primers* polimórficos para o grupo amostral. Os 35 *primers* estão relacionados aos *loci* mencionados na tabela 2, e abrangem todos os 10 cromossomos do milho.

Tabela 2 - Lista dos *loci* microssatélites gênicos de milho-pipoca utilizados para análise das linhagens alvo. A informação de Chr indica em qual cromossomo cada *locus* está localizado, a temperatura de anelamento (Ta) em graus Celsius e por fim as sequências *Forward* (F) e *Reverse* (R) de cada *primer* utilizado para amplificar as regiões correspondentes.

<i>loci</i>	Chr	Ta (°C)	Sequência dos <i>Primers</i> (F+R)
UENF 7	1	58	GACAGCAAGGGATGGACAGT TCAAATCAATGGCTGCTCAA
UENF9	1	55	GCGACCACAAGGAGAAGAAG TGCATGACACCAGTGAAACA
UENF74	9	55	GCGTCATCAGCCTAGCAGTT CAGGCCATGATGAGATCAGA
BNLG1331	1	58	CGCCTGCCAAGGTACATCAC GCACTCACGCGCACAGGTCA
y1	6	65	CAAGAAGAGGAGAGGCCGGA TTGAGCAGGGTGGAGCACTG
pl1	6	63	CCCTCTCTTCACCCCTTCCTT GAAAGTCGATCGAGAGACCCTG
pbf1	2	64	ACAAGGCCATCATGAAGAGCAGTA CACGGTCTGGCACACTAACCTTAT
fdx3	1	63	GTGGGTTTTGTCTGTAGGGTGGTA TCCATCCACTCGACTTAAGAGTCC
bip2	4	60	AGCAAGCAGTTCGAAACAAGGAT GACACCAGCACCACTTGAACG
umc1031	4	60	ACGTGGACAACCAGTCTATCAACA TTGGGTTCATACCTCCTAGGAACA
umc1152	10	60	CCGAAGATAACCAAACAATAATAGTAGG ACTGTACGCCTCCCCTTCTC
umc2292	5	62	AGCAGAAGAGGACAAACCAGATTC ACTTCCGGCATGTCTTGTGTTT
umc1252	2	63	CTTCTGCATCATCATCATCGTCTT GCGTCGGAGAAGTACATCAAGTTT
umc1082	1	63	CCGACCATGCATAAGGTCTAGG GCCTGCATAGAGAGGTGGTATGAT

Tabela 2 - Cont.

<i>loci</i>	Chr	Ta (°C)	Sequência dos <i>Primers (F+R)</i>
umc1542	2	63	CATATTTGCCTTTGCCCTTTTGTA TAAAGCTATGATGGCACTTGCAGA ATCCTCTCATCTTTAGGTCCACCG
umc1448	2	63	CATATACAGTCTCTTCTGGCTGCTCA AAAACACAACGCTGGACATCAAC
umc1389	5	63	GGTCGTTTTGCTTAGCCCATTTTA AAACAGGCACAAAGCATGGATAG
umc1221	5	63	GCAACAGCAACTGGCAACAG CCTGAGGGTGATTTGTCTGTCTCT
umc1155	5	63	TCTTTTATTGTGCCCGTTGAGATT AACTCGCTATCGAAAAACCACAAG
umc1157	8	63	TCGGATTTTAGCTGAGCTTGTACC GCTAGTAGTAGTTCCAACGAAGCAACA
umc2154	8	63	GTCACCATCTCCAGGTGCAAGT ATGAGTTCATGACAGAGCGCTACC
umc1176	10	63	GAGTTTGTTGTTTGTGTGTGGAG GTGAGATATATCCCCGCCTTCC
umc1415	8	63	AGACTTCCTGAAGCTCGGTCCTA TCATCTTCCCCACAAATTTTCATT
umc2343	9	63	GACTGACAACCTCAGATTTACCCA TTGGGACTCATTACTTCCGGACT
umc1130	8	63	GCTAGGGGAAAGCTCGTACTATGG ACAGCCACCACCACTCCATC
umc1604	2	63	AGATCTTCGAGAGCGTGGAGAAC CGCTAGCTTAGCTCCATCGTTTTA
umc1135	3	63	TTTTTAACCTCACGAGCATCGTCT AGGTGCAGTTCATAGACTTCCTGG
umc1587	5	63	ATGCGTCTTTCACAAAGCATTACA TTTTCTTCTCCTTCCCTCACCTG
umc2401	8	63	GCACCTGATGCAGTAGGGAGTC

Tabela 2 - Cont.

<i>loci</i>	Chr	Ta (°C)	Sequência dos <i>Primers</i> (F+R)
umc2246	2	63	AGGCTCCAGCTCTAGGGGAGT GTGAACTGTGTAGCGTGGAGTTGT
umc1867	9	63	ATAAGCTCGTTGATCTCCTCCTCC TGGTCTTCTTCGCCGCATTAT
umc1506	10	63	AAAAGAAACATGTTTCAGTCGAGCG ATAAAGGTTGGCAAACGTCAGCCT
umc1450	7	63	ACTTTATTTAGCCACGTCACCTCG AGTATGACACGGGATTTTGCTGTT
umc1948	1	56	ATCTATCTGGTTTCACGATCTCGC TGTTGAAATAATGGAACACCTCCC
umc2059	6	63	GGAAAAGGAGGAACAGTGTAAGCA AGCGTGATCAGACGTACAATGCTA

Na tabela 3 é possível observar mais informações acerca dos *loci* avaliados, como a sequência repetitiva de cada microssatélite, o produto associado a cada gene selecionado e as referências bibliográficas usadas como base para seleção.

Tabela 3 - Lista dos *loci* microssatélites gênicos de milho-pipoca utilizados para análise das linhagens alvo. A informação da sequência *Motif* de cada microssatélite, o produto de cada gene e as referências bibliográficas correspondentes.

<i>Loci</i>	<i>Motif</i>	Prod. Gênico	Referências
UENF7	(AAG)7	Auxin	Woo et al., 2002; Napier et al., 1991; Yu et al., 1991.
UENF9	(TAC)4	Alcohol dehydrogenase	Chen et al., 1987; Osterman et al., 1993.

Tabela 3 – Cont.

<i>Loci</i>	<i>Motif</i>	Prod. Gênico	Referências
UENF74	(GTG)6	Fosfoenolpiruvato (PEP)	Qi et al., 2017; Qin et al., 2016; Yanagisawa et al., 1988.
BNLG1331	AG(16)	FAR1	Xudong et al., 2024.
y1	(TCATC)x	Yellow Endosperm	Yin et al., 2024; Berube et al., 2024; Yang et al., 2024.
pl1	(GTAC)x	Purple Plant1	Fan et al., 2024; Li et al., 2024; Demail et al., 2024; Bulanov et al., 2024.
pbf1	(ACA)17	DOF - PBF	Tang et al., 2024; Li et al., 2024; Wang et al., 2024.
fdx3	(CT)8	Ferredoxina	Xiao et al., 2024; Zhou et al., 2024; He et al., 2023; Hao et al., 2023.
bip2	(GC)7	Small Basic Membrane Intrinsic Protein	Xia et al., 2024; Mora-Poblete et al., 2023; Sheng et al., 2023.
umc1031	(CT)6AT(C T)9	Não caracterizado (4 grupos de ligação)	Glaszmann et al., 1997; Bennett et al., 1995; Riera-Lizarazu et al., 1996; Wang et al., 2010; Skibbe et al., 2009.
umc1152	(ATAG)6	PAN domaincontaining protein	Schnable et al., 2009; Soderlund et al., 2009; Burge et al., 2012.
umc2292	(CTGCCT)4	9-O-Ac-Sia deacetylase	Williams et al., 2023.
umc1252	(CCA)4	Não caracterizado (4 grupos de ligação)	Glaszmann et al., 1997; Bennett et al., 1996; Wang et al., 2010; Skibbe et al., 2009.

Tabela 3 – Cont.

<i>Loci</i>	<i>Motif</i>	<i>Prod. Gênico</i>	<i>Referências</i>
umc1082	(GA)16	Teosinte Branched	Lindsay et al., 2024; Poethig et al., 2024.
umc1542	(AG)10	AP2-EREBP-transcription factor 24	Liu et al., 2025; Liu et al., 2024; Juan et al., 2024; Ren et al., 2023.
umc1448	(GCT)5	bZIP121 (bZIP-transcription factor 121)	Kovincic et al., 2023; Cao et al., 2021. Yilmaz et al., 2009.
umc1389	(TGAC)4	Nana Plant	Best et al., 2016; Soderlund et al., 2009; Alexandrov et al., 2009; Burge et al., 2012.
umc1221	(CT)7	Copper transport protein (CCH)	Li et al., 2023; Wang et al., 2020;
umc1155	(AG)20	NPH3 putativa responsiva à fototropismo	Soderlund et al., 2009; Alexandrov et al., 2009.
umc1157	(AC)6	GBF-interacting protein	Vega-Arreguín et al., 2009; Soderlund et al., 2009; Burge et al., 2012.
umc2154	(TGC)5	Ribosome inactivating proteins	Zhang et al., 2024; Wang et al., 2024; Singh et al., 2023; Zhu et al., 2023.
umc1176	(AC)7	filament-like plant protein 7	Lai et al., 2004; Gardiner et al., 2004; Alexandrov et al., 2009.
umc1415	(GAC)10	HSP70-4	Iviwe et al., 2024; Rubens et al., 2023; Li et al., 2020; Griffiths et al., 2020; Jiang et al., 2020.
umc2343	(TGTGTG TG)4	Ran-binding protein 1	Muhammad et al., 2023.

Tabela 3 – Cont.

<i>Loci</i>	<i>Motif</i>	Prod. Gênico	Referências
umc1130	(TAA)4	BSD domain-containing protein	Gardiner et al., 2004; Alexandrov et al., 2009.
umc1604	(GCC)5	Mediator of RNA polymerase II	Rubens et al., 2023.
umc1135	(TCA)x	Interactor of Constitutive Active ROPs	Rumit et al., 2024; Wang et al., 2020.
umc1587	(AT)8	MYB-transcription factor 37	Huiling et al., 2023; Tu et al., 2020.
umc2401	(CTCTCT)4	Transcription initiation factor IIA - subunit 2	Alexandrov et al., 2009.
umc2246	(CCTCCT)4	Phosphomannomutase1	Ilyas ^b , 2023; Yu et al., 2020.
umc1867	(TC)8	bhlh182 bHLH-transcription factor 182	Huang et al., 2022; Tumova et al., 2018.
umc1506	(AACA)4	Serine/threonine-protein kinase	Wu et al., 2022.
umc1450	(AC)10	Stolon TUB8 Protein	Walbot, 2000.
umc1948	(CTT)5	Like nucleolin	Han et al., 2024.
umc2059	(CAG)8	F12M16.15	Leon et al., 2022.

4.5. Reação em Cadeia da Polimerase - PCR

As reações de amplificação via PCR foram feitas em um volume final de 12 µL, contendo 2,0 µL de DNA na concentração 5 ng.µL⁻¹, 1,0 µL de MgCl₂ a 25 nM (Thermo Scientific, Fermentas, USA), 1,2 µL de dNTP a 2 mM (Aldrich Sigma, USA), 1,0 µL de primer R+F (Aldrich Sigma, USA), 0,2 µL de Taq DNA polimerase

Platus (Thermo Scientific, Fermentas USA a $5 \text{ U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) e tampão buffer (NH_4) na proporção de 1:2 e diluído em 10X (Thermo Scientific, Fermentas, USA), além de 5,4 μL de água ultra purificada.

As amplificações foram feitas considerando a temperatura ideal de anelamento de cada *primer*, determinadas por um teste de anelamento realizado anteriormente. Foi utilizado o termociclador Eppendorf Applied Biosystems/Veriti 96 well, que foi configurado para efetuar 35 ciclos, obedecendo as temperaturas e tempos indicados para cada fase. A desnaturação inicial ocorreu a 94°C durante 5 minutos, enquanto a desnaturação cíclica ocorreu na mesma temperatura, porém no tempo de 1 minuto. A fase de anelamento foi realizada dentro de 1 minuto, com a temperatura ideal de cada iniciador. A fase de síntese cíclica foi feita dentro de 2 minutos a 72°C , proporcionando condições ótimas para a atividade da enzima polimerase, enquanto a extensão final ocorreu na mesma temperatura, contudo em 7 minutos corridos.

4.6. Protocolo de eletroforese capilar

Após a PCR, os produtos da amplificação foram distribuídos em placas específicas de 96 poços para eletroforese capilar no equipamento *Fragment Analyzer*, juntamente com marcadores contendo fragmentos de 1 e 500 pb. Na placa de amostra, um *ladder* de DNA de 250 pb (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, EUA) foi adicionado ao poço H12 para determinar o tamanho dos fragmentos amplificados. A eletroforese capilar foi realizada pela condução de uma corrente elétrica de 7,5 kW, pelo tempo aproximado de 140 min.

4.7. Análise de dados

4.7.1. Parâmetros de diversidade

Os dados obtidos a partir da separação de fragmentos por eletroforese foram utilizados para codificação alélica, onde foram identificados os alelos distintos dentro de cada *locus*. Essas informações foram convertidas em uma matriz numérica conforme procedimento utilizado por Ramos et al. (2014). Nesta

conversão foram atribuídos valores de 1 até o número máximo de alelos no *locus*, como descrito no exemplo a seguir: para um *locus* que apresentou três alelos, obteve-se a representação A1A1, A2A2 e A3A3 para as formas homozigotas e A1A2, A1A3 e A2A3 para as heterozigotas, dada a ploidia da cultura (Vittorazzi, 2016).

Esta matriz foi base para estimar a distância genética por dissimilaridade, via Índice Não Ponderado (INP), com auxílio do programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016). O programa Genes também foi usado para estimar as medidas de diversidade como Número de alelos por *locus* (Na), Heterozigosidade esperada (He), Heterozigosidade observada (Ho), Índice de Conteúdo Polimórfico (PIC) e o Coeficiente de Endogamia (F), tanto por *locus* quanto por linhagem.

A heterozigosidade esperada foi determinada pela seguinte expressão:

$$HE = 1 - \sum_{i=1}^k X_i^2$$

em que:

X_i : frequência do alelo i ;

K: número de alelos.

Já a heterozigosidade observada foi estimada pela expressão:

$$Ho = \frac{\sum_{j=1, j \neq 1}^a nij}{n}$$

em que:

N_{ij} : número de heterozigotos em cada *locus*;

N: total de indivíduos estudados.

O Índice de Conteúdo Polimórfico foi calculado pela seguinte expressão:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^a p_i^2 - \sum_{i,j=1}^a \sum_{(i \neq j)} p_i^2 p_j^2$$

em que:

$\sum p_i^2$: informatividade do primer;

$\sum \sum p_i^2 p_j^2$: frequência do alelo p no primer j .

O índice de fixação estima o coeficiente médio de endogamia e pode ser determinado pela seguinte expressão:

$$F = 1 - \frac{HE}{HO}$$

em que:

H_O : frequência de indivíduos homozigotos;

H_E : frequência de heterozigotos.

4.7.2. Métodos de agrupamento

A matriz de dissimilaridade genética foi exportada para o programa *STRUCTURE*, versão 2.3.4 (Pritchard, Stephens e Donnelly, 2000), com o objetivo de determinar o número ótimo de populações (k) dentro do grupo amostral composto por 47 genótipos de milho-pipoca, utilizando um modelo *bayesiano*. Este procedimento permite inferir a estrutura genética da população, indicando o número de *clusters* apropriados e auxiliando na definição de cortes em análises de agrupamento. Foram realizadas 100.000 iterações para cada execução, com o valor de k variando de 1 a 12, garantindo ampla cobertura de possibilidades (Oliveira, 2023). As iterações representam o número de passos que o algoritmo *bayesiano* executa para estimar os parâmetros da estrutura genética. Um número elevado de iterações é usado para garantir que o algoritmo alcance a convergência, ou seja, que os valores estimados sejam confiáveis. Assim, esse número é geralmente recomendado para análises que envolvem um número elevado de indivíduos ou *loci* genéticos, garantindo a robustez da análise.

Para a escolha do k ótimo, foi aplicado o método de Evanno et al. (2005), que se baseia na análise do delta K (ΔK), uma medida derivada da variação da probabilidade logarítmica $\ln P(D)$ entre os diferentes valores de k . $\ln P(D)$, representa o logaritmo da probabilidade posterior de observar os dados genéticos dado um número específico de *clusters* e é uma medida que indica o quão bem o modelo se ajusta aos dados genéticos. O cálculo do ΔK considera a média e o desvio-padrão de $\ln P(D)$ estimado em cada interação e segue a fórmula:

$$\Delta k_i = \text{ABS} (k_{i+1} - (2 \cdot k_i) + k_{i-1}) / \text{desvio-padrão de } K_i.$$

Onde:

i : corresponde ao número de grupos simulados, indo de $i = 1$ até $i = 12$;

ABS = corresponde ao módulo.

O módulo ABS é usado para capturar as variações absolutas entre os valores de $L(K)$, onde $L(K)$ é a média da log-verossimilhança para cada valor de k , e o índice i representa os diferentes valores simulados de k (variando de 1 a 12).

O aplicativo online *Structure Harvester* foi utilizado para calcular o ΔK e identificar os valores de k associados ao ΔK , considerado o número ótimo de *clusters*. Um valor de k muito pequeno pode subestimar a estrutura genética e gerar grupos amplos e imprecisos. Um k muito grande pode superestimar, criando *clusters* artificiais que não refletem diferenças reais. O ΔK ajuda a encontrar o ponto de equilíbrio, onde o número de grupos é suficiente para explicar a variabilidade.

Após determinar o k ideal, selecionou-se a simulação com o menor valor de $\text{LnP}(D)$ entre as 12 repetições para este k , garantindo que o agrupamento final seja o mais consistente com os dados observados. A escolha da simulação com o menor valor de $\text{LnP}(D)$ dentro das repetições ajuda a evitar cenários onde o algoritmo tenha capturado soluções instáveis. Embora o maior valor de $\text{LnP}(D)$ possa parecer mais atrativo, ele pode ser uma exceção estatística que não reflete a tendência geral das simulações, assim, selecionar a simulação mais baixa, mas ainda dentro do ideal, equilibra precisão com robustez estatística. Este método é amplamente aceito para identificar transições significativas na estrutura genética, equilibrando a adequação do modelo e a complexidade do agrupamento.

Como continuidade, a matriz numérica de dissimilaridade foi então importada para o programa R (R Core Team, 2021), onde foram realizadas as análises de agrupamento através do método UPGMA utilizando o pacote ggplot2, indicando o ponto de corte ideal com base no k derivado da análise no *Structure* (Hamilton e Ferry, 2018; Reis, 2023). O ajuste entre a matriz de dissimilaridade e a matriz de agrupamento foi estimado pelo Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC).

4.7.3. Caracterização fenotípica e fator de correção de dados

Foram conduzidos dois experimentos para caracterização fenotípica das linhagens do germoplasma de milho-pipoca da UENF, onde diversas características de interesse foram avaliadas, incluindo as que são tratadas neste trabalho. O primeiro experimento, identificado como ambiente 1, foi plantado em 2019 na época do inverno, e o segundo experimento, denominado como ambiente 2, plantado em

2020 na época de verão, ambos na Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo, em Campos dos Goytacazes/RJ.

Os experimentos foram estruturados em *sets*, que correspondem a delineamentos fatoriais distribuídos dentro do experimento principal, nos quais subconjuntos específicos de genótipos foram avaliados separadamente para minimizar a heterogeneidade ambiental e otimizar a estimação dos efeitos genotípicos. Cada *set* foi implementado seguindo um delineamento de blocos casualizados (DBC), com três repetições, garantindo o controle da variabilidade experimental dentro de cada ambiente de avaliação. Esses experimentos foram realizados em etapas anteriores a este trabalho e suas metodologias detalhadas de forma mais específicas estão disponíveis em trabalhos do grupo LEAG, desde mais dados sobre os plantios até as metodologias de avaliações de cada característica (Saluci, 2019; Almeida, 2022; Saluci, 2023).

Além disso, as linhagens L59, L70 e L80 foram incluídas como testemunhas em todos os *sets* como tratamentos comuns, permitindo a aplicação de correção estatística, como a padronização dos valores fenotípicos (Almeida, 2022). Essa correção se deu através do cálculo da média dos tratamentos comuns dentro de cada ensaio (MTCE) e a média geral desses tratamentos considerando todos os ensaios (MGTC). O fator de correção, obtido pela razão $MGTC/MTCE$, foi aplicado aos dados conforme a metodologia proposta por Ribeiro et al. (2009), permitindo a padronização dos efeitos ambientais e maior precisão na comparação entre os genótipos avaliados (Saluci, 2023). Em seguida realizou-se uma análise de correlação entre os dados fenotípicos e os moleculares.

