



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

RENATO GONÇALVES DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DIALÉTICA E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE
POPULAÇÕES DE MILHO SUPERDOCE**

Londrina
2018



Universidade Estadual de Londrina



Instituto Agrônomo do Paraná



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

RENATO GONÇALVES DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DIALÉLICA E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE
POPULAÇÕES DE MILHO SUPERDOCE**

**Londrina
2018**

RENATO GONÇALVES DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DIALÉLICA E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE
POPULAÇÕES DE MILHO SUPERDOCE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Josué Maldonado Ferreira

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Oliveira, Renato Gonçalves de.

Análise dialéctica e divergência genética entre populações de milho superdoce / Renato Gonçalves de Oliveira. - Londrina, 2018.

93 f. : il.

Orientador: Josué Maldonado Ferreira.

Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2018.

Inclui bibliografia.

1. Análise dialéctica em milho superdoce - Tese. 2. Correlação genômica de VanRaden - Tese. 3. Índice de divergência genética - Tese. I. Ferreira, Josué Maldonado. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular. III. Título.

RENATO GONÇALVES DE OLIVEIRA

**ANÁLISE DIALÉLICA E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE
POPULAÇÕES DE MILHO SUPERDOCE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Josué Maldonado Ferreira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Deoclécio Domingos Garbuglio
Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR

Londrina, 20 de julho de 2018.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a minha família, meu apoio de todas as horas.

À Universidade Estadual de Londrina e o Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular e todo o corpo docente. Em especial a Dr. Sílvia Helena e ao Dr. Carlos Alberto Arrabal Arias.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Dr. Josué Maldonado Ferreira, pela orientação e ensinamentos.

A empresa Tropical Melhoramento Genético pela geração dos dados moleculares do experimento.

Ao Dr. Roberto Fritsche-Neto e a seu orientado de doutorado Ítalo Granato pela valiosa ajuda na análise e interpretação dos dados moleculares.

À Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina por ter disponibilizado a área onde foram instalados os experimentos, e a todos os funcionários que ajudaram, em especial ao Sr. Raimundo e ao Valdinei.

OLIVEIRA, Renato Gonçalves de. **Análise dialélica e divergência genética entre populações de milho superdoce.** 93 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

A identificação do potencial de populações base para o melhoramento individual e em cruzamentos é uma das fases mais importantes e determinantes para o sucesso de um programa de melhoramento genético. Os objetivos foram determinar a capacidade combinatória de 10 populações de milho superdoce em um dialelo completo, identificar a existência de associação entre características de produtividade, estimar a divergência genética entre essas 10 populações utilizando marcadores *SNP*'s, identificar a existência de associação entre capacidade específica de combinação para características de produtividade e os índices de divergência genética. Os 45 híbridos interpopulacionais e quatro testemunhas foram avaliados em blocos ao acaso com três repetições em três ambientes. As características avaliadas foram produtividade de espigas com palha, produtividade de espigas sem palha, produtividade de grãos, número de fileira de grãos, diâmetro e comprimento de espigas, número de dias para o florescimento, altura de plantas e altura de espigas. Houve efeito significativo de capacidade geral de combinação para todas as características avaliadas, não sendo observado efeito significativo para a capacidade específica de combinação apenas para altura de espiga. Houve interação de capacidade geral de combinação e ambiente para as características de produtividade, número de fileiras, diâmetro e comprimento de espigas, não sendo observado efeito de interação capacidade de combinação específica e ambiente. Também não houve efeito significativo do contraste entre a média geral das combinações híbridas e das testemunhas para as características de produtividade, evidenciando alto desempenho dos híbridos do dialelo. As combinações mais promissoras são SD3004xSD30005 e SD3006XSD3007 para a obtenção de linhagens e formação de híbridos. As populações SD3004, SD3005 e SD3006 apresentam as melhores estimativas de capacidade geral de combinação e estão presentes nas combinações híbridas com melhor desempenho para as características de produtividade e de capacidade específica de combinação nos diferentes ambientes. A produtividade de grãos está mais fortemente associada a produtividade de espiga sem palha, que a produtividade de espigas com palha. Os melhores híbridos interpopulacionais foram obtidos pelo cruzamento entre diferentes agrupamentos pela correlação genômica de *VanRaden*. Os grupamentos segundo a correlação genômica de *VanRaden* são eficientes para indicar as combinações híbridas superiores para produtividade com alta taxa de assertividade. Existe maior associação entre as estimativas da capacidade específica de combinação e a correlação genômica de *VanRaden* do que entre a distância genética de Nei e capacidade específica de combinação.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Var. *Saccharata*. Correlação genômica. Capacidade específica de combinação. Populações.