4.7.4. Análise de correlação canônica

Para avaliar o desempenho dos *primers* com base nos dados fenotípicos adquiridos em experimentos anteriores realizados pelo Programa de Melhoramento de Milho-Pipoca da UENF, foi feita uma análise de correlação que relaciona as médias fenotípicas de cada característica alvo deste estudo com os dados moleculares obtidos a partir dos marcadores *SSR-EST*. O Método de Análise de Correlação Canônica (CCA) foi empregado para investigar a associação entre variáveis fenotípicas e as informações moleculares. A correlação cruzada é um

método estatístico multivariado que possibilita a identificação e avaliação da correlação entre dois conjuntos de variáveis, expondo a intensidade e a direção da relação entre os componentes canônicos que compõem cada conjunto.

As informações foram estruturadas em duas categorias: (1) um grupo de variáveis fenotípicas agronômicas (Y) e (2) um grupo de variáveis moleculares que representam os marcadores *SSR-EST* (X). Todos os dados foram padronizados para assegurar a comparabilidade entre as variáveis, prevenindo que variáveis de amplitudes maiores afetassem o modelo de forma desproporcional. O software R (R Core Team, 2021) foi usado para realizar a análise pelo pacote CCA.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estrutura populacional por índices de fixação alélica

Os índices de fixação alélica são fundamentais para compreender a estrutura genética de um grupo amostral, possibilitando a identificação de subgrupos e a avaliação do germoplasma para detectar possíveis estreitamentos genéticos (Perez, 2008).

Em linhagens, a análise da endogamia revela o nível de homozigose e a diversidade genética remanescente, influenciando diretamente a seleção de parentais e a obtenção de híbridos superiores. Em linhagens submetidas a ciclos de autofecundação, é esperado que a heterozigosidade observada diminua a cada geração devido ao aumento da homozigosidade (Rahimi et al., 2023). Isso ocorre porque a autofecundação reduz pela metade a proporção de *loci* heterozigotos a cada ciclo (Oliveira, 2023).

Para os parâmetros de heterozigose esperada (H_e) e heterozigose observada (H_o), elencados na tabela 4, pode-se perceber que a média de H_e estimada foi maior do que a de H_o , o que indica um maior número de alelos em homozigose no grupo amostral e um déficit de heterozigotos em relação ao esperado sob equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tan, 2020; Reis, 2023).

Tabela 4 - Análise de 47 linhagens de milho-pipoca para avaliar o nível de fixação alélica através de 35 *primers* microssatélites gênicos, realizada pelo programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016). Foram usados os parâmetros de Heterozigosidade esperada (He), a Heterozigosidade observada (Ho) e o Coeficiente de Endogamia (F).

Linhagens	He	Ho	F
L328	0,594	0,032	0,947
L326	0,648	0,057	0,914
L330	0,607	0,031	0,950
L332	0,564	0,029	0,949
L353	0,641	0,265	0,596
L357	0,544	0,000	1,000
L383	0,664	0,000	1,000
L381	0,674	0,156	0,775
L390	0,664	0,036	0,948
L325	0,561	0,030	0,948
L61	0,685	0,030	0,957
L391	0,654	0,029	0,958
L386	0,663	0,032	0,953
L394	0,675	0,094	0,865
L76	0,608	0,097	0,846
L69	0,685	0,029	0,958
L63	0,697	0,029	0,959
L55*	0,642	0,114	0,827
L55	0,674	0,114	0,835
L594	0,640	0,030	0,954
L77	0,676	0,032	0,954
L625	0,681	0,031	0,956
L80	0,668	0,171	0,750
L209	0,680	0,032	0,954
L207	0,630	0,031	0,952
L206	0,634	0,029	0,956
L204	0,668	0,156	0,773
L385	0,566	0,029	0,950
L217	0,599	0,147	0,761
L216	0,638	0,000	1,000
L656	0,651	0,000	1,000
L592	0,645	0,000	1,000
L213	0,633	0,000	1,000
L683	0,668	0,059	0,914
L691	0,560	0,091	0,842
L690	0,607	0,059	0,906
L689	0,688	0,057	0,919

Tabela 4 - Cont.

Linhagens	He	Ho	F
L294	0,691	0,000	1,000
L292	0,657	0,156	0,769
L291	0,611	0,000	1,000
L274	0,586	0,032	0,947
L653	0,661	0,000	1,000
L501	0,582	0,000	1,000
L503	0,633	0,129	0,802
L443	0,613	0,000	1,000
L480	0,641	0,000	1,000
Média	0,638	0,053	0,920

A He média foi de 0,638, indicando uma moderada variabilidade genética potencial dentro das linhagens. Esse valor infere sobre a diversidade genética esperada em uma população de reprodução panmítica (Vettorazzi, 2016). As linhagens apresentaram He variando de 0,544 (L357) a 0,697 (L63). De modo geral, linhagens com valores mais altos de He sugerem que, em sua origem, possuíam maior diversidade genética, possivelmente devido a cruzamentos prévios entre materiais geneticamente distintos.

A Ho média foi de apenas 0,053, indicando um alto grau de homozigose nas linhagens analisadas. Esse valor confirma que as linhagens passaram por sucessivas gerações de autofecundação. Além disso, várias linhagens apresentam Ho nula, sugerindo que esses genótipos são completamente homozigotos para 35 *loci* analisados. Por outro lado, algumas linhagens ainda mantêm um certo nível de heterozigose residual, como L353 (Ho = 0,265), L80 (Ho = 0,171), L204 (Ho = 0,156), L381 (Ho = 0,156), e L292 (Ho = 0,156). Isso pode ser resultado de alguns fatores, como a ocorrência de fluxo gênico, a presença de regiões genômicas que sofrem pressão seletiva para manutenção da heterozigose, ou devido ao número de ciclos de autofecundação que a linhagem foi submetida. Para o grupo amostral em questão, todas as linhagens foram submetidas a mais de sete ciclos de autofecundação. Deste modo, para este último, é válido ressaltar que em sete gerações de autofecundação a porcentagem de endogamia esperada é de 99,22% (Perez, 2008).

O coeficiente médio de endogamia (F) foi de 0,920, reforçando que a maioria das linhagens é altamente endogâmica, como esperado em programas de

melhoramento que utilizam linhagens endogâmicas para produção de híbridos. Destaca-se que o F pode apresentar valores na faixa de -1 a +1. Valores próximos a zero indicam cruzamento ao acaso; valores negativos indicam excesso de heterozigosidade, e elevados valores positivos indicam elevada endogamia (Peakall & Smouse, 2012; Azevedo, 2019). Valores negativos indicam a ausência de processos endogâmicos atuando sob as populações (Perez, 2008).

Os valores de F variaram de 0,596 (L353) a 1,000. O F igual a 1 indica linhagens sem qualquer heterozigosidade residual. Contudo, Coeficientes de Endogamia como os apresentados pelas linhagens L80 (0,750), L204 (0,773) e L292 (0,769), sugerem que ainda há alguma heterozigose residual em certos *loci*, indicando que essas linhagens precisam de mais ciclos de autofecundação para alcançar maior estabilidade genética. Ressalta-se que a linhagem L353 ($F=0,596$) apresentou menor F , indicando que é a que apresenta mais heterozigotos para os *loci* analisados. Linhagens completamente homozigotas ($F = 1/H_o = 0$) são estáveis e geneticamente fixadas, tornando-as boas candidatas para uso direto em cruzamentos visando a obtenção de híbridos comerciais, pois possuem maior valor preditivo (Zhang et al., 2021).

A heterozigosidade é outra métrica fundamental para a análise de diversidade, porque permite avaliar se uma população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg e ajuda a detectar fatores que possam estar influenciando sua estrutura genética. A heterozigosidade esperada reflete a probabilidade de que dois alelos escolhidos aleatoriamente em uma população sejam diferentes, considerando as frequências alélicas da população, segundo o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Já heterozigosidade observada é a proporção real de *loci* heterozigotos observados na amostra (Meireles, 2009; Valadares, 2023). O Coeficiente de Endogamia (F) é uma métrica que quantifica o grau de homozigosidade de uma população e tende a ser inversamente proporcional a H_o (Perez, 2008).

Linhagens com alto teor endogâmico são desejáveis, pois permitem a fixação de características específicas e a criação de linhagens puras, que servem como base para cruzamentos. O cruzamento direcionado entre essas linhagens pode explorar a máxima heterose, resultando em vigor híbrido, no qual os descendentes da primeira geração apresentam desempenho superior aos parentais (Rajan et al., 2023). Esse fenômeno pode ser explicado por dois principais mecanismos: a sobredominância, em que a complementação alélica promove o

vigor híbrido, e a dominância, na qual o aumento da heterozigosidade nos híbridos mascara alelos deletérios ou recessivos fixados durante a endogamia (Griffin, 1990; Perez, 2008).

Do ponto de vista da estrutura genética, a exploração da heterose tende a aumentar conforme a dissimilaridade entre os parentais cresce, uma vez que essa divergência é um fator quadrático no cálculo do vigor híbrido (Colombare et al., 2010). No entanto, para obter híbridos viáveis e produtivos, é essencial equilibrar a divergência genética com a compatibilidade reprodutiva. Assim, a geração de linhagens endogâmicas, aliada à caracterização molecular dos genótipos, é um passo fundamental para otimizar o desempenho das culturas agrícolas.

5.2. Diversidade genética funcional

A caracterização da variabilidade genética dentro de populações é efetuada a partir de medidas de diversidade intrapopulacional, como o Número de alelos (N_a), a Heterozigosidade esperada (H_e), a Heterozigose observada (H_o), o Índice de Conteúdo Polimórfico (PIC) e o Coeficiente de Endogamia (F) (Perez, 2008).

Alguns fatores podem influenciar na constituição genética de um grupo amostral, onde cita-se: o tamanho da população, a distribuição geográfica das populações, o modo de reprodução, o sistema de cruzamento e outros (Hamrick, 1983). O desenvolvimento de linhagens também adere a esses fatores que podem modificar sua constituição genética.

Após a seleção acurada dos marcadores *SSR-EST* selecionados em literatura, 35 mostraram-se polimórficos para o germoplasma em estudo, o que indica que a seleção foi eficaz em capturar a variabilidade genética do germoplasma. Na tabela 5 é possível observar os resultados dos parâmetros de diversidade genética das linhagens de milho-pipoca para as características de produtividade, capacidade de expansão, resistência ao *Fusarium* spp., resistência ao *Bipolaris maydis* e resistência ao *Exserohilum turcicum*.

Foram identificados 107 alelos, distribuídos entre os 35 *loci*, com valor médio de 3,06 alelos por *loci*. Esta média pode ser considerada moderada em comparação com estudos anteriores em populações endogâmicas de milho ou de milho-pipoca (Nikhou et al., 2013; Nyaligwa et al., 2015; Ilyas^a et al., 2023; Valadares, 2023). Considerando que o grupo amostral é composto unicamente por linhagens em ciclo avançado de

autofecundação, pode-se dizer que há uma boa variabilidade alélica entre as linhagens e que o número médio de alelos por *locus* pode ser atribuído a uma diversidade genética substancial dentro da população em estudo (Ilyas^a et al., 2023).

Tabela 5 - Análise da diversidade genética funcional de 47 linhagens de milho-pipoca através do uso de 35 *primers* microsatélites gênicos, pelo uso do programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016). Foram estimados os parâmetros de diversidade Número de alelos (Na), o Índice de Conteúdo Polimórfico (PIC), a Heterozigosidade esperada (He), a Heterozigose observada (Ho) e o Coeficiente de Endogamia (F).

<i>Loci</i>	Na	PIC	He	Ho	F
UENF7	3	0,380	0,434	0,000	1,000
UENF9	4	0,567	0,627	0,106	0,834
UENF 74	4	0,473	0,555	0,085	0,850
BNLG1331	4	0,506	0,549	0,043	0,923
y1	4	0,557	0,627	0,068	0,894
pl1	2	0,339	0,432	0,022	0,951
pbf1	5	0,726	0,764	0,064	0,918
fdx3	4	0,479	0,543	0,000	1,000
bip2	4	0,507	0,556	0,149	0,737
umc1031	6	0,754	0,786	0,022	0,973
umc1152	3	0,385	0,475	0,026	0,946
umc2292	4	0,504	0,550	0,021	0,962
umc1252	3	0,327	0,365	0,319	0,136
umc1082	3	0,475	0,564	0,022	0,962
umc1542	3	0,510	0,574	0,045	0,923
umc1448	4	0,587	0,636	0,043	0,934
umc1389	4	0,526	0,594	0,070	0,885
umc1221	2	0,360	0,471	0,022	0,955
umc1155	2	0,365	0,481	0,022	0,956
umc1157	2	0,374	0,498	0,000	1,000
umc2154	2	0,250	0,292	0,000	1,000
umc1176	2	0,367	0,485	0,000	1,000
umc1415	2	0,269	0,320	0,000	1,000
umc2343	6	0,746	0,780	0,098	0,878
umc1130	2	0,265	0,315	0,000	1,000
umc1604	2	0,319	0,398	0,548	-0,364
umc1135	2	0,152	0,165	0,000	1,000
umc1587	2	0,366	0,482	0,000	1,000

Tabela 5 - Cont.

<i>Loci</i>	Na	PIC	He	Ho	F
umc2401	2	0,332	0,420	0,022	0,948
umc2246	2	0,267	0,317	0,070	0,785
umc1867	3	0,568	0,640	0,000	1,000
umc1506	4	0,444	0,484	0,054	0,891
umc1450	2	0,355	0,462	0,000	1,000
umc1948	2	0,134	0,144	0,031	0,789
umc2059	2	0,355	0,462	0,025	0,947
Média	3,06	0,425	0,493	0,057	0,887

O Número de Alelos (Na) representa a quantidade total de variantes alélicas observadas em um conjunto de *loci* dentro de uma população. Ele está diretamente relacionado ao grau de polimorfismo dos *loci*, visto que *loci* altamente polimórficos apresentam maior número de variantes alélicas na população (Reis, 2023). Sabe-se que quanto maior o número de alelos exclusivos em uma linhagem ou população, menor é o fluxo gênico e consequentemente, essa linhagem ou população tende a ser geneticamente mais distante das demais dentro da mesma espécie (Azevedo, 2019).

O uso dos marcadores também identificou variação de 2 a 6 alelos por *locus*, o que demonstra que alguns *locus* apresentam mais diversidade do que outros. Para linhagens com alto nível de homozigosidade, identificar *locus* com até 6 alelos é notável e demonstra que, apesar dos ciclos de autofecundação, onde a variabilidade tende a ser reduzida devido à alta homozigosidade, ainda há variabilidade genética significativa no germoplasma estudado. Isso é coerente com a presença de múltiplas origens genéticas ou fontes de variabilidade inicial no programa de melhoramento.

O Índice de Conteúdo Polimórfico (PIC) é uma medida crucial para avaliar o poder discriminatório de marcadores moleculares, ou seja, a capacidade do marcador de detectar variação genética com base nas relações entre os indivíduos (Rajendran et al., 2014; Valadares, 2023). O PIC fornece uma estimativa do grau de polimorfismo de cada *locus*, sendo considerado altamente informativo quando superior a 0,5, moderadamente informativo entre 0,25 e 0,5 e não informativo quando inferior a 0,25 (Botstein et al., 1980; Rodrigues, 2021). Neste estudo, os valores de PIC variaram de 0,754, para o *locus* umc1031, a 0,152 para o *locus*

umc1135. A média de 0,425 para os 35 *locus* se classifica como moderada, considerando a avaliação proposta por Botstein e outros trabalhos que se relacionam em conteúdo (Galvão, 2014; Vittorazzi, 2016; Vettorazzi, 2016; Valadares, 2023).

Dado que o valor PIC varia de acordo com o Na encontrado, é possível identificar valores PIC em outros estudos que sejam iguais ou diferentes para um mesmo *locus* de microssatélite (Valadares, 2023). *Loci* com valores de PIC mais altos são considerados mais informativos e, portanto, mais valiosos para a seleção, pois permitem uma melhor discriminação entre linhagens. Em contrapartida, *loci* com PIC mais baixos possuem menor capacidade de discriminar linhagens, o que pode limitar o progresso na seleção (Reis, 2023).

A H_e indica a diversidade genética esperada para cada *locus*. De acordo com os dados, os valores de H_e variam entre 0,144 (umc1948) e 0,786 (umc1031), evidenciando uma considerável variação na diversidade genética entre os *loci*. Um H_e mais alto sugere maior diversidade genética esperada e, portanto, uma maior probabilidade de heterozigotos em uma população. Em contrapartida, a H_o reflete a heterozigosidade observada diretamente. No grupo amostral para muitos *locus*, o valor de H_o é significativamente baixo ou até nulo, indicando que há poucos ou nenhum heterozigoto observado, o que sugere uma fixação homozigótica, devido à condução do grupo amostral à endogamia.

Entretanto, para dois *locus* específicos, o umc1604 ($H_o=0,548$) e o umc1252 ($H_o=0,365$) o H_o se mostrou relativamente alto, e como é uma métrica inversamente proporcional ao F , como esperado, ambos *locus* apresentaram respectivamente Coeficientes de Endogamia de -0,364 e 0,136, o que sugere um excesso de heterozigotos que pode ser proveniente de fluxo gênico entre populações ou outros fatores que aumentam a diversidade genética. Isto indica que esses *locus* em questão não estão bem fixados nas linhagens.

Contudo, os valores observados para F revelaram para um nível alto de homozigose dos acessos considerando os *loci* investigados, com média de 0,887 (Azevedo, 2019). O alto Coeficiente de Endogamia é explicado pelos ciclos de autofecundação (Eisele et al., 2021). Apesar do alto grau de endogamia, a presença de *locus* com maior polimorfismo, dado o valor moderado do PIC, indica que ainda existe variabilidade genética no genoma das linhagens.

5.3. Estrutura genética da população (Método *Bayesiano*)

A matriz de alelos obtida a partir da análise de 47 linhagens de milho-pipoca com 35 marcadores *SSR-EST* foi utilizada para inferir a estrutura populacional, permitindo o cálculo de um ΔK , conforme sugerido por Evanno et al. (2005). O gráfico representativo do valor de ΔK apresentou dois picos, sendo o maior $\Delta K=2$ e o menor $\Delta K=5$, conforme mostrado na Figura 3. Embora o pico principal em $\Delta K=2$ sugira a presença de duas populações como o modelo estatisticamente mais robusto, optou-se por discutir $\Delta K=5$ devido à natureza dos dados moleculares. Esses dados envolvem *loci* relacionados a características distintas, incluindo traços quantitativos e alguns correlacionados negativamente, o que pode gerar maior complexidade na estrutura genética. Assim, a escolha de $\Delta K=5$ permite explorar com mais profundidade a diversidade genética e as possíveis subdivisões dentro do germoplasma analisado, proporcionando uma análise mais detalhada e abrangente.

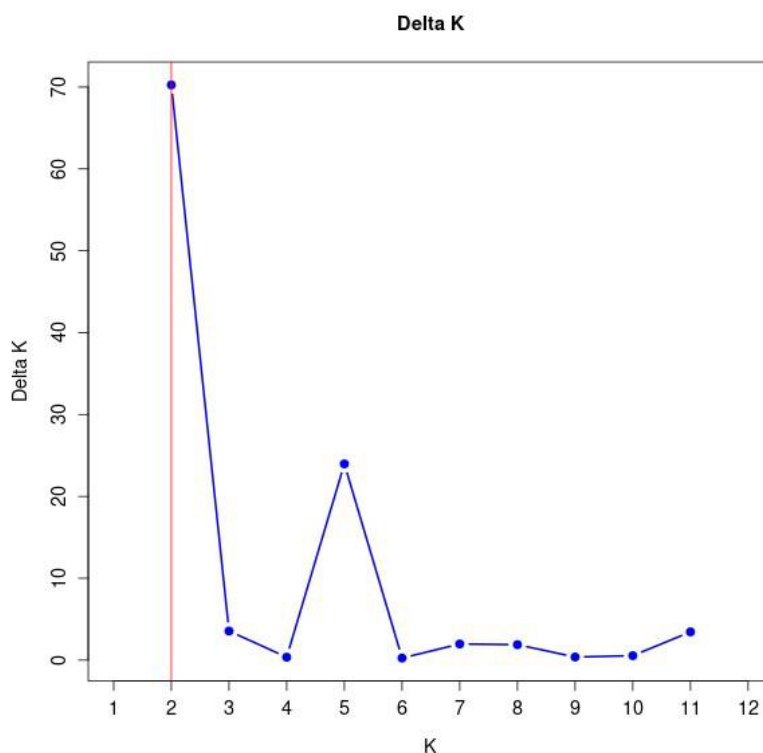


Figura 3 - Gráfico demonstrativo dos picos do ΔK indicando o número ótimo de *clusters* genéticos para os respectivos números de grupos (k) considerando 100.000 iterações.

Considerando o $k = 5$ e o menor valor de $\text{LnP}(D)$, obteve-se a representação gráfica dos 5 *clusters*, exibindo através da variação de cores a porcentagem do compartilhamento alélico entre essas diferentes populações, conforme observado na figura 4.

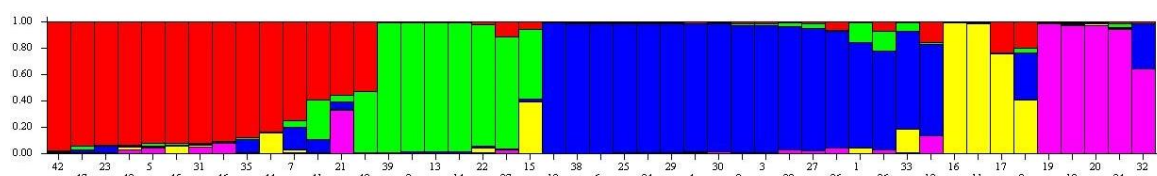


Figura 4. Agrupamento e estruturação genética pela inferência *Bayesiana* dos 47 genótipos de milho-pipoca baseado no $k=5$.

Na parte vertical do gráfico, é apresentada a graduação do compartilhamento alélico entre as linhagens, com a variação de cor indicando o grau de semelhança genética entre elas. Já a parte horizontal do gráfico exibe a distribuição das linhagens, sendo que cada linhagem é identificada por seu respectivo número, conforme detalhado no quadro 1.

Quadro 1. Relação entre 47 linhagens de milho-pipoca com seus respectivos números correspondentes ao gráfico de agrupamento pelo método *Bayesiano*.

GRUPO VERMELHO		GRUPO VERDE		GRUPO AZUL	
L353	5	L326	2	L328	1
L383	7	L386	13	L330	3
L77	21	L394	14	L332	4
L80	23	L76	15	L357	6
L656	31	L625	22	L390	9
L691	35	L689	37	L325	10
L292	40	L294	39	L391	12
L291	41	GRUPO AMARELO		L209	24
L274	42	L381	8	L207	25
L653	43	L61	11	L206	26
L501	44	L69	16	L204	27
L503	45	L63	17	L385	28
L443	46	GRUPO ROSA		L217	29
L480	47	L55*	18	L216	30
		L55	19	L592	32
		L594	20	L213	33
		L683	34	L690	36
				L222	38

Com base no agrupamento *Bayesiano*, obteve-se 5 grupos formados, o grupo azul é o maior, com 18 linhagens, o que corresponde a 38,3% da amostra total. O grupo vermelho é o segundo maior, com 14 linhagens, representando 29,8%. O grupo verde conta com 7 linhagens, correspondendo a 14,9%. E por último, os grupos amarelo e rosa apresentam 4 linhagens cada, representando 8,5% em cada grupo.

O grupo azul é composto por linhagens de seis genealogias distintas. Ele inclui as linhagens L325, L328, L330 e L332 que são descendentes da variedade Barão de Viçosa, desenvolvida pelo Programa de Melhoramento de milho-pipoca do Departamento de Genética da Universidade Federal de Viçosa (UFV). A população Barão de Viçosa, chamada também de UFVM 2, foi originada a partir de germoplasma norte americano adaptado para a região Centro-Oeste do Brasil (UFV, 2001; Scapim et al., 2010; Saluci, 2019; Almeida, 2022). As linhagens L385, L390 e L391 são descendentes da variedade originada a partir da população *North American landrace - South American variety (SAM)*, que foi desenvolvida nos Estados Unidos a partir da combinação de germoplasmas norte-americanos e sul-americanos (Saluci, 2019). A variedade SAM foi introduzida no Brasil pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), na década de 1940 (Couto et al., 2010). As variedades Barão de Viçosa e SAM são de polinização aberta e alguns trabalhos sugerem que possuem o mesmo ancestral norte americano (Couto et al., 2010; Silva et al., 2012; Vittorazzi et al., 2013). A linhagem L357 é proveniente da variedade PR 023 derivada de híbridos norte-americanos, desenvolvida na região noroeste do Paraná e alocada na Universidade Estadual de Maringá (UEM), localizada no estado do Paraná. Já as linhagens L204, L206, L207, L209, L213, L216, L217 e L222 são descendentes da população IAC 125, gerada a partir do híbrido intervarietal triplo (híbrido simples x variedade) via *top cross*, desenvolvido pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), em São Paulo (Gomes, 2006; Almeida, 2022). O grupo azul também é composto pela linhagem L592 originada da cultivar RS 20, desenvolvida pelo Instituto de Pesquisas Agronômicas (IPAGRO) de Porto Alegre/RS juntamente com o Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (Guadagnin, 2002; Seifert et al., 2006). E por fim, a linhagem L690 proveniente da cultivar UENF 14, que por sua vez foi desenvolvida na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) a partir de ciclos de seleção recorrente da população UNB-2U (Amaral Junior et al.,

2013; Almeida, 2022). Isso mostra uma diversidade genética dentro do grupo, com múltiplas origens que contribuem para sua formação.

O grupo vermelho foi composto por algumas linhagens com mesma descendência de linhagens do grupo azul, como a L383, também originada da população SAM, a linhagem L353 originada a partir da variedade PR 023 e a linhagem L691 da oriunda da cultivar UENF 14. Entretanto, também compõem esse grupo linhagens provenientes de outras genealogias, como as linhagens L77 e L80, ambas descendentes da variedade Viçosa-Viçosa desenvolvida na UFV e proveniente de cruzamentos de variedades locais e com híbridos norte-americanos (Amaral Júnior et al., 2011; Pena et al., 2012; Almeida, 2022). As linhagens L653 e L656 são provenientes da população de polinização aberta ARZM 13 050 de origem sul-americana, alocada no *Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT)* da Argentina (Vittorazzi, 2016; Saluci, 2019). As linhagens L291 e L292 ambas oriundas da população URUG 298, também de origem sul-americana, de polinização aberta e alocadas no *CIMMYT*, porém do Uruguai (Almeida, 2022; Vittorazzi, 2016; FAO, 2025). A linhagem L274 é proveniente de uma população de polinização aberta, denominada PARA 172, com origem descrita em pequenas propriedades rurais do Paraguai e alocada no *CIMMYT* do Paraguai (*CIMMYT*, 2012; Saluci, 2019; Almeida, 2022). A linhagem L443 é oriunda de população de polinização aberta, a BOYA 462, originada na Bolívia, porém alocada no *CIMMYT* da Colômbia (Vittorazzi, 2016; Saluci, 2019). Além disso, o grupo vermelho é composto também pelas linhagens L480 da genealogia SE 013, alocada na UEM, e L501 e L503 descendentes da PA 170 Roxo e alocadas no *CIMMYT* do Paraguai. Entretanto, a respeito das populações SE 013 e PA 170 Roxo, não foram encontradas informações complementares sobre sua origem ou desenvolvimento da sua base genética (Almeida, 2022).

Do grupo rosa, as linhagens L55 e L55* foram desenvolvidas a partir da variedade brasileira de polinização aberta Beija-flor pela UFV e alocadas na UENF (Amaral Junior et al., 2011; Silva et al., 2012). A linhagem L594 com descendência da cultivar nacional RS 20 desenvolvida pelo IPAGRO, e também a linhagem L683, descendente da UENF 14.

Do grupo amarelo, as linhagens L61, L63 e L69 são oriundas da variedade brasileira Angela, desenvolvida pela Embrapa Milho e Sorgo a partir de seis ciclos de seleção recorrente intrapopulacional e quatro ciclos de recombinação

com os acessos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa (Pacheco et al., 2001). Já a L381 é uma linhagem descendente da população SAM.

Do grupo verde, as linhagens L386 e L394 são originadas a partir da população SAM. A linhagem L326 é descendente da Barão de Viçosa. A linhagem L294 é proveniente da URUG298. A linhagem L689 da UENF 14. A L76 da Viçosa-Viçosa e por fim, a L625 gerada a partir da variedade de polinização aberta PA 091, derivada de híbridos norte-americanos, porém alocada na UEM.

O agrupamento de linhagens com diferentes genealogias dentro de um grupo não é um fenômeno incomum, especialmente se o processo de aglomeração for feito com base em características genéticas ou agronômicas semelhantes (Souza, 2012). Isso pode ocorrer devido à seleção convergente, onde linhagens de diferentes origens, ao longo do processo de melhoramento, desenvolvem características comuns (Kantety et al., 1995). Mas é importante considerar também que um alto número de genótipos agrupados de forma próxima pode estar relacionado com a base genética reduzida da cultura do milho-pipoca (Valadares, 2023).

A interação entre as linhagens de diferentes regiões e países mostra como diferentes contextos de seleção podem resultar em materiais genéticos com características comuns ou diferenciadas. Linhagens oriundas de processos de seleção semelhantes demonstram proximidade genética, enquanto linhagens de diferentes origens geográficas e distintos processos de melhoramento tendem a apresentar variações genéticas que influenciam suas características fenotípicas e desempenho tornando-as distintas entre si.

A variabilidade genética observada nos grupos pode ser altamente benéfica para o Programa de Melhoramento de Milho-Pipoca da UENF. A presença de linhagens com diferentes origens e históricos de seleção, proporciona um leque amplo de material genético para cruzamentos. Assim, ao combinar linhagens geneticamente distantes, é possível potencializar os efeitos da heterose, criando híbridos mais produtivos (Serafini et al., 2001). Portanto, a diversidade genética encontrada neste estudo constitui uma base sólida para a geração de híbridos fortes, principalmente baseado em dados moleculares, que podem inferir na predição dos desempenhos dos híbridos (Abad, 2003; Valadares, 2023).

5.4. Estrutura genética da população (Método Hierárquico)

A matriz de distância baseada em dissimilaridade genética foi convertida em um dendrograma utilizando o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). Nesse processo, as distâncias genéticas entre as populações ou indivíduos são agrupadas hierarquicamente. Inicialmente, os dois grupos com menor distância genética são unidos, e a distância média do novo grupo com os demais é recalculada (Backeljau et al., 1996). Esse processo se repete iterativamente até que todos os grupos estejam conectados, formando um dendrograma que representa as relações genéticas de forma gráfica e hierárquica (Nei, 1978). No dendrograma, quanto maior a distância genética entre os indivíduos, mais diferentes geneticamente eles são, e suas posições no gráfico estarão mais distantes (Segura-Alabart et al., 2022).

A consistência do método de agrupamento é avaliada pelo Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC), que é uma medida que avalia o quanto um dendrograma representa fielmente as distâncias genéticas originais da matriz de dissimilaridade (Dudley, 1994; Taheri et al., 2014; Vittorazzi, 2016). O CCC para o dendrograma da figura 5, gerado a partir do Índice Não Ponderado, possui o valor de 0,90, o que significa que o dendrograma tem uma alta correlação com a matriz de dissimilaridade, ou seja, 90% das variações genéticas originais estão bem representadas pela estrutura hierárquica do dendrograma (Vianna, 2019; Oliveira, 2023).

O grupo I representa 4,25% do grupo amostral e é formado por apenas duas linhagens, a L503 e a L353, o que sugere uma maior semelhança genética entre essas linhagens. As linhagens têm origens distintas, contudo, o agrupamento indica que, apesar das suas descendências, considerando os *loci* analisados, as linhagens apresentam características genéticas semelhantes.

Já o grupo II é composto por 3 linhagens e representa 6,38% das linhagens totais. As linhagens do grupo II são a L61, a L63 e a L69, e todas são provenientes da variedade Angela, desenvolvida pela Embrapa Milho e Sorgo. O agrupamento dessas linhagens neste grupo sugere que a seleção intrapopulacional tem sido eficaz na manutenção de características genéticas semelhantes dentro da variedade Angela, o que favorece a estabilidade genética do grupo.

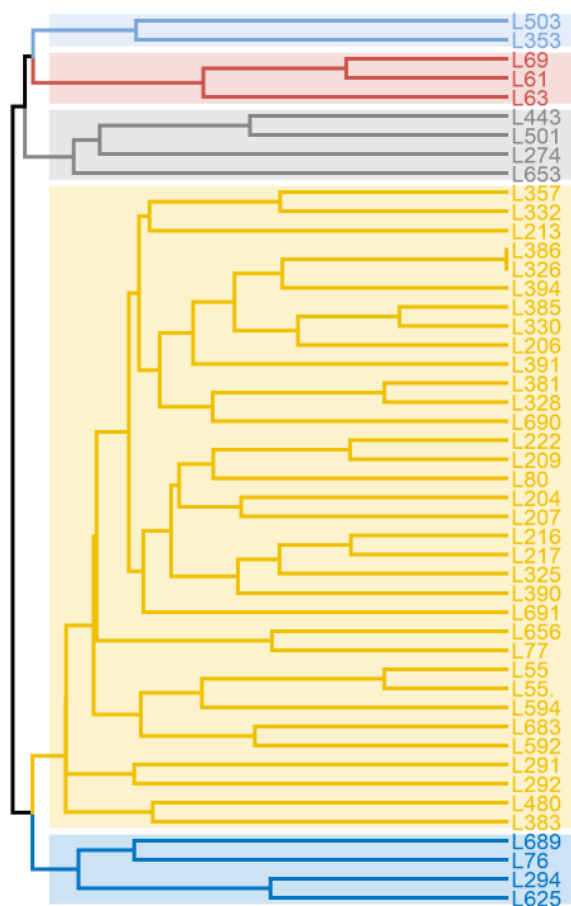


Figura 5. Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 47 genótipos de milho-pipoca e 35 *loci* relacionados a todas as características alvo deste trabalho. A distância genética foi obtida pelo Índice Não Ponderado e a análise foi realizada pelo programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016) (CCC=0,90).

O Grupo III é composto por 4 linhagens, que representam 8,51% do total estudado. Essas linhagens possuem origens distintas, mas que apresentam uma certa semelhança genética. A linhagem L443 é originária da população BOYA 462, a L501 é descendente da população PA 170 Roxo, a L204 tem origem na população IAC 125, enquanto a linhagem L653 provém da população ARZM 13 050. A similaridade desses genótipos pode ser devido ao método de condução do *CIMMYT* como organização internacional, focando os objetivos de melhoramento para os países sul-americanos, apesar de suas diferenças geográficas, fazendo com que compartilhem uma base genética comum que as torna mais próximas do que de outras linhagens.

O Grupo IV é o maior grupo, com 34 linhagens (72,35%), com uma grande diversidade genética refletida por linhagens de múltiplas origens, contudo, apesar dessa diversidade, as linhagens estão próximas geneticamente pela avaliação dos *loci* descritos, o que pode ser explicado pelo compartilhamento de características genéticas comuns, como a adaptação a condições específicas de cultivo ou a escolha de certos germoplasmas nas bases de desenvolvimento dessas populações. A grande quantidade de linhagens neste grupo pode indicar uma boa adaptação e diversidade dentro do germoplasma de milho-pipoca, refletindo a complexidade genética de programas de melhoramento com múltiplos cruzamentos e seleções.

O Grupo V é composto por 4 linhagens, representando também 8,51% do grupo amostral. Esse grupo apresenta origem em populações sul-americanas. Embora o grupo seja relativamente pequeno, as linhagens que o compõem indicam uma relação genética importante que pode ser explorada em programas de melhoramento para aumentar a variabilidade genética. A análise dos grupos formados pelo método UPGMA revela um panorama interessante da diversidade genética presente nas linhagens de milho-pipoca. O Grupo IV se destaca por sua grande diversidade genética e pela inclusão de linhagens provenientes de diferentes programas de melhoramento, enquanto o Grupo I e o Grupo II refletem linhagens mais isoladas e com maior dissimilaridade genética em relação às demais. O Grupo III, por sua vez, reúne linhagens com uma certa semelhança genética, embora provenientes de diversas origens geográficas e programas de melhoramento, enquanto o Grupo V exibe linhagens com origens moderadamente diversas, mas com proximidade genética.

5.5. Comparação entre as metodologias de agrupamento

Ao comparar os resultados obtidos pelo método UPGMA com os do método *Bayesiano*, foi possível observar algumas diferenças significativas. No caso do UPGMA, o agrupamento tende a ser mais conservador, com uma distribuição mais clara das linhagens em grupos mais homogêneos com base nas distâncias genéticas (Carvalho et al., 2009). O método UPGMA agrupa linhagens com base na proximidade genética, o que pode gerar *clusters* mais compactos, com grupos com linhagens isoladas ou com poucas linhagens (Brito, 2018). Já no método

Bayesiano, as linhagens são agrupadas com base em probabilidades e distribuições mais flexíveis, o que pode resultar em um agrupamento mais detalhado, até porque demonstra o compartilhamento alélico em porcentagem entre as linhagens (Faria et al., 2008).

Isto pode ser melhor percebido quando o método *Bayesiano* proporcionou a fragmentação do Grupo IV gerado pelo método UPGMA, composto por 34 genótipos, havendo então a distribuição das linhagens em menores grupos com maior similaridade entre os componentes dos mesmos (Vittorazzi, 2016).

5.6. Diversidade genética funcional para a característica de resistência a doenças fúngicas

Dentre as doenças fúngicas que acometem a cultura do milho-pipoca, destacam-se as manchas foliares e podridões de colmo e de grãos (Hurni et al., 2015; Mueller et al., 2016). A ocorrência dessas patologias prejudica a produtividade, a qualidade dos grãos e também gera preocupação sobre a fitossanidade alimentar, visto que muitos dos fitopatógenos produzem micotoxinas maléficas ao consumo (Di Domenico et al., 2015; Likhayo et al., 2018; Yu et al., 2021; Almeida, 2022).

A incidência de fungos do gênero *Fusarium* spp. inclui a podridão em grãos, colmos e raízes (Blacutt et al., 2018; Gai et al., 2018). As espécies mais frequentemente relatadas são *F. graminearum*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum* e principalmente *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (Nirenberg e O'Donnell 1998) (sinônimo *F. moniliforme*, teleomorfo *Gibberella moniliformis*) (Leyva-Madrigal et al., 2015; Carbas et al., 2021; Almeida, 2022).

As Helmintosporioses também são doenças fúngicas, causadas principalmente pelos patógenos *Bipolaris maydis* (Nisik. e Miyake) Shoemaker e *Exserohilum turcicum* (Pass.) (K. J. Leonard e E. G. Suggs), que são de grande importância para a cultura do milho-pipoca dado o impacto que possuem sobre a cultura (Guiomar, 2011). Essas doenças se manifestam majoritariamente nas folhas e a sintomatologia apresentada varia de acordo com as diferentes raças fisiológicas, mas de modo geral, são observadas lesões necróticas com formatos variados, usualmente com bordas de coloração marrom escuras (Guiomar, 2011; Saluci 2019). Em condições favoráveis ao desenvolvimento das doenças, a

incidência aumenta e a severidade observada pode ser de completo dessecamento das folhas antes mesmo da maturação dos grãos (Lima, 2004).

Apesar da distribuição desses fitopatógenos ser pandêmica, pouco se sabe sobre mecanismos naturais de resistência para essas doenças (Casela et al., 2006; Almeida, 2022). Quanto à natureza genética, existe um consenso de que a resistência à podridão é um caráter poligênico com herança mista, com predominância acentuada de efeitos aditivos (Wen et al., 2021). Logo, o uso de fungicidas é a forma de controle mais amplamente empregada, o que não configura uma prática sustentável e rentável a longo prazo (Almeida, 2022; Santos^b, 2022). Além disso, o uso indiscriminado desses biocidas pode promover o desenvolvimento de resistência aos mecanismos de ação por parte dos patógenos, diminuindo a eficiência do controle com o passar do tempo (Costa, 2009). Desse modo, é indicado que pesquisas se voltem para a busca de fontes de resistência, de forma concomitante com outras características de interesse agrônomo, visando o controle dessas fitopatologias, levando ao desenvolvimento de cultivares com bons desempenhos, o que representa a estratégia mais eficaz no controle dos patógenos (Saluci, 2019; Wen et al., 2021).

A análise da diversidade genética funcional em linhagens de milho-pipoca, utilizando marcadores *SSR-EST*, revelou uma variabilidade genética significativa, com implicações importantes para a resistência a doenças fúngicas. Os parâmetros genéticos calculados (N_a , H_e , H_o , PIC e F) forneceram *insights* sobre a estrutura populacional e o potencial de seleção de linhagens com características de resistência aos patógenos mencionados. Esses dados podem ser observados na tabela 6.

O número de alelos (N_a) observado nos 26 *loci* analisados variou de 2 a 6, com uma média de 2,96 alelos por *locus* e um total de 77 alelos distintos. Essa variabilidade é considerada moderada, especialmente quando comparada a estudos anteriores em populações endogâmicas de milho (Nikhou et al., 2013; Nyaligwa et al., 2015). A presença de *loci* com até 6 alelos, como nos *locus* *umc1031* e *umc2343*, é particularmente notável em linhagens com alto nível de homozigosidade, resultante de ciclos avançados de autofecundação. Essa diversidade alélica sugere que, apesar da endogamia, ainda há uma base genética substancial para a seleção de resistência a doenças fúngicas. Essa diversidade é crucial na busca por genótipos com característica de resistência às doenças alvo,

visto que esses diferentes alelos podem estar associados a mecanismos de defesa específicos contra patógenos, como o controle de vias metabólicas, controle da expressão gênica e outros. Logo, encontrar *loci* com maior número de alelos pode oferecer uma gama mais ampla de respostas imunes, aumentando a resiliência das linhagens a diferentes cepas de fungos.