OLIVEIRA, Renato Gonçalves de. **Dialelic analysis and genetic divergence between supersweet corn populations**. 93 p. Dissertacion (Master's Degree in Genetics and Molecular Biology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

Identifying the potential of base populations for individual and cross-breeding is one of the most important and determinant steps for the success of a breeding program. The objectives were to determine the combining ability of 10 supersweet corn populations in a complete diallel, to identify the existence of an association between yield traits, to estimate the genetic divergence between these populations using SNP markers, to identify the existence of association between specific combining ability for yield traits and the rates of genetic divergence. The 45 interpopulation hybrids and four checks were evaluated in randomized blocks design with three replications in three environments. The traits evaluated were yield of ears with straw, the yield of ears without straw, the yield of grains, number of row of grains, diameter and length of ears, number of days for flowering, the height of plants and height of ears. There was a significant effect of general combining ability for all characteristics evaluated, and no significant effect was observed for specific combining ability only on ear height. There was the interaction of general combining ability and environment for the characteristics of yield, a number of rows, diameter and length of ears, and no interaction effect between environment and specific combining ability was observed. There was also no significant effect of the contrast between the overall mean of the hybrid and control combinations for the yield characteristics, evidencing the high performance of the diallel hybrids. The most promising combinations are SD3004xSD30005 and SD3006XSD3007 for obtaining inbred lines and hybrid formation. SD3004, SD3005, and SD3006 populations have the best estimates of overall combining ability and are present in the best-performing hybrid combinations for yield and specific combining ability characteristics in different environments. Grain yield is more strongly associated with ears yield without straw, than the yield of ears with straw. The best interpopulation hybrids were obtained by crossing between different clusters by the *VanRaden* genomic correlation. VanRaden's genomic correlation groups are efficient to indicate the superior hybrid combinations for productivity with high assertiveness. There is a greater association between estimates of specific combining ability and VanRaden genomic correlation than between Nei genetic distance and specific combining ability.

Keywords: *Zea mays* L. Var. *Saccharata*. Genomic Correlation specific combining ability. Populations.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema resumido da via do de síntese do amido em semente de milho. Os mutantes <i>sus1</i> , <i>sh1</i> , <i>bt2</i> , <i>sh2</i> , <i>wx1</i> , <i>du1</i> , <i>ae1</i> , <i>su1</i> , <i>se1</i> e <i>bt1</i> aparecem circulados em frente à região onde sofrem alteração.....	17
Figura 2 - Tecnologias de sequenciamento de DNA ao longo dos anos e as principais contribuições de metodologias moleculares para o desenvolvimento dos sequenciadores de DNA.....	30
Figura 3 – Precipitação acumulada a cada cinco dias para os três ambientes com datas de plantio, florescimento e colheita.	38
Figura 4 – Diagramas para as redes de correlações entre as características de produtividade e demais características avaliadas.	76
Figura 5 – Heatmap elaborado a partir dos valores obtidos na matriz de relação genômica calculada pelo método de VanRadem para as dez populações de milho superdoce utilizadas no dialelo.	79
Figura 6 – Número de agrupamentos definidos pelo pacote <i>NbCluster</i> para as dez populações de milho superdoce do dialelo.	79
Figura 7 – Dendrograma construído pelo método WARD utilizando as distâncias genéticas de Rogers calculadas para as dez populações de milho superdoce utilizadas no ensaio de dialelo.	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise de variância individual, envolvendo os híbridos interpopulacionais (H), a testemunha (T), o contraste híbridos interpopulacionais versus testemunha (H vs T), capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC).	44
Tabela 2 – Análise de variância conjunta envolvendo os híbridos interpopulacionais (H), a testemunha (T), os contrastes H vs T, a interação de tratamentos x ambiente (Trat x Amb) e seus respectivos desdobramentos.	45
Tabela 3 - Análises de variâncias com respectivos graus de liberdade (GL), quadrados médios e seus níveis de significância, acurácia seletiva (r_{gg}), coeficiente de variação (CV%) e média, para diferentes características avaliadas no experimento em três diferentes ambientes, em Londrina – PR.	72
Tabela 4 - Médias dos híbridos interpopulacionais utilizados no ensaio de dialelo completo de dez populações de milho superdoce e das testemunhas, para diferentes características avaliadas no experimento em três diferentes ambientes, em Londrina - PR.	73
Tabela 5 - Estimativas de capacidade geral de combinação das dez populações de milho superdoce utilizadas no ensaio de dialelo para diferentes características avaliadas no experimento em três diferentes ambientes e correlação entre características de produtividade e demais características avaliadas, em Londrina - PR.	75
Tabela 6 – Estimativas de capacidade específica de combinação das populações de dez populações de milho superdoce utilizadas no ensaio de dialelo, para diferentes características avaliadas no experimento em três diferentes ambientes, em Londrina - PR.	77
Tabela 7 – Índices de correlação genômica de VanRaden (diagonal superior), Coeficiente de Rogers (diagonal inferior), correlações (r) e coeficiente de determinação (R^2) para associações entre os índices de divergência genética e capacidade específica de combinação (CEC) das características de produtividade para os híbridos do dialelo.	78