O Índice de Conteúdo Polimórfico (PIC) variou de 0,134 (umc1948) a 0,754 (umc1031), com uma média de 0,412, sendo considerado moderadamente informativo. *Loci* como umc1031 e umc2343, com valores de PIC acima de 0,7, são altamente informativos e podem ser priorizados em programas de melhoramento para resistência a doenças fúngicas. Como esperado, PIC e N_a são diretamente proporcionais, e os *locus* com maiores N_a também apresentaram maiores valores de PIC. Esses marcadores permitem uma discriminação eficiente entre as linhagens, facilitando a identificação de genótipos com perfis genéticos favoráveis à resistência. Por outro lado, *loci* com valores de PIC mais baixos, como 0,134 (umc1948) e 0,250 (umc2154), têm menor poder discriminatório, o que pode limitar sua utilidade na seleção. No entanto, a análise conjunta desses *loci* ainda pode contribuir para a compreensão da estrutura genética das linhagens e para a identificação de regiões genômicas associadas à resistência.

A H_e variou de 0,144 (umc1948) a 0,786 (umc1031), refletindo uma diversidade genética considerável entre os *loci*. Valores elevados de H_e , como os observados em umc1031, sugerem um potencial genético significativo para resistência a doenças fúngicas. No entanto, H_o foi baixa, com média de 0,064, indicando uma fixação homozigótica resultante dos ciclos de autofecundação a que as linhagens foram submetidas. Duas exceções notáveis foram os *loci* umc1604 ($H_o=0,548$) e umc1252 ($H_o=0,319$), que apresentaram valores de H_o relativamente altos. Esses *loci* também tiveram F proporcionais aos esperados, sugerindo um excesso de heterozigotos. Esse padrão pode ser resultado de fluxo gênico entre populações ou da seleção natural de alelos favoráveis à resistência a doenças. O F apresentou uma média de 0,853, refletindo o alto nível de homozigosidade das linhagens devido aos ciclos de autofecundação. Valores de F iguais ou próximos a 1,0 indicam fixação quase completa de alelos, o que pode ser observado para diversos *locus* na tabela 6, o que, por sua vez, é recomendado dado ao valor preditivo que possuem.

Tabela 6 - Análise da diversidade genética funcional de 47 linhagens de milho-pipoca através do uso de 26 *primers* microssatélites gênicos voltados para a característica de resistência a doenças fúngicas, pelo uso do programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016). Foram estimados os parâmetros de diversidade Número de alelos (Na), o Índice de Conteúdo Polimórfico (PIC), a Heterozigosidade esperada (He), a Heterozigose observada (Ho) e Coeficiente de Endogamia (F).

<i>locus</i>	Na	PIC	He	Ho	F
UENF7	3	0,380	0,434	0,000	1,000
BNLG1331	4	0,506	0,549	0,043	0,923
y1	4	0,557	0,627	0,068	0,894
pl1	2	0,339	0,432	0,022	0,951
bip2	4	0,507	0,556	0,149	0,737
umc1031	6	0,754	0,786	0,022	0,973
umc1152	3	0,385	0,475	0,026	0,946
umc2292	4	0,504	0,550	0,021	0,962
umc1252	3	0,327	0,365	0,319	0,136
umc1542	3	0,510	0,574	0,045	0,923
umc1389	4	0,526	0,594	0,070	0,885
umc1221	2	0,360	0,471	0,022	0,955
umc1155	2	0,365	0,481	0,022	0,956
umc1157	2	0,374	0,498	0,000	1,000
umc2154	2	0,250	0,292	0,000	1,000
umc1176	2	0,367	0,485	0,000	1,000
umc1415	2	0,269	0,320	0,000	1,000
umc2343	6	0,746	0,780	0,098	0,878
umc1130	2	0,265	0,315	0,000	1,000
umc1604	2	0,319	0,398	0,548	-0,364
umc1587	2	0,366	0,482	0,000	1,000
umc2401	2	0,332	0,420	0,022	0,948
umc2246	2	0,267	0,317	0,070	0,785
umc1867	3	0,568	0,640	0,000	1,000
umc1506	4	0,444	0,484	0,054	0,891
umc1948	2	0,134	0,144	0,031	0,789
Média	2,96	0,412	0,480	0,064	0,853

5.7 Agrupamento hierárquico para a característica de resistência a doenças fúngicas

No agrupamento via UPGMA, foram gerados seis grupos, com Coeficiente de Correlação Cofenética de 0,91, conforme demonstrado na figura 6. O Grupo I, composto pelas linhagens L443, L501, L274 e L653, apresenta uma diversidade

genética moderada. As linhagens L443 e L501, oriundas de populações sul-americanas como BOYA 462 e PA 170 Roxo, mostram uma proximidade genética, provavelmente devido à similaridade nas práticas de melhoramento implementadas no *CIMMYT*. Por outro lado, a linhagem L274, proveniente de uma população de polinização aberta do Paraguai, e L653, que vem da população ARZM 13 050, alocada no *CIMMYT* da Argentina, também possuem alguma semelhança genética, mas suas origens geográficas distintas refletem a adaptação das linhagens a diferentes condições de cultivo. Isso sugere que a seleção regional em cada um desses países, aliada à interação com programas de melhoramento, pode ter gerado características genéticas semelhantes que permitem o agrupamento das linhagens.

O Grupo II, formado pelas linhagens L503 e L353, é composto por um número reduzido de linhagens. A linhagem L503 é descendente da PA 170 Roxo, e a L353 da PR 023, e embora tenham uma origem distinta, também se aproximam em termos genéticos. A proximidade entre essas linhagens, mesmo com suas diferentes origens, também pode ser explicada pelo uso de práticas de melhoramento semelhantes e pela similaridade nas características fenotípicas que elas apresentam.

O Grupo III é o maior entre os grupos analisados, englobando linhagens de múltiplas origens geográficas e programas de melhoramento. Linhagens como L357, L332, L222, L209, L213, L206, L204, L207, L385, L330, L690, L386, L326, L683, L592, L391, L216, L390, L217, L77, L594, L656, L80, L691, L69, L61, L63, L325, L328 e L381 revelam uma grande diversidade genética, mas ao mesmo tempo, compartilham características genéticas comuns que as agrupam. Muitas dessas linhagens possuem origens em variedades brasileiras, como a Barão de Viçosa, a população SAM e a PR 023, mas também incluem populações de polinização aberta de origem sul-americana, como o caso de várias linhagens que vêm do *CIMMYT* de diferentes países sul-americanos. A diversidade dentro desse grupo pode ser explicada pelo compartilhamento de características genéticas que favorecem a adaptação a diferentes regiões, além da alta interação entre germoplasmas provenientes de diferentes locais. Apesar da diversidade, a convergência nas características agrônômicas e genéticas pode ter feito com que essas linhagens formassem um único grupo, com base nos *loci* analisados.

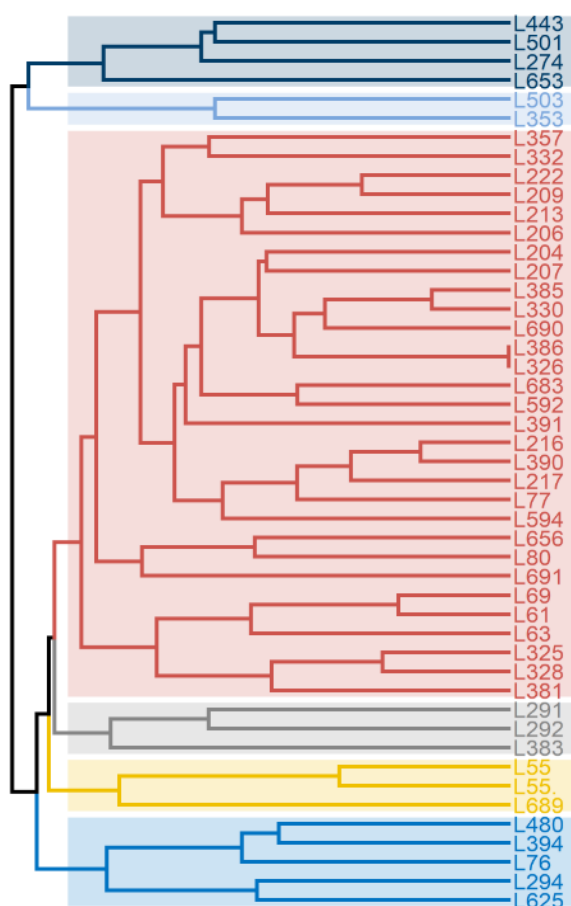


Figura 6. Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 47 genótipos de milho-pipoca e 26 *loci* relacionados à característica de resistência a doenças fúngicas. A distância genética foi obtida pelo Índice Não Ponderado e a análise foi realizada pelo programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016) (CCC=0,91).

O Grupo IV, composto pelas linhagens L291, L292 e L383, apresenta uma composição mais homogênea, com linhagens de origem sul-americana, como é o caso das populações URUG 298 e SAM. A proximidade genética dessas linhagens sugere que elas compartilham um histórico de melhoramento voltado para a adaptação a condições ambientais semelhantes.

O Grupo V, formado pelas linhagens L55, L55* e L689, tem uma composição mais restrita e é representado por linhagens desenvolvidas no Brasil a partir de germoplasma de milho-pipoca nacional. A proximidade genética entre essas linhagens pode ser atribuída à origem comum. As linhagens L55 e L55* são

originadas da variedade Beija-flor, de polinização aberta. Já a L689 é descendente da UENF 14. Prevê-se então que há características agronômicas que aproximam essas linhagens, apesar de pequenas variações genéticas que podem ocorrer devido a processos de seleção específicos dentro de cada local de desenvolvimento.

O Grupo VI, composto pelas linhagens L480, L394, L76, L294 e L625, reúne linhagens com origens variadas, mas que compartilham algumas características genéticas comuns. A L480 vem da genealogia SE 013, enquanto a L394 é originada da população SAM. A L76 vem de uma variedade Viçosa-Viçosa, enquanto a L294 e a L625 têm origens no Paraguai e no Brasil, respectivamente. Apesar das diferenças geográficas, essas linhagens se agruparam devido à proximidade em características genéticas, o que pode ser explicado pelo processo de seleção convergente realizado por programas de melhoramento que buscam otimizar características agronômicas desejáveis em milho-pipoca.

A análise geral dos grupos formados pelo método UPGMA revela um quadro de alta diversidade genética entre as linhagens de milho-pipoca, com agrupamentos que refletem tanto a história de seleção em diferentes regiões, quanto a presença de características genéticas comuns que facilitam a combinação de linhagens em programas de melhoramento. O agrupamento das linhagens em grupos com base em sua dissimilaridade genética demonstra como a interação entre diferentes germoplasmas e práticas de melhoramento pode levar a uma ampla gama de características desejáveis que são úteis para a criação de híbridos mais produtivos e adaptados.

5.8. Diversidade genética funcional para característica de produtividade

A produtividade é um dos principais critérios para a seleção de genótipos durante programas de melhoramento, deste modo, cultivares que demonstram maior rendimento são mais valorizadas. Isto é devido a vários fatores, que incluem a sustentabilidade agrícola, resultando produção mais eficiente e reduzindo a necessidade de expandir a área plantada, consequentemente minimizando impactos ambientais. Além da maior produtividade estar relacionada diretamente

com a competitividade no mercado, dado que o milho-pipoca é uma cultura de nicho, e a característica afeta diretamente a rentabilidade dos agricultores.

O rendimento de grãos é uma métrica fundamental para avaliar a produtividade de milho-pipoca, pois reflete diretamente o potencial agrônomo das linhagens ou híbridos em termos de eficiência na conversão de insumos em massa de grãos colhidos por unidade de área. Essa característica está altamente correlacionada ao desempenho adaptativo dos genótipos em diferentes ambientes e condições de manejo, sendo, portanto, um indicador-chave na identificação de materiais superiores para cultivo.

O rendimento de grãos aceitável por linhagem de milho-pipoca geralmente varia de 800 kg/ha a 2.000 kg/ha, dependendo das condições ambientais, do manejo agrônomo e do tipo de germoplasma utilizado. Linhagens, por serem genótipos homozigotos fixados, normalmente apresentam produtividade inferior devido à ausência do efeito heterótico, que confere maior vigor e produtividade em híbridos. Em comparação, híbridos ou cultivares comerciais de milho-pipoca podem apresentar rendimentos significativamente mais altos. Portanto, o rendimento de linhagens isoladas é considerado uma base para avaliar o potencial genético, enquanto os híbridos comerciais são projetados para maximizar a produção em campo, garantindo alta *performance* sob condições de cultivo comerciais.

Após a seleção acurada dos marcadores *SSR-EST* selecionados em literatura, 30 mostraram-se polimórficos para o germoplasma em estudo, o que indica que a seleção foi eficaz em capturar a variabilidade genética do germoplasma para a característica de produtividade. Na tabela 7 é possível observar os resultados dos parâmetros de diversidade genética das linhagens.

O Número de alelos (N_a) observado nas 47 linhagens foi de 94, distribuídos entre 30 *loci*, com uma média de 3,13 alelos por *locus*. Os marcadores utilizados neste trabalho são do tipo *SSR-EST*, os quais usualmente apresentam menor grau de polimorfismo em comparação aos marcadores genômicos, devido à maior conservação das sequências de DNA em regiões codantes (Vettorazzi, 2016; Valadares, 2023).

Tabela 7 - Análise da diversidade genética funcional de 47 linhagens de milho-pipoca através do uso de 30 *primers* microssatélites gênicos voltados para a característica de produtividade, pelo uso do programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016). Foram estimados os parâmetros de diversidade Número de alelos (Na), o Índice de Conteúdo Polimórfico (PIC), a Heterozigosidade esperada (He), a Heterozigose observada (Ho) e o Coeficiente de Endogamia (F).

<i>loci</i>	Na	PIC	He	Ho	F
UENF7	3	0,38	0,434	0	1
UENF9	4	0,567	0,627	0,106	0,834
UENF 74	4	0,473	0,555	0,085	0,85
BNLG1331	4	0,506	0,549	0,043	0,923
pbf1	5	0,726	0,764	0,064	0,918
fdx3	4	0,479	0,543	0	1
bip2	4	0,507	0,556	0,149	0,737
umc1031	6	0,754	0,786	0,022	0,973
umc1152	3	0,385	0,475	0,026	0,946
umc2292	4	0,504	0,55	0,021	0,962
umc1252	3	0,327	0,365	0,319	0,136
umc1082	3	0,475	0,564	0,022	0,962
umc1448	4	0,587	0,636	0,043	0,934
umc1389	4	0,526	0,594	0,07	0,885
umc1221	2	0,36	0,471	0,022	0,955
umc1155	2	0,365	0,481	0,022	0,956
umc1157	2	0,374	0,498	0	1
umc1176	2	0,367	0,485	0	1
umc1415	2	0,269	0,32	0	1
umc2343	6	0,746	0,78	0,098	0,878
umc1130	2	0,265	0,315	0	1
umc1604	2	0,319	0,398	0,548	-0,364
umc1135	2	0,152	0,165	0	1
umc1587	2	0,366	0,482	0	1
umc2401	2	0,332	0,42	0,022	0,948
umc2246	2	0,267	0,317	0,07	0,785
umc1867	3	0,568	0,64	0	1
umc1506	4	0,444	0,484	0,054	0,891
umc1450	2	0,355	0,462	0	1
umc1948	2	0,134	0,144	0,031	0,789
Média	3,133	0,429	0,495	0,061	0,863

Além disso, a autofecundação tende a reduzir o número de alelos em um grupo amostral, pois aumenta a homozigose e favorece a perda de alelos raros ao longo das gerações. Esse processo diminui a variabilidade genética, pois concentra

alelos em linhagens específicas (Eisele et al., 2021). Assim, era esperado um número reduzido de N_a , mas o resultado se mostrou consideravelmente superior a outros trabalhos oriundos do mesmo tipo de marcador e desenvolvidos com o mesmo germoplasma (Vittorazzi, 2016; Valadares, 2023). A variabilidade alélica por *locus* variou de 2 a 6 alelos. A presença de *loci* com até 6 alelos é relevante, pois indica que, apesar das condições favoráveis à menor diversidade, fontes de variabilidade genética ainda permanecem no germoplasma analisado, o que sugere múltiplas origens genéticas na formação do grupo amostral e boa manipulação dentro do programa de melhoramento genético (Haliloglu et al., 2020).

Para as características de produtividade, os valores de PIC variaram de 0,754 para o *locus* umc1948 até 0,134 para o *locus* UENF9, com uma média geral de 0,429. Essa média pode ser classificada como moderada, considerando outros trabalhos que se relacionam em conteúdo (Galvão, 2014; Vittorazzi, 2016; Vittorazzi, 2016; Valadares, 2023). *Loci* com valores de PIC mais altos são considerados mais informativos e, portanto, mais valiosos para a seleção, pois permitem uma melhor discriminação entre linhagens. Em contrapartida, *loci* com PIC mais baixos possuem menor capacidade de discriminar entre linhagens, o que pode limitar o progresso na seleção (Reis, 2023).

Os valores observados para F variaram de -0,364 a 1,000, apontando para um nível de médio a alto de homozigose dos acessos considerando os *loci* investigados (Azevedo, 2019). A média de F observada foi de 0,863, indicando um alto grau de endogamia no grupo amostral. O alto coeficiente de endogamia é explicado pelos ciclos de autofecundação (Eisele et al., 2021). Apesar do alto grau de endogamia, a presença de *loci* com maior polimorfismo, dado o valor moderado do PIC, indica que ainda existe variabilidade genética no genoma das linhagens.

Em resumo, os parâmetros genéticos utilizados para avaliar as 47 linhagens de milho-pipoca indicam que, embora haja um alto grau de endogamia e redução da heterozigosidade, ainda existem *loci* com diversidade genética significativa. O uso estratégico de cruzamentos entre linhagens geneticamente divergentes pode ajudar a restaurar a variabilidade genética e melhorar o progresso genético nas gerações subsequentes. A avaliação da variabilidade genética é, portanto, crucial para o sucesso do melhoramento genético, permitindo o desenvolvimento de híbridos com características superiores e maior adaptação a diferentes condições ambientais.

5.9. Agrupamento hierárquico para a característica de produtividade

A matriz de distância baseada em dissimilaridade genética pode ser convertida em um dendrograma utilizando o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). A consistência do método de agrupamento foi avaliada pelo Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC). Para o dendrograma da figura 7, gerado a partir do Índice Não Ponderado, possui o valor de CCC foi de 0,88, o que significa que o dendrograma tem uma alta correlação com a matriz de dissimilaridade, ou seja, 88% das variações genéticas originais estão bem representadas pela estrutura hierárquica do dendrograma (Vianna, 2019; Oliveira, 2023).

A análise do dendrograma gerado para as 47 linhagens de milho-pipoca, a partir da metodologia UPGMA. Essa separação indica uma diferenciação genética significativa entre as linhagens, confirmando os resultados obtidos na análise descritiva dos *loci*. A formação dos grupos está relacionada com o quando os genótipos compartilham das regiões genômicas analisadas (Oliveira, 2021).

O grupo I é composto pela linhagem L653, com descendência da população ARZM 13 050, do CIMMYT da Argentina. Já o grupo II é composto pela linhagem L274, tem genealogia da população PARA 172 CIMMYT do Paraguai (Saluci, 2019). O fato desses grupos serem compostos unicamente por uma linhagem cada, formando grupos isolados, indica que essas linhagens apresentam maior dissimilaridade genética em relação às demais linhagens avaliadas para a característica alvo.

O Grupo III, por sua vez, é o maior grupo, representando 77,5% do grupo amostral avaliado. Este grupo reúne linhagens provenientes de diversas origens e reflete uma maior diversidade genética, uma vez que contém linhagens originadas de diferentes descendências, oriundas de diferentes origens geográficas e desenvolvidas por diferentes instituições. As linhagens desse grupo incluem 7 originárias da população SAM, que foram desenvolvidas nos Estados Unidos a partir da combinação de germoplasmas norte-americanos e sul-americanos, resultando em material genético híbrido. Essas linhagens estão agrupadas de forma próxima no dendrograma, sugerindo que compartilham alelos em comum.

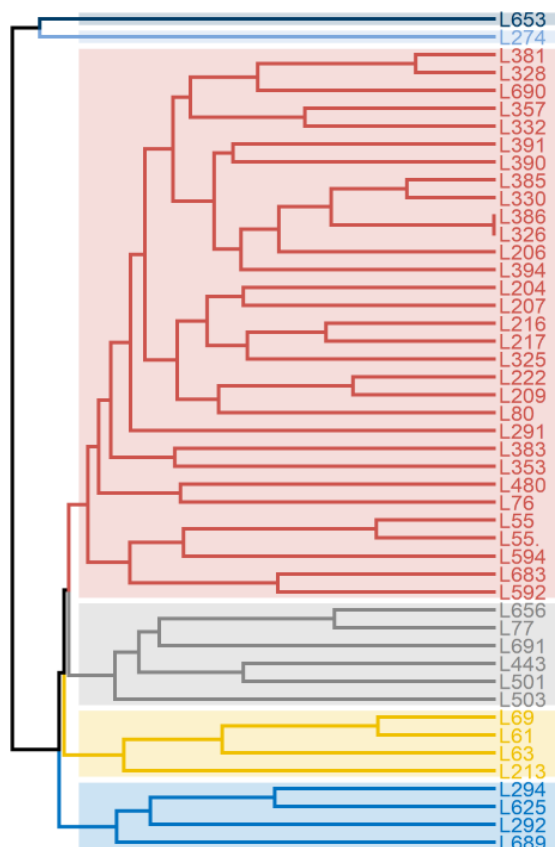


Figura 7 - Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 47 genótipos de milho-pipoca e 30 *loci* relacionados à característica de produtividade. A distância genética foi obtida pelo Índice Não Ponderado e a análise foi realizada pelo programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016) (CCC=0,88).

Além disso, 5 linhagens originárias da população Barão de Viçosa, desenvolvidas na Universidade Federal de Viçosa (UFV), também estão agrupadas de forma próxima, mostrando uma relação genética entre elas devido à sua teórica origem comum. Outras 2 linhagens, pertencentes à população Viçosa-Viçosa, também desenvolvidas na UFV, são agrupadas de forma similar. O grupo também inclui 7 linhagens originárias do híbrido IAC 125, desenvolvida pelo Instituto Agrônomo de Campinas, em São Paulo, que estão próximas no dendrograma, refletindo uma maior homogeneidade genética entre elas. Outras linhagens incluem 2 oriundas da população UENF 14, que foram desenvolvidas pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro a partir de ciclos de seleção recorrente intrapopulacional, além de 2 linhagens da população RS 20, desenvolvidas no IPAGRO, no Rio Grande do Sul. Outras linhagens vêm da Universidade Estadual de Maringá (PR), como a população PR 023, e do *CIMMYT* no Uruguai.

O Grupo IV inclui a linhagem L656, descendente da população ARZM 13 050, também gerada *CIMMYT*, na Argentina. Também a linhagem L77, originada da população Viçosa-Viçosa, desenvolvida na UFV; a linhagem L691, da população UENF-14; a L443, gerada a partir do parental BOYA 462; as linhagens L501 e L503 originadas a partir da população PA 170 ROXO, desenvolvidas no *CIMMYT* do Paraguai. A semelhança genética entre elas sugere que, apesar das origens distintas, compartilham características que resultam em uma proximidade genética dentro do grupo.

O grupo V apresenta 4 linhagens, sendo 3 delas originadas da Embrapa/Brasil e provenientes da variedade Angela, que são: L69, L61 e L63. Além disso, o grupo também é composto pela linhagem L213, também gerada a partir do híbrido intervietal IAC 125.

Por fim, o grupo VI, é composto também por 4 linhagens, sendo a L294 e a L292 descendentes da URUG 298; a linhagem L625 originada a partir do parental PA 091 e desenvolvida pelo IPAGRO no Rio Grande do Sul; e por fim, a linhagem L689, oriunda da população UENF-14, desenvolvida na UENF, no Rio de Janeiro.

A interação entre as linhagens de diferentes regiões e países mostra como diferentes contextos de seleção podem resultar em materiais genéticos com características comuns ou diferenciadas. Linhagens oriundas de processos de seleção semelhantes demonstram proximidade genética, enquanto linhagens de diferentes origens geográficas e distintos processos de melhoramento tendem a apresentar variações genéticas que influenciam suas características fenotípicas e desempenho. A diversidade genética observada nos grupos analisados sugere que, ao longo do tempo, os programas de melhoramento têm adaptado essas linhagens às necessidades e condições locais, resultando em uma base genética valiosa para futuros avanços no cultivo de milho-pipoca.

Essa variabilidade genética observada nos grupos pode ser altamente benéfica para o Programa de Melhoramento de Milho-Pipoca da UENF. A presença de linhagens com diferentes origens e históricos de seleção, proporciona um leque amplo de material genético para cruzamentos. Assim, ao combinar linhagens geneticamente distantes, é possível potencializar os efeitos da heterose, criando híbridos mais produtivos. Portanto, a diversidade genética encontrada neste estudo constitui uma base sólida para a geração de híbridos fortes, principalmente

baseado em dados moleculares, que podem inferir na predição dos desempenhos dos híbridos (Valadares, 2023).

5.10. Diversidade genética funcional para característica de capacidade de expansão

A Capacidade de Expansão (CE) é definida como a relação entre o volume de pipoca produzido e o peso dos grãos utilizados no processamento. No mercado, grãos com maior capacidade de expansão são mais valorizados, pois geram pipocas de maior volume e melhor apelo visual, atendendo às preferências dos consumidores. Para os produtores, essa característica influencia diretamente o valor comercial e a competitividade do produto, tornando-se um fator determinante na comercialização do milho-pipoca. Dada sua relevância econômica, o estudo da CE é fundamental para o melhoramento genético da cultura, permitindo a seleção de genótipos superiores que atendam às exigências do mercado e maximizem a rentabilidade da produção.

O estudo da capacidade de expansão do milho-pipoca deve levar em consideração uma variedade de fatores, como esfericidade do grão, teor de umidade, espessura do pericarpo, e outros fatores que têm efeitos significativos (Ikkurti et al., 2023). Além disso, fatores controláveis, como práticas agrônômicas, também influenciam a qualidade do estouro. Um exemplo importante é a secagem do milho-pipoca, que é um processo crítico, pois pode resultar na redução do teor de umidade inicial dos grãos. Caso a secagem seja realizada de maneira rápida e em altas temperaturas, seguida de um resfriamento abrupto, pode haver comprometimento das estruturas do grão essenciais para a expansão, prejudicando a qualidade do produto final (Freire, 2019).

A fim de garantir um bom rendimento em relação à capacidade de expansão, o teor de umidade do grão deve estar entre 13% e 15%. O percentual de umidade recomendado para fins de comercialização do milho-pipoca é de 13,5%, conforme especificado pela legislação brasileira (Brasil, 2011). A manutenção desse intervalo de umidade é essencial, pois tanto o excesso quanto a deficiência de água nos grãos podem comprometer a expansão durante o processo de estouro.

Inicialmente, para que o milho-pipoca fosse comercializado, era necessário que possuísse, no mínimo, uma Capacidade de Expansão de 15 ml.g^{-1} (Pacheco et al., 1996; Nobre et al., 2000). As variedades comerciais apresentavam valores de CE próximos a 30 ml.g^{-1} , representando um aumento significativo dos padrões para a característica. Atualmente, os produtores comerciais de milho-pipoca buscam variedades com altos valores de CE, podendo variar de 30 ml.g^{-1} a mais de 40 ml.g^{-1} .

Contudo, além dos fatores já mencionados, estudos genéticos elucidaram que a capacidade de expansão do milho-pipoca é uma característica quantitativa complexa, estando sob a herança de efeitos genéticos aditivos, de dominância e epistáticos (Coan, 2019; Ikkurti et al., 2023). Assim, se faz necessário o uso de estratégias de melhoramento como a obtenção de linhagens endogâmicas que, apesar de apresentarem limitações em termos de capacidade de expansão CE, podem, quando combinadas de forma estratégica, gerar híbridos que atendam à demanda comercial. Isso ocorre em decorrência do favorecimento da manifestação de heterose.

Outro fator que dificulta a seleção para alta capacidade de expansão é a correlação negativa entre CE e produtividade. Ou seja, a seleção direta para um destes caracteres poderá levar a mudanças indesejáveis no outro. Portanto, para contornar esse percalço, a seleção simultânea se mostra uma boa alternativa (Vilarinho et al., 2003).

A análise da diversidade genética funcional em linhagens de milho-pipoca, utilizando marcadores *SSR-EST*, revelou através dos parâmetros de diversidade uma variabilidade genética significativa, com implicações importantes para a característica de Capacidade de Expansão. Os dados referentes a essas análises estão relacionados na tabela 8.

O Na observado nos 26 *loci* analisados variou de 2 a 6, com uma média de 3,179 alelos por *locus* e um total de 89 alelos distintos. A presença de *loci* com até 6 alelos é particularmente notável em linhagens com alto nível de homozigosidade, resultante de ciclos avançados de autofecundação. Essa diversidade alélica sugere que ainda há uma base genética substancial para a seleção de linhagens com alta capacidade de expansão. Assim, encontrar *loci* com maior número de alelos pode oferecer uma gama mais ampla de respostas genéticas, aumentando o potencial das linhagens.

Tabela 8 - Análise da diversidade genética funcional de 47 linhagens de milho-pipoca através do uso de 28 *primers* microssatélites gênicos voltados para a característica de Capacidade de Expansão, pelo uso do programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016). Foram estimados os parâmetros de diversidade Número de alelos (Na), o Índice de Conteúdo Polimórfico (PIC), a Heterozigosidade esperada (He), a Heterozigose observada (Ho) e o Coeficiente de Endogamia (F).

<i>locus</i>	Na	PIC	He	Ho	F
UENF7	3	0,380	0,434	0,000	1,000
UENF9	4	0,567	0,627	0,106	0,834
UENF 74	4	0,473	0,555	0,085	0,850
BNLG1331	4	0,506	0,549	0,043	0,923
pbf1	5	0,726	0,764	0,064	0,918
fdx3	4	0,479	0,543	0,000	1,000
bip2	4	0,507	0,556	0,149	0,737
umc1031	6	0,754	0,786	0,022	0,973
umc1152	3	0,385	0,475	0,026	0,946
umc1252	3	0,327	0,365	0,319	0,136
umc1082	3	0,475	0,564	0,022	0,962
umc1542	3	0,510	0,574	0,045	0,923
umc1448	4	0,587	0,636	0,043	0,934
umc1389	4	0,526	0,594	0,070	0,885
umc1221	2	0,360	0,471	0,022	0,955
umc1155	2	0,365	0,481	0,022	0,956
umc1157	2	0,374	0,498	0,000	1,000
umc1176	2	0,367	0,485	0,000	1,000
umc1415	2	0,269	0,320	0,000	1,000
umc2343	6	0,746	0,780	0,098	0,878
umc1130	2	0,265	0,315	0,000	1,000
umc1135	2	0,152	0,165	0,000	1,000
umc1587	2	0,366	0,482	0,000	1,000
umc2401	2	0,332	0,420	0,022	0,948
umc2246	2	0,267	0,317	0,070	0,785
umc1867	3	0,568	0,640	0,000	1,000
umc1506	4	0,444	0,484	0,054	0,891
umc1948	2	0,134	0,144	0,031	0,789
Média	3,179	0,436	0,501	0,047	0,901

O PIC variou de 0,134 (umc1948) a 0,754 (umc1031), com uma média de 0,436. *Loci* como estes, com altos valores de PIC, são altamente informativos e podem ser priorizados em programas de melhoramento. Esses marcadores permitem uma discriminação eficiente entre linhagens, facilitando a identificação de

genótipos com perfis genéticos favoráveis à expansão do grão. Por outro lado, *loci* com valores de PIC mais baixos, como 0,134 (umc1948) e 0,250 (umc2154), têm menor poder discriminatório, o que pode limitar sua utilidade na seleção. No entanto, mais uma vez, a análise que combina as informações geradas pelo estudo desses *loci* ainda pode contribuir para a compreensão da estrutura genética das linhagens e para a identificação de regiões genômicas associadas à capacidade de expansão.

A Heterozigosidade esperada variou de 0,144 (umc1948) a 0,786 (umc1031), refletindo uma diversidade genética considerável entre os *loci*. Valores elevados de H_e inferem sobre o potencial genético significativo das linhagens para a característica de Capacidade de Expansão. No entanto, a Heterozigosidade observada foi baixa, com média de 0,047, indicando uma fixação homozigótica resultante dos ciclos de autofecundação a que as linhagens foram submetidas. Uma exceção se mostrou notável, a H_o do *loci* umc1252 foi de 0,319, o que representa um valor relativamente alto. Esse *loci* também obteve baixo Coeficiente de Endogamia, sugerindo uma maior presença de heterozigotos. O F apresentou uma média de 0,901, refletindo o alto nível de homozigosidade das linhagens devido a condução da reprodução da população. Valores de F iguais ou próximos a 1,0 também foram observados na tabela 8, indicando alta fixação de alelos.

Os resultados deste estudo destacam a importância da diversidade genética para a CE em milho-pipoca. A identificação de *loci* altamente polimórficos e informativos oferece oportunidades para a seleção de genótipos superiores. Além disso, a análise de H_e , H_o e F fornece *insights* valiosos sobre a estrutura populacional, o que pode orientar estratégias de cruzamento das linhagens.

5.11. Agrupamento hierárquico para a característica de capacidade de expansão

Conforme é possível observar na figura 8, o grupo I, composto exclusivamente pela linhagem L653, representa uma formação mais isolada, o que sugere que a linhagem possui uma origem distinta das demais. A linhagem L653 vem da população ARZM 13 050, proveniente do CIMMYT da Argentina, o que sugere uma seleção focada em características adaptativas ao ambiente sul-

americano. Essa linhagem pode ser vista como uma base genética mais única e com características específicas para certos contextos de cultivo, que pode ser explorada em programas de melhoramento.

O grupo II é composto unicamente pela linhagem L274, que tem origem em uma população de polinização aberta do Paraguai, alocada no *CIMMYT*. A linhagem L274 possui um perfil genético específico e sua posição isolada pode ser também um reflexo de sua base genética mais homogênea e diferenciada das demais linhagens.

O Grupo III reúne linhagens com diversas origens, mas que compartilham algumas semelhanças genéticas significativas. As linhagens L656, L77, L80 e L691 possuem origem em populações sul-americanas e brasileiras, com destaque para o uso de germoplasma de variedades como a Viçosa-Viçosa e a cultivar UENF 14. A linhagem L443 é originária da população BOYA 462, enquanto L501 e L503 vêm de populações do Paraguai (PA 170 Roxo). Além disso, L689, com origem na UENF 14, também compartilha semelhanças com essas linhagens. A linhagem L76, oriunda da variedade Viçosa-Viçosa, completa o grupo. A proximidade entre essas linhagens pode ser atribuída ao uso comum de germoplasmas adaptados à realidade de programas de melhoramento sul-americanos, com foco em populações de polinização aberta e adaptações específicas. Esse grupo, portanto, é um bom exemplo de como linhagens com origens geográficas e históricas diversas podem se agrupar devido a objetivos de melhoramento semelhantes e à convergência de características fenotípicas desejáveis.

O Grupo IV é o maior grupo entre os analisados e apresenta uma grande diversidade genética, com linhagens oriundas de várias fontes e programas de melhoramento. As linhagens desse grupo possuem origens em populações brasileiras como a Barão de Viçosa (L328, L332, L357, L385, L390, L391), além de outras de origens sul-americanas, como as linhagens provenientes do *CIMMYT*. O grupo também inclui linhagens de populações específicas como a cultivar RS 20 (L592, L594), a UENF 14 (L690, L683) e o germoplasma da Embrapa, como a variedade Angela (L61, L63, L69). A grande diversidade dentro deste grupo, embora com diferenças em suas origens geográficas, mostra como as linhagens podem compartilhar características genéticas comuns ao longo de processos de seleção para produtividade e adaptação a condições locais. Essa diversidade genética pode ser crucial para programas de melhoramento, já que a combinação

de linhagens com diferentes origens pode gerar híbridos com maior resistência e melhor *performance*.

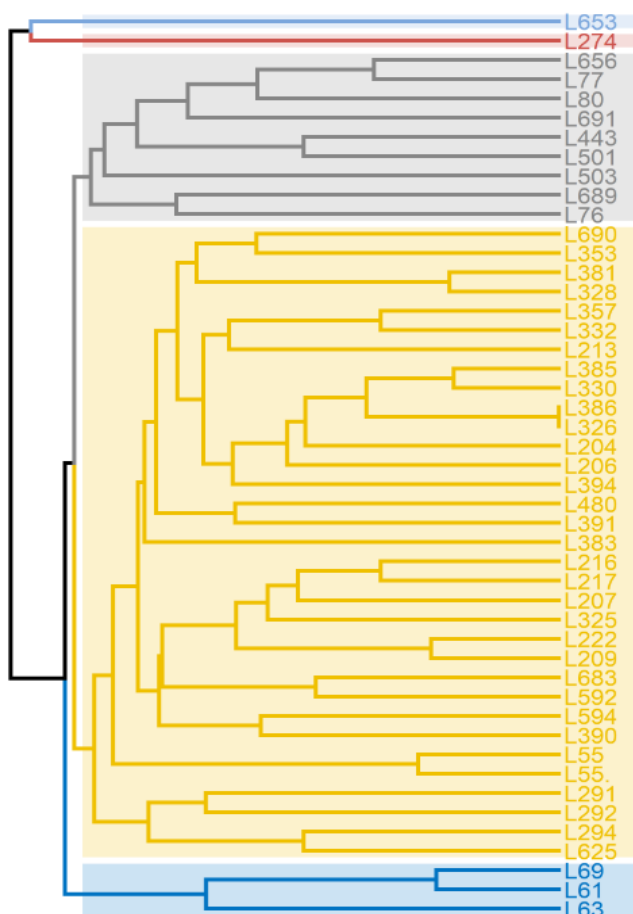


Figura 8 - Dendrograma gerado a partir da metodologia UPGMA com base na análise de 47 genótipos de milho-pipoca e 28 *loci* relacionados à característica de Capacidade de Expansão. A distância genética foi obtida pelo Índice Não Ponderado e a análise foi realizada pelo programa Genes versão 2018.23 (Cruz, 2016) (CCC=0,88).

O Grupo V é formado por linhagens com origem na variedade Angela, desenvolvida pela Embrapa. Essas linhagens, L69, L61 e L63, são bastante homogêneas geneticamente, refletindo a eficácia da seleção intrapopulacional e a manutenção de características desejáveis dentro dessa variedade. A proximidade genética entre elas é um indicativo de que o processo de melhoramento tem sido bem-sucedido em manter uma estabilidade genética dentro do grupo, com linhagens adaptadas a condições de cultivo específicas. Essas linhagens provavelmente compartilham uma base genética comum, o que torna o grupo

altamente coeso e, portanto, adequado para ser explorado em cruzamentos para manter ou melhorar as características que definem a variedade Angela.

5.12. Avaliação do desempenho dos *primers* utilizados com base em Análise de Correlação Canônica com dados fenotípicos em diferentes ambientes

A Análise de Correlação Canônica é uma técnica proposta por Hotelling (1935) e é importante, pois permite identificar e quantificar a associação linear entre dois grupos de variáveis distintas, de modo que a correlação seja maximizada (Witten et al., 2009; Betarelli Junior, 2016). Assim, pode ser aplicada para a compreensão linear entre grupos de caracteres distintos, como os fenotípicos e moleculares, desde que as variáveis sejam uma parcela representativa da população para que não haja superestimação ou subestimação dos resultados (Alves et al., 2016). Essa é uma técnica indicada para estudos que analisam caracteres com potencial preditivo, como neste estudo voltado para a indicação de linhagens para cruzamentos (Hair et al., 2009). O estudo de correlação é uma das ferramentas indicadas para se avaliar a magnitude das influências de diferentes fatores na determinação de caracteres complexos (Cruz et al., 2012). Algumas análises já eram empregadas para esta finalidade, como a análise de trilha, que, apesar de ser de grande valia, possui a limitação de considerar apenas uma variável (Ferreira, 2011). A CCA considera múltiplas variáveis de efeitos diretos e indiretos, e estima a máxima correlação entre todos os componentes (Nascimento Júnior, 2015). A correlação é uma característica intrínseca de variáveis em determinada condição experimental e sua decomposição depende do conjunto de caracteres estudados (Cruz et al., 2012).

Um aspecto importante a ser considerado na CCA é que se as variáveis avaliadas possuírem diferentes unidades ou escalas, as correlações devem ser cautelosas e os valores devem ser previamente padronizados para que a análise seja equilibrada. Neste trabalho, isto foi levado em consideração, visto que, para mais exatidão a respeito dos dados fenotípicos foram considerados dois ambientes com dados de média corrigidos, utilizando metodologia indicada para o delineamento experimental. Deste modo, os dados fenotípicos obtidos como médias de repetições experimentais corrigidas sugerem alta confiabilidade das informações.

Nesta análise, contextualiza-se que variáveis canônicas são os pares de combinações lineares e correlações canônicas são as correlações entre esses pares de combinações lineares (Betarelli Junior, 2016). Sendo assim, um aspecto interessante da análise é que o número de variáveis canônicas tende a ser menor em número do que as variáveis originais, quando são avaliados muitos dados, visto que estatisticamente é buscada uma covariância amostral, se possível. Entretanto, nos casos em que as covariâncias se mostram nulas, o número de combinações lineares mostra uma proporção igual a dos dados utilizados (Betarelli Junior, 2016; Troyjack et al., 2019).

O conhecimento da relação entre caracteres é de grande importância nos trabalhos de melhoramento. Usualmente, o procedimento mais aplicado para medir o grau e a direção da correlação entre variáveis em uma escala métrica é assumindo valores entre -1 e +1 (Ferreira, 2018). A correlação positiva é mais forte quando apresenta valores mais próximos de +1, sendo considerado que são caracteres diretamente proporcionais. A correlação negativa é o oposto, quando os valores se encontram mais próximos de -1, inferindo que os caracteres são inversamente proporcionais. No entanto, quando a linearidade entre variáveis se mostra próximo de 0, a correlação pode ser considerada não significativa (Nascimento Júnior, 2015; Nascimento Júnior et al., 2018)).

Na figura 9, é possível perceber a escala de -1 a +1, indo das cores roxo a vermelho. A tonalidade da cor representa as correlações canônicas individuais. É possível inferir, portanto, que quanto mais significativa a correlação, seja positiva ou negativa, maior é a relação do *primer* gênico empregado com a característica fenotípica, permitindo que o marcador tenha seu potencial avaliado para a seleção de determinado atributo agrônomo. É possível explorar também se há diferenças significativas entre as correlações em cada ambiente distinto. É esperado que doenças fúngicas como *Fusarium* spp., *Exserohilum turcicum* e *Bipolaris maydis* sejam mais severas em condições de maior umidade e calor. Logo, o esperado é que no experimento conduzido no verão houvesse maior correlação dos *primers* associados com características de resistência ou suscetibilidade, por exemplo. Da mesma forma, era esperado que condições adversas em fases determinantes, como a germinação, desenvolvimento e reprodução das linhagens, fossem influenciar na produtividade e capacidade de expansão, refletindo também no grau de associação dos marcadores.

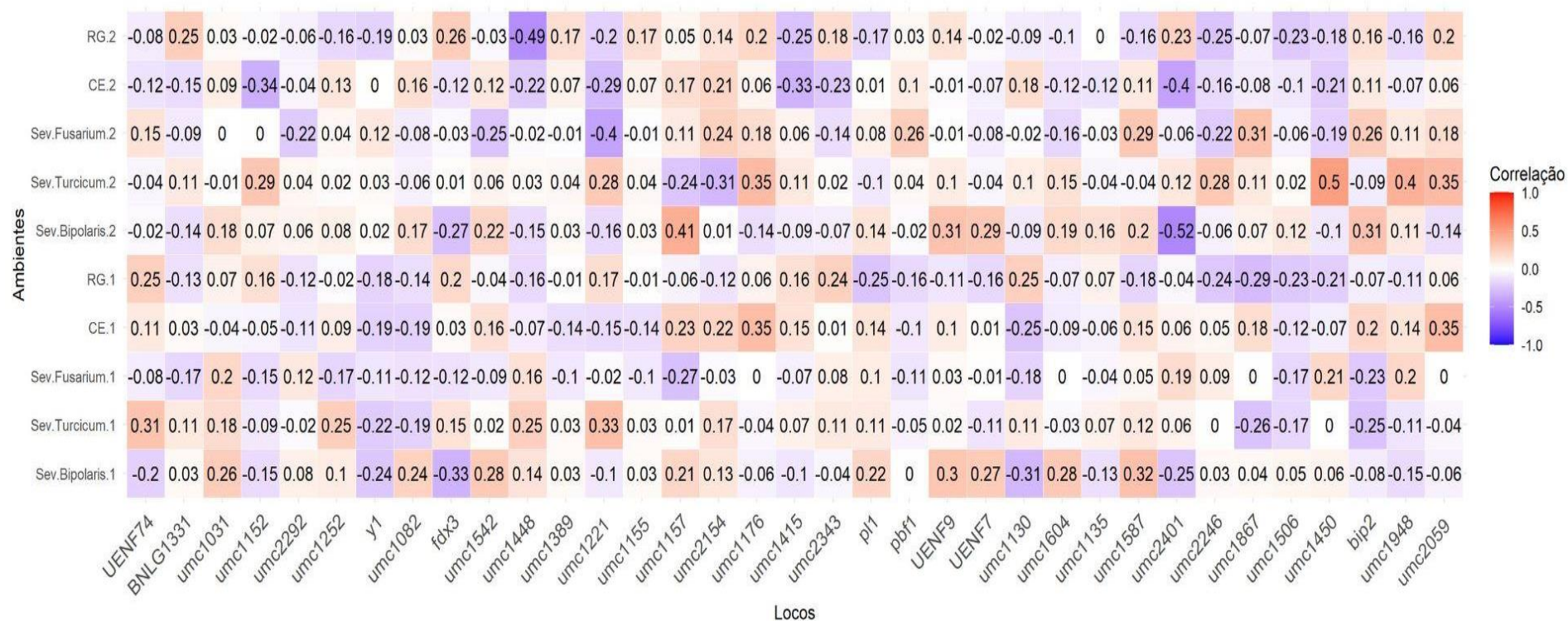


Figura 9 - Análise de Correlação Canônica (CCA) entre 47 Linhagens de milho-pipoca e 35 primers SSR-EST para as características de Capacidade de Expansão (CE), Produtividade (RG), resistência ao *Fusarium* spp. (Sev.Fusarium), resistência ao *Exserohilum turcicum* (Sev.Turcicum) e resistência ao *Bipolaris maydis* (Sev.Bipolaris) em dois experimentos distintos, configurando o Ambiente 1 (inverno) e Ambiente 2 (verão).

Para o Ambiente 1, onde a estação climática era o inverno, pode-se perceber que para resistência ao *B. maidys* a correlação mais positiva foi de 0,32 (umc1587) e a mais negativa foi de -0,33 (fdx3), para o Ambiente 2, no qual o experimento foi instalado no verão, a correlação mais positiva foi de 0,41 (umc1157) e a mais negativa foi de -0,52 (umc2401). Como a característica avaliada é resistência, a correlação positiva indica um marcador associado com maior resistência, enquanto a correlação negativa indica um marcador relacionado com maior suscetibilidade. Como esperado, no ambiente 2, houve uma maior correlação negativa e positiva, o que pode indicar que a temperatura e a umidade aumentaram a severidade para algumas linhagens enquanto outras, expostas a maior incidência do patógeno, apresentaram maior resistência.

Da mesma forma, para a característica de resistência ao *E. turcicum*, para o ambiente 1 houve a maior correlação positiva de 0,33 (umc1221) e mais negativa de -0,26 (umc1867), enquanto no ambiente 2, a maior correlação positiva foi de 0,50 (umc1450) e a mais negativa foi de -0,31 (umc2154). Neste caso, também houve um aumento nos valores das correlações do ambiente 2 para o ambiente 1, o que pode ser atribuído também pela maior incidência da doença devido à época do ano, visto que o desenvolvimento das Helmintosporioses é favorecido por temperaturas entre 22°C e 30°C e elevada umidade relativa do ar (Casela et al., 2006; Martinez et al., 2010).

Para a característica de resistência ao *Fusarium* spp., foi identificada maior correlação canônica positiva no ambiente 1 de 0,21 (umc1450) e maior correlação negativa de -0,27 (umc1157). Para o ambiente 2, a maior correlação positiva foi de 0,31 (umc1867) e a maior correlação negativa foi de -0,25. Neste caso em específico, houve um aumento da associação detectada para resistência no ambiente 2, porém, houve uma ligeira diminuição na correlação da suscetibilidade, o que pode indicar que as linhagens apresentaram maior percentual de resistência ao patógeno no ambiente 2, quando houve maior incidência. Temperaturas entre 17°C e 27°C, associadas à elevada umidade do substrato, favorece a germinação e reprodução de esporos de *Fusarium* spp. (Rossi et al., 2009).

Para a característica de CE, a maior correlação positiva foi de 0,35 (umc1176 e umc2059) para o ambiente 1, e maior correlação negativa foi de -0,25 (umc1130). Para o ambiente 2, a correlação positiva diminuiu para 0,21 (umc2154) e a negativa aumentou para -0,40, indicando que as linhagens sofreram mais com

as condições de verão, o que pode ser reflexo também da maior incidência das doenças fúngicas. Por fim, para a característica de produtividade, a maior correlação positiva e negativa no ambiente 1 foram, respectivamente, 0,25 (UENF74 e umc1130) e -0,29 (umc2246). Enquanto para o ambiente 2 foram, também respectivamente, 0,26 (fdx3) e -0,49 (umc1448). Foi visto que a correlação positiva teve um aumento pouco significativo, enquanto a correlação negativa teve um aumento maior, comparando o ambiente 2 com o 1. No verão intenso, pode haver maiores chances de redução da produtividade e CE, visto que quando linhagens que se caracterizam por serem mais sensíveis, na fase de reprodução, submetidas às condições adversas como excesso de calor e escassez hídrica, são mais propensas a aborto de embriões, má enchimento de grãos nas espigas e outros fenômenos que afetem esses caracteres.

Assim, embora uma correlação canônica possa indicar que um *primer* tem ou não uma relação com uma característica fenotípica, é importante considerar que características quantitativas, por sua natureza, apresentam uma variação mais ampla e multifatorial. Isso pode resultar em menores correlações entre os marcadores genéticos e os fenótipos. Assim, correlações mais fracas podem ser devido à dificuldade de estabelecer uma associação direta e simples entre as variáveis. De todo modo, é importante que as correlações sejam avaliadas como um todo, visto que as linhagens se tratam de indivíduos biológicos que possuem metabolismo integrado. Entretanto, esse tipo de avaliação no presente estudo permitiu uma visão da relação entre os grupos de dados e trouxe *insights* importantes sobre o estudo realizado, validando a seleção genética

6. CONCLUSÕES

Este trabalho permitiu avaliar a diversidade genética funcional das 47 linhagens de milho-pipoca através dos marcadores *SSR-EST* selecionados. As linhagens foram agrupadas em dendrogramas de acordo com características alvo, e também foram agrupadas considerando todas as características de forma única, permitindo assim a visualização de diferentes grupos contrastantes para seleção de linhagens de acordo com objetivos distintos. Além disso, o estudo permitiu a avaliação da fixação alélica de cada linhagem e de cada *locus* avaliado, ou seja, a caracterização molecular do grupo amostral, indicando sua estabilidade e potencial genético. Por fim, foi possível avaliar a *performance* dos marcadores selecionados para avaliação das características alvo, determinando que foram eficientes na detecção de polimorfismo genético correlacionado positivamente e negativamente com as características fenotípicas de interesse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, J. I. M. (2003). Diversidade Genética por Marcadores Moleculares e Predição de Ganhos em *Eucalyptus* spp. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento De Plantas) - Viçosa - MG, Universidade Federal de Viçosa - UFV.
- Alexandrov, N. N., et al. (2009). Insights Into Corn Genes Derived From Large-Scale cDNA Sequencing. *Plant Molecular Biology*. Pmid 18937034.
- Almeida, R. N. (2022). Pré-Seleção de Linhagens de Milho-Pipoca para Resistência à Podridão de Espigas ocasionada por *Fusarium* sp. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Alves, B. M., Cargnelutti, F. A., Burin, C., Toebe, M. (2016). Correlações Canônicas entre Caracteres Agronômicos e Nutricionais Proteicos e Energéticos em Genótipos de Milho. *Revista Brasileira De Milho E Sorgo*, 15(2): 171-185. Doi: 10.18512/1980-6477/Rbms.V15n2p171-185.
- Amaral Júnior, A. T. do., Oliveira, E. C. de., Gonçalves, L. S. A., Candido, L. S., Silva, T. R. C., Vittorazzi, C., Scapim, C. S. (2011). Assessment Of Genetic Diversity Among Maize Accessions Using Issr Markers. *African Journal Of Biotechnology*, 10: 15462-15469.

- Ascheria, J. L. R. (2021). Milho Dentado. Embrapa Tecnologia De Alimentos. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/pos-producao/agroindustria-do-milho/processamento/materia-prima/milho-dentado>. Acesso em: 04/11/2023.
- Azevedo, C. D. de O. (2019). Microssatélites como Ferramentas Moleculares para Assegurar a Propriedade Intelectual e Direitos Patrimoniais Advindos de Programas de Melhoramento de *Capsicum annuum* L. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF/CCTA, Campos dos Goytacazes/RJ.
- Backeljau, T., de Bruyn, L., de Wolf, H., et al. (1996). Multiple Upgma And Neighbor-Joining Trees And The Performance Of Some Computer Packages. *Molecular Biology And Evolution*, 13(2): 309-313.
- Bennett, M.D., Laurie, D. A. (1995). Chromosome Size In Maize And Sorghum Using Em Serial Section Reconstructed Nuclei. *Maydica*, 40: 199-204.
- Bertolucci, M. F. (2022). Análise da Concentração e Expansão da Produção e do Beneficiamento do Milho-Pipoca (*Zea mays* L. var. everta (Sturtev.) L. H. Bailey) no Brasil. Universidade Federal de Goiás. Goiânia.
- Berube, B., et al. (2024). Teosinte Pollen Drive Guides Maize Diversification And Domestication By RNAi. *Nature*. Doi: 10.1038/S41586-024-07788-0.
- Best, N. B., et al. (2016). Nana Plant2 Encodes A Maize Ortholog Of The *Arabidopsis* Brassinosteroid Biosynthesis Gene Dwarf1, Identifying Developmental Interactions Between Brassinosteroids And Gibberellins. *Plant Physiology*. Pmid 27288361.
- Blacutt, A. A., Gold, S.E., Voss, K.A., Gao, M., Glenn, A. E. (2018). *Fusarium verticillioides*: Advancements In Understanding The Toxicity, Virulence, And Niche Adaptations Of A Model Mycotoxigenic Pathogen Of Maize. *Phytopathology*, 108(3): 312-326. <https://doi.org/10.1094/Phyto-06-17-0203-Rww>.

- Borém, A., Miranda, G.V. (2005). *Melhoramento De Plantas*. Viçosa: UFV. 525p.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., Davis, R. W. (1980). Construction Of A Genetic Linkage Map In Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *American Journal Of Human Genetics*, 32(3): 331.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2011). Instrução Normativa Nº 61. Disponível em: [in-61-de-8-7-2020-organicos-e-biofertilizantes-dou-15-7-20.pdf](#). Acesso em: 28 de janeiro de 2025.
- Brito, O. G. (2018). Estudo Genético e Seleção de Progenies de Meios-Irmãos de Couve de Folhas. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Diamantina - MG, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM.
- Bulanov, A. N., et al. (2024). Regulation Of Flavonoid Biosynthesis By The Myb-Bhlh-Wdr (Mbw) Complex In Plants And Its Specific Features In Cereals. *Preprints.Org*. Doi: 10.20944/Preprints202412.0790.
- Burge, S., et al. (2012). Manual Go Annotation Of Predictive Protein Signatures: The Interpro Approach To Go Curation. *Database (Oxford)*. Pmid 22301074.
- Cabral, P. D., Amaral Júnior, A. T., Freitas, I. L. J., Ribeiro, R. M., Silva, T. R. C. (2016). Relação de Causa e Efeito de Caracteres Quantitativos sobre a Capacidade De Expansão do Grão em Milho-Pipoca. *Revista Ciência Agronômica*, 47: 108.
- Cao, L. R., et al. (2021). Maize Zmbzip33 Is Involved In Drought Resistance And Recovery Ability Through An Absciscic Acid-Dependent Signaling Pathway. *Frontiers In Plant Science*, 12: 629903.
- Cao, X., et al. (2024). Mining Candidate Genes For Maize Tassel Spindle Length Based On A Genome-Wide Association Analysis. *Genes*, 15(7): 1413.

- Carbas, B., Simões, D., Soares, A., Freitas, A., Ferreira, B., Carvalho, A.R., Silva, A.S., Pinto, T., Diogo, E., Andrade, E., Brites, C. (2021). Occurrence Of *Fusarium* spp. In Maize Grain Harvested In Portugal And Accumulation Of Related Mycotoxins During Storage. *Foods* 10(2): 375. <https://doi.org/10.3390/Foods10020375>.
- Carvalho, C., Kist, B. B., Santos, C. E., Muller, I., Beling, R. R. (2015). *Anuário Brasileiro De Milho*. Santa Cruz Do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz Ltda., 112p.
- Carvalho, M. F., Albuquerque Junior, C. L., Guidolin, A. F., & Farias, F. L. (2009). Aplicação da Análise Multivariada em Avaliações de Divergência Genética Através de Marcadores Moleculares Dominantes em Plantas Medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 11(3): 339-346. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000300017>.
- Casela, C.R., Ferreira, A.S. Da, Pinto, N.F. (2006). *Doenças na Cultura do Milho*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Agropecuária. Circular Técnica, 1 Ed. 14p.
- CIMMYT - Centro Internacional De Mejoramiento De Maiz Y Trigo (2012). *Cimmyt Bank Passport Information*. 4157. <https://doi.org/10.18730/Gcftpq>.
- Chancellor, I. A. (2021). *Popcorn*. Disponível Em: <https://agribusiness.chancellor.com.br/popcorn/>. Acesso Em: 21/01/2025.
- Chen, C. H., et al. (1987). Organ-Specific Expression Of Maize Adh1 Is Altered After A Mu Transposon Insertion. *Genetics*, 116(3): 469-477.
- Chen, W. W., et al. (2024). Genome-Wide Association Study Of Kernel Colour Traits And Mining Of Elite Alleles From The Major Loci In Maize. *BMC Plant Biology*, 24: 25.
- CNA - Confederação Da Agricultura E Pecuária Do Brasil. (2023). *Milho É Um Dos Cereais Mais Nutritivos E Versáteis Do Mundo*. Brasília/DF.

- Coan, M. M. D. (2019). Inheritance Study For Popping Expansion In Popcorn Vs. Flint Corn Genotypes. *Agronomic Application Of Genetic Resources*. <https://doi.org/10.2134/Agronj2019.04.0295>.
- Colombare Filho, J. M., Geraldi, I. O., Acevedo Barona, M. A. (2010). Heterose e Distâncias Genéticas Moleculares para a Produção de Grãos em Soja. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 34(4): 940-945.
- Costa, R. V. (2009). Controle Químico de Doenças na Cultura do Milho: Aspectos a Serem Considerados na Tomada de Decisão Sobre Aplicação. *Embrapa - Circular Técnica*, Número 125, 1ª Edição. Sete Lagoas - MG.
- Costa, R. V. e Cota, L. V. (2021). Podridões do Colmo e das Raízes. Portal Embrapa. Disponível Em: <https://www.Embrapa.Br/Agencia-De-Informacao-Tecnologica/Cultivos/Milho/Producao/Pragas-E-Doencas/Doencas/Podridoes-Do-Colmo-E-Das-Raizes>. Acesso Em: 28 de janeiro de 2024.
- Couto, M. F., Oliveira, É. C. de., Amaral Júnior, A. T. do., Freitas Júnior, S. de P., Candido, L. S., Freitas, I. L. de J. (2010). Avaliação da Dissimilaridade Genética entre Genótipos de Milho-Pipoca por Meio De Marcador *ISSR*. In: Congresso Nacional De Milho E Sorgo, 28., 2010, Goiânia: Associação Brasileira De Milho E Sorgo.
- Cruz, C. D., Regazzi, A. J., Carneiro, P. C. S. (2012). Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético. 4 Ed., Editora UFV, Viçosa, V. 1, 480p.
- Cruz, C. D. (2016). Genes Software - extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 38(4), 547–552. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v38i4.32629>
- Cruz^a, J. C., et al. (2011). Milho - O Produtor Pergunta e a Embrapa Responde. Coleção 500 Perguntas - 500 Respostas. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária - Embrapa Milho E Sorgo, 240p-267p. Brasília, DF.

- Cruz^b, C. D., Ferreira, F.M., Pessoni, L.A. (2011). Biometria Aplicada ao Estudo da Diversidade Genética. Visconde Do Rio Branco, MG. Suprema, 620p.
- Damasceno Junior, C. V., Godoy, S., Gonela, A., Scapim, C. A., Grandis, A., dos Santos, W. D., Mangolin, C. A., Buckeridge, M. S., Machado, M. F. P. S. (2021). Biochemical Composition Of The Pericarp Cell Wall Of Popcorn Inbred Lines With Different Popping Expansion. Curr Res Food Sci, 5: 102-106. Doi: 10.1016/J.Crfs.2021.12.011.
- Dermail, A., et al. (2024). Haploid Identification In Maize. Frontiers In Plant Science, 15: 1378421. Doi: 10.3389/Fpls.2024.1378421.
- Di Domenico, A.S., Christ, D., Hashimoto, E.H., Busso, C., Coelho, S.R.M. (2015). Evaluation Of Quality Attributes And The Incidence Of *Fusarium* sp. And *Aspergillus* sp. In Different Types Of Maize Storage. Journal Of Stored Products Research, 61: 59-64.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. (1987). A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. Phytochemical Bulletin, 19, 11-15.
- Duarte, J. O. (2021). Milho - Mercado. Embrapa Milho E Sorgo. Disponível em: <https://Www.Embrapa.Br/Agencia-De-Informacao-Tecnologica/Cultivos/Milho/Pre-Producao/Socioeconomia/Mercado>. Acesso Em: 04/11/2023.
- Dudley, J.W. (1994). Comparison Of Genetic Distance Estimators Using Molecular Marker Data. In: Symposium Analysis Of Molecular Marker Data, 1994, Oregon. American Society For Horticultural Science/Crop Science Society American, P.3-7.
- Eisele, T. G., Lazzari, D., Silva, T. A. Da., Pinto, R. J. B., Matsuzaki, R. A., Maioli, M. F. De S. D., Alves, A. V., Amaral Júnior, A. T. (2021). Combining Ability And Genetic Divergence Among Tropical Maize Inbred Lines Using SSR Markers. Acta Scientiarum. Agronomy. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.53317>.

- Ertiro, B. T., Twumasi-Afriyie, S., Blummel, M., Friesen, D., Negera, D., Worku, M., Abakemal, D., Kitenge, K. (2013). Genetic Variability Of *Maize* Stover Quality And The Potential For Genetic Improvement Of Fodder Value. *Field Crops Research*, 153: 79-85.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. (2005). Detecting The Number Of Clusters Of Individuals Using The Software Structure: A Simulation Study. *Molecular Ecology*, 14: 2611-2620.
- Falconer, D.S. (1987). *Introdução À Genética Quantitativa*. 1.Ed. Viçosa, MG: Universidade Federal De Viçosa, 279p.
- Fan, K. J., et al. (2024). Genomic Analysis Of Modern Maize Inbred Lines Reveals Diversity And Selective Breeding Effects. *Science China Life Sciences*. Doi: 10.1007/S11427-024-2725-1.
- FAO - Food And Agriculture Organization Of The United Nations (2022). Tridge – Trading Plataforma Websites. Disponível Em: <https://www.tridge.com/pt/intelligences/popcorn-snack/export>. Acesso Em: 21/01/2024.
- FAO - Food And Agriculture Organization Of The United Nations (2025). CIMMYT Ma-Bank-010615 - Urug 298. Doi: <https://doi.org/10.18730/Gjqss>.
- Faria Junior, C. A., Freitas, P. S. L., Dallacort, R., Miotto, L. S., Barbieri, J. D. (2020). Agricultural Zoning Of Popcorn Corn For The State Of Mato Grosso, Brazil. *Applied Research & Agrotechnology*, 13: E6449.
- Faria, C. U., Magnabosco, C. U., Albuquerque, L.G., Reyes, A., Bezerra, L. A. F., Lobo, R. B. (2008). Abordagem *Bayesiana* e Frequentista em Análise Genética Tricaráter para Crescimento e Reprodução de Bovinos Nelore. *Ciência Animal Brasileira*, 9(3): 598-607.
- Ferreira, D. F. (2011). *Estatística Multivariada*. 2. Ed. Ver. E Ampl. Lavras: Ed. Ufla, 661p.

- Ferreira, D. F. (2018). Estatística Multivariada. 3. Ed. Revisada E Ampliada. Lavras, MG: Editora Ufla, 624p.
- Freire, L. A. S. (2019). Avaliação tecnológica de milho de pipoca comercial. TCC – Curso de Tecnologia em Alimentos, Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos.
- Gai, X., Dong, H., Wang, S., Liu, B., Zhang, Z., Li, X., Gao, Z. (2018). Infection cycle of maize stalk rot and ear rot caused by *Fusarium verticillioides*. PLoS One, 13(7), e0201588.
- Galvão, K. S. C., Ramos, H. C. C., Santos, P. H. A. D., Entringer, G. C., Vettorazzi, J. C. F., Pereira, M. G. (2015). Marcadores moleculares funcionais (*EST-SSR*) no programa de seleção recorrente recíproca de irmãos completos de milho (*Zea mays* L.). Genet. Mol. Res., 14(3), 7344-7355. <https://doi.org/10.4238/2015.July.3.10>.
- Galvão, K. S. da C. (2014). Seleção recorrente recíproca em milho (*Zea mays* L.): Avaliações fenotípicas e moleculares. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Gama, E. E. G. (1990). Milho-Pipoca. Inf. Agropec., Belo Horizonte - MG. 14(165), 8-12.
- Gardiner, J., et al. (2004). Anchoring maize expressed sequence tagged unigenes to the bacterial artificial chromosome contig map by two-dimensional overgo hybridization. Plant Physiol. PMID 15020742.
- Glaszmann, J. C., et al. (1997). Comparative genome analysis between several tropical grasses. Euphytica, 96, 13-21.
- Gomes, Carla. (2006). IAC leva para a Agrishow milho-pipoca com maior capacidade de expansão do Brasil. Instituto Agronômico de Campinas (IAC),

18 maio 2006. Disponível em:
<https://www.iac.sp.gov.br/noticiasdetalhes.php?tag=419>. Acesso em: 1 fev. 2025.

Griffin, A. R. (1990). Effects of inbreeding on growth of forest trees and implications for management of seed supplies for plantation programmes. In: BAWA, K. S. & HADLEY, M. (Eds.). Reproductive ecology of tropical forest plants. Paris: UNESCO, p. 355-374.

Griffiths, M., Roy, S., Guo, H. C., Seethepalli, A., Huhman, D., Ge, Y. X., Sharp, R. E., Fritschi, F. B., York, L. M. (2020). A multiple ion-uptake phenotyping platform reveals shared mechanisms affecting nutrient uptake by roots. Plant Physiol. doi: 10.1093/plphys/kiaa080.

Guadagnin, J. P. (2002). Milho-Pipoca. FEPAGRO - Circular Técnica/Número 09, 2ª Edição. Porto Alegre - RS, Julho de 2002.

Guimarães, A. G., Amaral Júnior, A. T. do, Almeida Filho, J. E. de, Pena, G. F., Vittorazzi, C., & Pereira, M. G. (2018). Population structure and impact of recurrent selection on popcorn using EST-SSR markers. Acta Scientiarum. Agronomy, 40(1), e35218. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v40i1.35218>

Guimarães, L. J. M. (2006). Caracterização de genótipos de milho desenvolvidos sob estresse de nitrogênio e herança da eficiência de uso deste nutriente. Viçosa - MG: Universidade Federal de Viçosa, out. 2006.

Guimar, P. M. C. N. (2011). Estudo dos Fatores que Afetam o Número e Viabilidade de Gomos de Raiz na Multiplicação de *Rubus idaeus* L. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônômica) – Lisboa - Instituto Superior de Agronomia - ISA, Universidade Técnica de Lisboa - UTL.

Gwartz, J. A., Garcia-Casal, M. N. (2014). Processing maize flour and corn meal food products. Ann N Y Acad Sci., 1312(1), 66-75. doi: 10.1111/nyas.12299. Epub 2013 Dec 11. PMID: 24329576., PMCID: PMC4260129.

- Hair, J. F., Anderson, R. E., Tatham, R. L., Black, W. C., Babin, B. J. (2009). Análise multivariada de dados. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 688 p.
- Hamilton, N. E. e Ferry, M. (2018). Ggtern: diagramas ternários usando ggplot2. *Journal of Statistical Software*, 87(3), 1-17.
- Hamrick, J. L., Schone-Wald-Cox, C. M., Chambers, S. H., Macbyde, B., Thomas, L. (1983). The distribution of genetic variation within and among natural plant populations. *Genetics and conservation*. Menlo Park: Califórnia: Benjamin Cummings Publishing Company, p. 335-348.
- Han, X. D., et al. (2024). QTL mapping and candidate gene screening for nitrogen use efficiency in maize. *Science in China Series C: Life Sciences*, 57, 4175-4191.
- Hao, K., et al. (2023). Transcriptomic and functional analyses reveal the different roles of vitamins C, E, and K in regulating viral infections in maize. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 8012.
- He, J., et al. (2023). Proteomics analysis reveals hormone metabolic process involved in the regulation of kernel water content induced by exogenous abscisic acid in maize. *Agronomy*, 13, 2897.
- Hendre, P. S. e Aggarwal, R. K. (2014). Development of genic and genomic SSR markers of robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre Ex A. Froehner). *PLoS One.*, 9(12), e113661. doi: 10.1371/journal.pone.0113661. PMID: 25461752., PMCID: PMC4252042.
- Huang, J. Y., Ma, S. J., Zhang, K. Y., Liu, X. C., Hu, L. L., Wang, W. M., Zheng, L. W. (2022). Genome-wide identification of gramineae brassinosteroid-related genes and their roles in plant architecture and salt stress adaptation. *Int J Mol Sci*, 23, 5551.
- Huiling, C., et al. (2023). TSPTFBS 2.0: trans-species prediction of transcription factor binding sites and identification of their core motifs in plants. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1175837.

- Hurni, S., Scheuermann, D., Krattinger, S. G., Kessel, B., Wicker, T., Herren, G., Fitze, M. N., Breen, J., Presterl, T., Ouzunova, M., Keller, B. (2015). The maize disease resistance gene Htn1 against northern corn leaf blight encodes a wall associated receptor-like kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(28), 8780-8785.
- Ikkurti, G., Vignesh, M., Ashvinkumar, K., Rajkumar, U. Z., Jayanthi, M., Kondajji, R. Yathish., Javaji, C. S., Firoz, H. (2023). Meta-QTL analysis and identification of candidate genes governing popping quality attributes in maize. *South African Journal of Botany*, 159, 461-471. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.06.032>.
- Ilyas^a, M. (2023). Association mapping for evaluation of population structure, genetic diversity, and physiochemical traits in drought-stressed maize germplasm using SSR markers. *Plants*, 12, 4092.
- Ilyas^b, M. Z., Park, H., Jang, S. J., Cho, J., Sa, K. J., Lee, J. K. (2023). Mapeamento de associação para avaliação da estrutura populacional, diversidade genética e características físico-químicas em germoplasma de milho estressado pela seca usando marcadores SSR. *Plantas (Basileia)*, 12(24), 4092. DOI: 10.3390/plants12244092. PMID: 38140419., PMCID: PMC10747078.
- Indea, Instituto de Defesa Agropecuária de Mato Grosso. (2008). Fábrica de Alimentos de Campo Novo do Parecis se destaca na produção milho-pipoca. 23 de Setembro de 2008 às 08:10. Disponível em: <https://www.indea.mt.gov.br/-/fabrica-de-alimentos-de-campo-novo-do-parecis-se-destaca-na-producao-milho-pipoca>.
- Iviwe, N., et al. (2024). Enhancing maize drought and heat tolerance: single vs combined plant growth promoting rhizobacterial inoculation. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1480718.
- Jiang, L. Y., Hu, W. J., Qian, Y. X., Ren, Q. Y., Zhang, J. (2020). Genome-wide identification, classification and expression analysis of the Hsf and Hsp70 gene families in maize. *Gene*. doi: 10.1016/j.gene.2020.145348.

- Junior, C. A. F., Freitas, P. S. L. de., Dallacort, R., Mito, L. S., Barbieri, J. D. (2020). Zoneamento agrícola da cultura do milho-pipoca para o estado de Mato Grosso. *Applied Research & Agrotechnology*, Guarapuava-PR, 13, e6449. DOI: 10.5935/PAeT.V13.e6449.
- Kamphorst, S. H. (2021). Driving Sustainable Popcorn Breeding for Drought Tolerance in Brazil. *Front Plant Sci.*, 12, 732285. doi: 10.3389/fpls.2021.732285. PMID: 34621285., PMCID: PMC8491626.
- Kantety, R. V., Zeng, X., Bennetzen, J., Zehr, B. E. (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.
- Kara, D. E. O. (2023). Tolerance evaluation and genetic relationship analysis among some economically important chestnut cultivars in Türkiye using drought-associated SSR and EST-SSR markers. *Sci Rep.*, 13(1), 20950. doi: 10.1038/s41598-023-47951-7. PMID: 38016998., PMCID: PMC10684537.
- Kaur, S., Rakshit, S., Choudhary, M., Das, A. K., Kumar, R. R. (2021). Meta-analysis of QTLs associated with popping traits in maize (*Zea mays* L.). *PLoS One.*, 16(8), e0256389. doi: 10.1371/journal.pone.0256389. PMID: 34411180., PMCID: PMC8376040.
- Khan, S., et al. (2022). Revealing the differential protein profiles behind the nitrogen use efficiency in popcorn (*Zea mays* var. everta). *Scientific Reports*. Article number: 1521.
- Kovincic, A., et al. (2023). Efficiency of biological typing methods in maize hybrid genetic purity estimation. *Genes*, 14, 1195.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549.

- Lai, J., et al. (2004). Characterization of the maize endosperm transcriptome and its comparison to the rice genome. *Genome Research*, out. 2004. PMID 15466291.
- Leyva- Madrigal, K. Y., Larralde- Corona, C. P., Apodaca- Sánchez, M. A., Quiroz Figueroa, F. R., Mexia- Bolaños, P. A., Portillo- Valenzuela, S., Ordaz-Ochoa, J., Maldonado- Mendoza, I. E. (2015). *Fusarium* species from the *Fusarium fujikuroi* species complex involved in mixed infections of maize in Northern Sinaloa, Mexico. *Journal of Phytopathology*, 163(6), 486-497.
- Li, J., et al. (2023). Integrated transcriptomic and proteomic analyses of low-nitrogen-stress tolerance and function analysis of ZmGST42 gene in maize. *Antioxidants*, 12, 1831.
- Li, J. F., et al. (2024). Genetic and molecular mechanisms underlying nitrogen use efficiency in maize. *Journal of Genetics and Genomics*. DOI: 10.1016/j.jgg.2024.10.007.
- Li, M., et al. (2024). Comparative transcriptome analysis highlights resistance regulatory networks of maize in response to *Exserohilum turcicum* infection at the early stage. *Physiologia Plantarum*, 176, e14615. DOI: 10.1111/ppl.14615.
- Li, Y. S., Wang, X. R., Li, Y., Zhang, Y. J., Gou, Z. W., Qi, X. S., Zhang, J. L. (2020). Transcriptomic analysis revealed the common and divergent responses of maize seedling leaves to cold and heat stresses. *Genes*, 11, 881.
- Likhayo, P., Bruce, A. Y., Tefera, T., Mueke, J. (2018). Maize grain stored in hermetic bags: Effect of moisture and pest infestation on grain quality. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2018/2515698>.
- Lima, A. (2004). A ocorrência da raça fisiológica 1 de *Exserohilum turcicum* no milho na ilha de Santiago, arquipélago de Cabo Verde. In: *Actas do 4º Congresso da Sociedade Portuguesa de Fitopatologia*, pp. 176-180.

- Lima, V. J., Viana, A. P., Amaral Júnior, A. T., Kamphorst, S. H., Leite, J. T., Santos, P. H. A. D., Bispo, R. B., Santos, T. O. (2020). Exploring the use of testers to maximize selection accuracy of partially inbred S3 popcorn progenies. *Rev. Bras. Cienc. Agrar.*, 15, 1–11.
- Lindsay, P. L., et al. (2024). Cultivating potential: Harnessing plant stem cells for agricultural crop improvement. *Molecular Plant*, 17, 50-74.
- Liu, S., et al. (2024). Superior allele genes mining for drought tolerance in maize based on introgression line from a cross between maize and teosinte. *Acta Agronomica Sinica*. DOI: 10.3724/SP.J.1006.2024.43007.
- Liu, S., et al. (2025). Storage temperature affects metabolism of sweet corn. *Postharvest Biology and Technology*, 219, 113232.
- Luz, M. L. S., Dalpasqual, E. V. A., Scapim, C. A., Braccini, A. L., Royer, M. R., Mora, F. (2005). Influência da umidade das sementes na capacidade de expansão de três genótipos de milho-pipoca (*Zea mays* L.). *Acta Scientiarum-Agronomy*, 27, 549-553.
- Magalhães, P. C. (2006). Fisiologia da Produção de Milho. EMBRAPA - Circular Técnica/Número 76, 1ª Edição. Sete Lagoas - MG, Dezembro de 2006.
- Marchiori, R. (2017). Biometria aplicada à seleção de progênes parcialmente endogâmicas de milho-pipoca. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Dourados - MS, Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD.
- Mascarenhas, K. (2019). Conheça as principais variedades de milho usadas na alimentação humana e animal. Ministério da Educação - Portal UFLA. Universidade Federal de Lavras. 01 Março 2019.
- Meireles, P. G. (2009). Divergência genética entre linhagens de milho estimada por microsatélites e correlação com desempenho de híbridos simples. Tese (Doutorado em Agronomia). Ilha Solteira - SP. Universidade Estadual Paulista - UNESP.

- Melchior, M. (2017). *Gastronomia, Cultura e Memória: Por uma cultura brasileira do milho*. Rio de Janeiro: Folio Digital.
- Meng, J., et al. (2024). Knockdown of microRNA390 enhances maize brace root growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 25, p. 6791.
- Meyer, A. S., Garcia, A. A. F., Souza, A. P., Souza, C. L. (2004). Comparison of similarity coefficients used for cluster analysis with dominant markers in maize (*Zea mays* L.). *Genetics and Molecular Biology*, 27(1), 83-91.
- Mora-Poblete, F., et al. (2023). Multi-trait and multi-environment genomic prediction for flowering traits in maize: a deep learning approach. *Frontiers in Plant Science*, 14, p. 1153040.
- Morais, S. R. P. de, et al. (2016). Application of microsatellite markers to confirm controlled crosses and assess genetic identity in common bean. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 16(3), 234–239.
- Mueller, D. S., et al. (2016). Corn yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada from 2012 to 2015. *Plant Health Progress*, 17(3), 211-222.
- Muhammad, I., et al. (2023). Association Mapping for Evaluation of Population Structure, Genetic Diversity, and Physicochemical Traits in Drought-Stressed Maize Germplasm Using SSR Markers. *Plants*, 12, p. 4092.
- Muller, B. S., Sakamoto, T., Menezes, I. P. P., Prado, G. S., Martins, W. S., Brondani, C., Barros, E. G., Vianello, R. P. (2014). Analysis of BAC end sequences in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) towards the development and characterization of long motifs SSRs. *Biologia Molecular de Plantas*, 86(45), 455-470.
- Muntean, L., et al. (2022). Maize breeding: From domestication to genomic tools. *Agronomy*, 12, p. 2365.

- Muzdalifah, Isnaini. (2020). Genetic characterization of popcorn (*Zea mays everta*) genotyping based on SSR (simple sequence repeats) markers. IOP Conf. Ser.: Earth and Environmental Science, 484, 012013.
- Napier, R. M., et al. (1991). From auxin-binding protein to plant hormone receptor? Trends in Biochemical Sciences, 16(2), 47-50.
- Nascimento Júnior, I. R. do. (2015). Relação entre caracteres agrônômicos e anatômicos em milho. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Jaboticabal - SP, Universidade Estadual Paulista - Câmpus de Jaboticabal - UNESP.
- Nascimento Júnior, I., Môro, G. V., Môro, F. V. (2018). Indirect selection of maize genotypes based on associations between root agronomic and anatomical characters. Chilean Journal of Agricultural Research, 78, 39-47.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89(3), 583–590.
- Nei, M. (1987). Molecular evolutionary genetics. New York: Columbia University Press.
- Nikhou, F., Ebrahimi, A., & Shiri, M. (2013). Genetic diversity assessment among maize hybrids using SSR markers. Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, 3(S), 3831-3834.
- Nirenberg, H. I., O'Donnell, K. (1998). New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia, 90(3), 434-458.
- Nobre, R. G., Liberalino Filho, J., Praça, E. F., Dias, N. da S., & Ferreira Neto, M. (2000). Avaliação da qualidade de diferentes marcas comerciais de milho-pipoca. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 4(1), 133–135.

- Nyaligwa, L., Hussein, S., Amelework, B., & Ghebrehiwot, H. (2015). Genetic diversity analysis of elite maize inbred lines of diverse sources using SSR markers. *BMC Genetics*, 16, 130.
- Oliveira, J. A. V. S. de. (2023). Integrando a abordagem clássica e molecular na pesquisa do maracujazeiro contra o CABMV. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Osterman, J. C., et al. (1993). Characterization of mutation-induced changes in the maize (*Zea mays* L.) ADH1-1S1108 alcohol dehydrogenase. *Biochemical Genetics*, 31(11-12), 505-516.
- Pacheco, C. A. P., Gama, E. E. G., Parentoni, S. N., Santos, M. X. dos, Lopes, M. A., Ferreira, A. da S., Fernandes, F. T., Guimarães, P. E. O., Corrêa, L. A., Meirelles, W. F., Feldman, R. O., Magnavaca, R. (2001). BRS Angela: variedade de milho-pipoca. Folhetos, Embrapa Milho e Sorgo.
- Pacheco, C. A. P., Castoldi, F. L., Alvarenga, E. M. (1996). Efeito do dano mecânico na qualidade fisiológica e na capacidade de expansão de sementes de milho-pipoca. *Revista Brasileira de Sementes*, 18(2), 267-270.
- Parsons, L., Ren, Y., Yobi, A., Hurst, P., Angelovici, R., Rodriguez, O., Holding, D. R. (2020). Production and selection of quality protein popcorn hybrids using a novel ranking system and combining ability estimates. *Frontiers in Plant Science*, 11, 698.
- Paterniani, E. C. (2005). Melhoramento do milho. In: Borém, A. (Ed.). *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa: UFV, p. 491-552.
- Peakall, R., Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539.

- Peixoto, L. A. (2022). Seleção Genômica Aplicada ao Melhoramento Genético. Viçosa: Editora UFV.
- Pena, G. F., Amaral Júnior, A. T. do, Silva, T. R. C., Ribeiro, R. M., Vittorazzi, C., Cabral, P. D. S., Santos, J. S., Valim, R. (2012). Desempenho agrônômico de genótipos de milho-pipoca no Norte e Noroeste do estado do Rio de Janeiro. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Águas de Lindóia.
- Pereira Filho, I. A., Cruz, J. C., Pacheco, C. A. P., Costa, R. C. (2021). Milho-pipoca - Embrapa 50 anos. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao/sistemas-diferenciais-de-cultivo/milho-pipoca>. Acesso em: 08/11/2023.
- Perez, C. C. M. (2008). Medidas de diferenciação genética em populações simuladas sob endogamia e seleção divergente. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – Viçosa - MG, Universidade Federal de Viçosa, UFV..
- Pinto, V. B., Vidigal, P. M. P., Dal-Bianco, M., Almeida-Silva, F., Venancio, T. M., Viana, J. M. S. (2023). Transcriptome-based strategies for identifying aluminum tolerance genes in popcorn (*Zea mays* L. var. everta). Scientific Reports, 13, 19400.
- Poethig, R. S., et al. (2024). Temporal regulation of vegetative phase change in plants. Developmental Cell, 59, 4-19.
- Pontes, A., Araújo, C., Viana, G. (2023). Milho - Árvores do Conhecimento. Embrapa 50 anos. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho#navegue-pela-arvore>. Acesso em: 01/11/2023.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155(2), 945–959.

- Qi, X., et al. (2017). Physiological characteristics and metabolomics of transgenic wheat containing the maize C4 phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) gene under high temperature stress. *Protoplasma*, 254(2), 937-947.
- Qin, N., et al. (2016). Drought tolerance and proteomics studies of transgenic wheat containing the maize C4 phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) gene. *Protoplasma*, 253(6), 1503-1512.
- R Core Team (2021). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.
- Rahimi, A., Kahrizi, D., Mirmoayedi, A., et al. (2023). Genetic characterizations of the Iranian honey bee (*Apis mellifera* meda Skorikov) populations using the microsatellite DNA markers. *Biochemical Genetics*, 61, 2293–2317.
- Rajan, N., Debnath, S., Perveen, K., Khan, F., Pandey, B., Srivastava, A., Khanam, M. N., Subramaniyan, V., Kumarasamy, V., Paul, P. J., Lal, M. (2023). Optimizing hybrid vigor: A comprehensive analysis of genetic distance and heterosis in eggplant landraces. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1238870.
- Rajendran, A., Muthiah, A., Joel, J., Shanmugasundaram, P., Raju, D. (2014). Heterotic grouping and patterning of quality protein maize inbreds based on genetic and molecular marker studies. *Turkish Journal of Biology*, 38, 10-20.
- Ramos, H. C. C., Pereira, M. G., Pereira, T. N. S., Barros, G. B. A., Ferregueti, G. A. (2014). Genetic-molecular characterization of backcross generations for sexual conversion in papaya (*Carica papaya* L.). *Genetics and Molecular Research*, 13(4), 10367-10381.
- Ramos, N. P., Brunelli, K. R., Camargo, L. E. A., Marcos Filho, J. (2006). Sensibilidade dos microssatélites para determinar a pureza varietal em sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes*, 28(1), 99–105.

- Reboita, M. S. (2015). Entendendo o tempo e o clima na América do Sul. *Terrae Didactica*, 8(1), 34.
- Reis, N. V. (2023). Caracterização molecular de famílias S1 e S2 de goiabeira (*Psidium guajava* L.). Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Ren, Z. B., et al. (2023). Deciphering transcriptional mechanisms of maize internodal elongation by regulatory network analysis. *Journal of Experimental Botany*. doi: 10.1093/jxb/erad178.
- Ribeiro, E. H., Pereira, M. G., Coelho, K. de S., Freitas Júnior, S. de P. (2009). Estimates of genetic parameters and selection of recombined inbred lines of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Ceres*, 56, 580-590.
- Riera-Lizarazu, O., et al. (1996). Cytological and molecular characterization of oat x maize partial hybrids. *Theoretical and Applied Genetics*, 93, 123-135.
- Rodrigues, A. S. (2021). Caracterização molecular em mamoeiro visando seleção e purificação de linhagens genitoras de híbridos comerciais. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Ronsoni, A. Z. (2023). Compostos Bioativos em Diferentes Variedades de Milho-Pipoca Pré e Pós-Processamento. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão/PR.
- Rubens, D. J., et al. (2023). Maize heat shock proteins prospection, validation, categorization and in silico analysis of the different ZmHSP families. *Stress Biology*. doi: 10.1007/s44154-023-00104-2.
- Rumit, P., et al. (2024). Genetic Diversity and Population Structure of Maize (*Zea mays* L.) Inbred Lines in Association with Phenotypic and Grain Qualitative Traits Using SSR. *Plants*, 13, 823.

- Saluci, J. C. G. (2019). *Performance de Linhagens de Milho-Pipoca Quanto a Resistência à Helmintosporiose (*Bipolaris maydis*) e aos Atributos Agrônômicos*. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Saluci, J. C. G. (2023). *Avaliação de Germoplasma de Milho-Pipoca e Análise Genética Quanto à Resistência à Mancha de Helmintosporiose Maidis*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Sans, L. M. A., Assad, E. D., Guimarães, D. P., Avellar, G. (2001). Zoneamento de riscos climáticos para a cultura de milho na Região Centro-Oeste do Brasil e para o estado de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, 9(3), 564–570.
- Santos, C. E. M. dos, Bruckner, C. H., Cruz, C. D., Siqueira, D. L. de, Rosado, L. D. S. (2011). Componentes genéticos aditivos e não aditivos em maracujazeiro-azedo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(5), 482–490.
- Santos, C. E. W. (2010). *Desempenho de híbridos de milho de alto e médio potencial produtivo*. Pelotas/RS: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel.
- Santos^a, L. C. S. (2022). *Caracterização morfoagronômica de linhagens endogâmicas de milho-pipoca para obtenção de híbridos*. Colatina - ES: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – Campus Itapina.
- Santos^b, G. R. (2022). *Adaptabilidade e estabilidade para recomendação de híbridos de milho potencialmente resistentes a múltiplas doenças foliares*. Campos dos Goytacazes-RJ: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Sawazaki, E. (2010). Milho-pipoca. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Disponível em:

http://www.abms.org.br/eventos_antecedentes/cnms2010/palestras/010.pdf.

Acesso em: 04/11/2023.

Scapim, C. A., Pacheco, C. A. P., Amaral Júnior, A. T., Vieira, R. A., Pinto, R. J. B., Conrado, T. V. (2010). Correlations among yield and popping expansion stability parameters in popcorn. *Euphytica*, 174(2), 209-218.

Schnable, P. S., et al. (2009). The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science*, 326(5956): 1112-1115.

Segura-Alabart, N., Serratos, F., Gómez, S., & Fernández, A. (2022). Nonunique UPGMA clusterings of microsatellite markers. *Briefings in Bioinformatics*, 23(5): bbac312. <https://doi.org/10.1093/bib/bbac312>

Seifert, A. L., Carpentieri-Pípolo, V., Ferreira, J. M., & Gerage, A. C. (2006). Análise combinatória de populações de milho-pipoca em *topcrosses*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(5): 771–778. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000500008>

Senhorinho, H. J. C. (2019). Genomic-Wide Association Study of Popping Expansion in Tropical Popcorn and Field Corn Germplasm. *Crop Breeding & Genetics*. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2019.02.0101>

Serafini, L. A., Barros, M. N., Azevedo, J. L. (2001). *Biotechnology na agricultura e na agroindústria*. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária Ltda., 463p.

Sheng, P., et al. (2023). Peptidome and transcriptome analysis of plant peptides involved in *Bipolaris maydis* infection of maize. *Plants*, 12: 1307.

Silva, R. P., Loguercio, L. L., Paiva, E. (2000). Caracterização dos padrões proteicos do endosperma do milho e sua relação com a estrutura física do grão. *Ciência Agrotecnológica*, 24(3): 567-575.

- Silva, R. S., Campos, H. D., Ribeiro, L. M., Braz, G. B. P., Magalhães, W. B., Bueno, J. N. (2020). Danos na cultura do milho em função da redução de área foliar por desfolha artificial e por doenças. *Summa Phytopathologica*, 46(4): 313–319. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/231093>
- Silva, T. A., Pinto, R. J. B., Scapim, C. A., Mangoin, C. A., Machado, M. F. P. S., Carvalhos, M. S. N. (2009). Genetic divergence in popcorn genotypes using microsatellites in bulk genomic DNA. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9: 31-36.
- Silva, T. R. C., Amaral Júnior, A. T., Candido, L. S., Santos, J. S., Vittorazzi, C., Pena, G. F., Ribeiro, R. M., Freitas, I. L. J., Valim, R. H., Bartholazzi Junior, A. (2012). Diversidade entre variedades de milho-pipoca em ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 29., 2012, Águas de Lindóia. Águas de Lindóia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo.
- Silva, W. J., Vidal, B. C., Martins, M. E. Q., Vargas, H., Pereira, A. C., Zerbetto, M., Miranda, L. C. M. (1993). What makes popcorn pop. *Nature*, 362: 417.
- Singh, A., et al. (2023). Characterization of phi112, a molecular marker tightly linked to the o2 gene of maize, and its utilization in multiplex PCR for differentiating normal maize from QPM genes. *Genes*, 14: 531.
- Skibbe, D. S., Fernandes, J. S. C., Medzihradszky, K. F., Burlingame, A., Walbot, V. (2009). Mutator transposon activity reprograms the transcriptomes and proteomes of developing maize anthers. *Plant Journal*, 59: 622-633.
- Soderlund, C., et al. (2009). Sequencing, mapping, and analysis of 27,455 maize full-length cDNAs. *PLoS Genetics*, 5(11): e1000740.
- Souza, R. (2012). Avaliação da eficiência de uma nova abordagem de melhoramento de milho pelo esquema de seleção recorrente convergente-divergente de famílias de meio-irmãos. Monografia (Graduação em Agronomia) – Florianópolis - SC, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

- Taheri, S., Abdullah, T. L., Ahmad, Z., Abdullah, N. A. (2014). Efeito da irradiação gama aguda em variedades de *Curcuma alismatifolia* e detecção de polimorfismo de DNA através do marcador SSR. Biomedical Research International, 2014: 631813. DOI: 10.1155/2014/631813.
- Tan, Y. D. (2020). Recombination disequilibrium in ideal and natural populations. Genomics, 112: 3943-3950. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.06.034>.
- Tang, Z., et al. (2024). Research progress on the metabolic mechanism of sulfur-containing amino acids in maize. Journal of Plant Genetic Resources, 25: 1035-1045.
- Tave, D. (1993). Genetics for Fish Hatchery Managers. 2ª edição.
- Teixeira, F. F. (2021). Diversidade genética entre acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Milho com Qualidade Proteica Melhorada (QPM). Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas/MG.
- Tikami, Í. (2021). *Ferrugem polysora*, comum e tropical no milho. Agroadvance. Disponível em: <https://agroadvance.com.br/blog-ferrugem-polysora-ferrugem-comum-do-milho/>. Acesso em: 28 de janeiro de 2024.
- Troyjack, C., et al. (2019). Multivariate characterization and canonical interrelations for the productive performance of open pollinated corn genotypes. Genetics and Molecular Research, 18: 1-12.
- Tu, X. Y., et al. (2020). Reconstructing the maize leaf regulatory network using ChIP-seq data of 104 transcription factors. Nature Communications. doi: 10.1038/s41467-020-18832-8.
- Tumova, L., Tarkowska, D., Rehorova, K., Markova, H., Kocova, M., Rothova, O., Cecetka, P., Hola, D. (2018). Drought-tolerant and drought-sensitive genotypes of maize (*Zea mays* L.) differ in contents of endogenous brassinosteroids and their drought-induced changes. PLoS One, 13: e0197870.

- UFV - Universidade Federal de Viçosa. (2001). Milhos UFVM – Cultivar de milho-pipoca UFVM 2 – Barão de Viçosa. Disponível em: <http://arquivoufvbr-dft/milho/UFVM2htm>.
- Valadares, F. V. (2023). Diversidade genética de linhagens de milho-pipoca em um painel sul-americano. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Vega-Arreguín, J. C., et al. (2009). Deep sampling of the Palomero maize transcriptome by a high throughput strategy of pyrosequencing. BMC Genomics. PMID 19580677.
- Vettorazzi, J. C. F. (2016). Seleção Recorrente Recíproca em milho (*Zea mays* L.) monitorada por marcadores *SSR-EST*, associados à produtividade. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Vianna, L. S. (2019). Caracterização molecular e citogenética das espécies silvestres de *Passiflora*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Vilar, D. (2022). Estrutura Anatômica e Composição Química do Grão de Milho. Disponível em: <https://agronline.com.br/porta1/artigo/estrutura-anatomica-e-composicao-quimica-do-grao-de-milho/>. Acesso em: 28 jan. 2024.
- Vilarinho, A. A., Viana, J. M. S., Santos, J. F., Câmara, T. M. M. (2003). Eficiência da seleção de progênies S1 e S2 de milho-pipoca, visando à produção de linhagens. *Bragantia*, 62(1): 9-17.
- Vittorazzi, C. (2016). Grupos heteróticos em germoplasma de milho-pipoca. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.

- Vittorazzi, C., Amaral Júnior, A. T., Gonçalves, L. S. A., Candido, L. S., Silva, T. R. C. (2013). Seleção de pré-cultivares de milho-pipoca baseado em índices não paramétricos. *Revista Ciência Agronômica*, 44(2): 356-362.
- Walbot, V. (2000). Maize ESTs from various cDNA libraries sequenced at Stanford University. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade de Stanford, 855 California Ave, Palo Alto, CA 94304, EUA. Recuperado de: NCBI.
- Wang, D., Osés-Prieto, J. A., Li, K. H., Fernandes, J. S. C., Walbot, V. (2010). The male sterile 8 mutation of maize disrupts the temporal progression of the transcriptome and results in the mis-regulation of metabolic functions. *Plant Journal*, 63(6): 939-951.
- Wang, J. e Hu, X. (2021). Research on corn production efficiency and influencing factors of typical farms: Based on data from 12 corn-producing countries from 2012 to 2019. *PLoS One*, 16(7): e0254423. doi: 10.1371/journal.pone.0254423.
- Wang, Q., et al. (2024). ZmICE1a regulates the defence–storage trade-off in maize endosperm. *Nature Plants*. <https://doi.org/10.1038/s41477-024-01845-2>.
- Wang, Y. F., et al. (2020). Large-scale identification and time-course quantification of ubiquitylation events during maize seedling de-etiolation. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.05.005>.
- Wang, Y. Y., et al. (2024). ZmEREB25 transcription factor mediates transactivation of core starch synthetic genes in maize endosperm via interaction with ZmARF27. *Plant Physiology and Biochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.109360>.
- Wen, J., Shen, Y., Xing, Y., Wang, Z., Han, S., Li, S., Yang, C., Hao, D., Zhang, Y. (2021). QTL Mapping of Fusarium Ear Rot Resistance in Maize. *Plant Disease*, 105(3): 558-565.

- Williams, M. M. II, et al. (2023). First report of severe tolpyralate sensitivity in corn (*Zea mays*) discovers a novel genetic factor conferring crop response to an herbicide. *Pest Management Science*.
- Witten, D. M., Tibshirani, R. J. (2009). Extensions of sparse canonical correlation analysis with applications to genomic data. *Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology*, 8(1): 1-27. <https://doi.org/10.2202/1544-6115.1470>.
- Woo, E. J., et al. (2002). Crystal structure of auxin-binding protein 1 in complex with auxin. *The EMBO Journal*, 21(12): 2877-2885.
- Wu, S., et al. (2022). Characterization and genetic dissection of maize ear leaf midrib acquired by 3D digital technology. *Frontiers in Plant Science*, 13: 1063056.
- Xia, Z. H., et al. (2024). N6-Methyladenosine RNA modification regulates maize resistance to *Maize Chlorotic Mottle Virus* infection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Xiao, N., et al. (2024). Overexpression of ZmSUS1 increased drought resistance of maize (*Zea mays* L.) by regulating sucrose metabolism and soluble sugar content. *Planta*, 259: 43.
- Yanagisawa, S., et al. (1988). Further analysis of cDNA clones for maize phosphoenolpyruvate carboxylase involved in C4 photosynthesis. *FEBS Letters*, 226(2): 195-200.
- Yang, W., et al. (2024). Influence of exogenous 24-epibrassinolide on improving carotenoid content, antioxidant capacity and gene expression in germinated maize seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13870>.
- Yilmaz, A., Nishiyama, M. Y., Fuentes, B. G., Souza, G. M., Janies, D., Gray, J., Grotewold, E. (2009). GRASSIUS: a platform for comparative regulatory genomics across the grasses. *Plant Physiology*, 149: 171-180.

- Yin, P. F., et al. (2024). Linkage and association mapping in multi-parental populations reveal the genetic basis of carotenoid variation in maize kernels. *Plant Biotechnology Journal*.
- Yu, C. M., et al. (2020). *Maize bHLH55 functions positively in salt tolerance through modulation of AsA biosynthesis by directly regulating GDP-mannose pathway genes*. *Plant Science*: 110676. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110676>.
- Yu, L. X., et al. (1991). Structure and sequence of an auxin-binding protein gene from maize (*Zea mays* L.). *Plant Molecular Biology*, 16(5): 709-710.
- Yu, S., Jia, B., Liu, N., Yu, D., Zhang, S., Wu, A. (2021). Fumonisin B1 triggers carcinogenesis via HDAC/PI3K/Akt signalling pathway in human esophageal epithelial cells. *Science of The Total Environment*, 787: 147405.
- Zehui, F., et al. (2024). Dual-model GWAS Analysis and Genomic Selection of Maize Flowering Time-Related Traits. *Genes*, 15: 740.
- Zhang, A., Pérez-Rodríguez, P., San Vicente, F., Palacios-Rojas, N., Dhliwayo, T., Liu, Y., Cui, Z., Guan, Y., Wang, H., Zheng, H., Olsen, M., Prasanna, B. M., Ruan, Y., Crossa, J., Zhang, X. (2021). Genomic prediction of the performance of hybrids and the combining abilities for line by tester trials in maize. *The Crop Journal*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2021.04.007>.
- Zhang, M., Mao, W., Zhang, G., Wu, F. (2014). Development and characterization of polymorphic EST-SSR and genomic SSR markers for Tibetan annual wild barley. *PLoS ONE*, 9: e94881. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094881>.
- Zhang, Y. M., et al. (2024). Natural variation of CT2 affects the embryo/kernel weight ratio in maize. *Journal of Genetics and Genomics*. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2024.09.012>.
- Zhou, Y., et al. (2024). Maize-Tripsacum-Teosinte allopolyploid (MTP), a novel dwarf mutant inducer tool in maize. *Plant Biotechnology Journal*.

- Zhu, J. M., et al. (2023). PER-seq: a simple method to screen transcriptional regulation in plants. *Plant Physiology*. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad495>.
- Ziegler, K. E. e Ashman, B. (1994). Pipoca. In: Hallauer, A. R. (Ed.). *Grãos Especiais*. Iowa: CRC Press.
- Zulkadir, G. e Idikut, L. (2021). Determination of popping traits and grain quality of landraces popcorn populations. *Journal of Food Science and Technology*, 58(4): 1302-1312. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04639-4>.
- Zunjare, R., Hossain, F., Muthusamy, V., Choudhary, M., Kumar, P., Sekhar, J. C., Gupta, H. S. (2015). Popping quality attributes of popcorn hybrids in relation to weevil (*Sitophilus oryzae*) infestation. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 75: 510–513. <https://doi.org/10.5958/0975-6906.2015.00081.4>.