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Milho doce e superdoce	16
2.2 Aspectos econômicos do milho doce e superdoce no mundo e no Brasil....	19
2.3 Melhoramento genético de milho superdoce.....	21
2.3.1 Populações base	21
2.3.2 Determinação da capacidade combinatória das populações.....	22
2.3.3 Uso de marcadores no melhoramento.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 Obtenção dos genótipos	36
3.2 Preparo e condução dos experimentos.....	36
3.3 Caracteres agronômicos avaliados	39
3.4 Genotipagem das populações de milho superdoce	41
3.5 Análise Estatística dos Dados.....	41
3.5.1 Normalidade dos dados Experimentais	42
3.5.2 Análise de variância individual.....	42
3.5.3 Análise de variância conjunta	44
3.5.4 Análise estatística dos dados moleculares	46
4 RESULTADOS	49
4.1 Artigo - Índices de divergência genética e capacidade combinatória em dialelos de milho superdoce.....	49
5 CONCLUSÕES	81
6 BIBLIOGRAFIA	82

1 INTRODUÇÃO

O milho superdoce (*Zea mays* L. var. *saccharata*), botanicamente idêntico ao milho comum, é caracterizado pelo maior acúmulo de açúcar no endosperma. Essa característica advém de mutações naturais em genes envolvidos na síntese do amido, podendo-se citar: o *sugary enhancer-1* (*se₁*), localizado no cromossomo 2; *shrunk-2* (*sh₂*) no cromossomo 3; *brittle-2* (*bt₂*) e *sugary-1*(*su₁*), ambos no cromossomo 4, *amylose extender* (*ae₁*) e *brittle-1* (*bt₁*), ambos no cromossomo 5; *waxy-1* (*wx₁*) no cromossomo 9 e *dull-1* (*du₁*). Além de alto valor nutricional o milho superdoce apresenta características próprias como sabor adocicado, pericarpo fino e endosperma com textura delicada. Seu uso é bastante versátil, podendo ser utilizado para o consumo *in natura*, na forma de milho verde, ou para indústrias de conservas, sendo esta última a maior demanda no Brasil.

No melhoramento genético o milho superdoce é considerado como uma hortaliça pois possui exigências sensoriais como: cor, maciez e sabor, além da exigência de produtividade. O desenvolvimento de genótipos comerciais deve ter como premissa atender as exigências tanto da indústria de conservas, consumidores e produtores, que buscam produtividade, qualidade, uniformidade e tolerância a pragas e doenças.

Os híbridos de linhagens são os genótipos que melhor atendem as exigências da indústria e mercado consumidor. Nesse contexto, é fundamental a identificação de populações que possuam desempenho individual superior e capacidade combinatória que maximizem a oportunidade da síntese de linhagens que gerem híbridos de alto potencial produtivo e com desempenho elevado para diferentes características exigidas. Para tanto, as análises dialelicas têm sido extensamente utilizados, pois

permitem estimar os efeitos de capacidade geral e específica de combinação (CGC e CEC, respectivamente), que orientam a seleção de genitores e definição das melhores combinações híbridas. Além disto, essas estimativas de CGC e CEC permitem caracterizar o tipo de ação gênica predominante para as características de interesse, auxiliando no direcionamento de programas de melhoramento.

As ferramentas moleculares têm se tornado cada vez mais relevantes no direcionamento de programas de melhoramento. A facilidade para a obtenção de dados de marcadores moleculares, caso dos marcadores *SNP* que permitem um alto grau de automação em seus processos, tem permitido a realização de cada vez mais estudos envolvendo os genótipos dos organismos de interesse. Para os organismos cujo o nível de informação é baixo tem-se lançado mão das ferramentas de sequenciamento de nova geração (NGS), que não depende de amplificação de vários segmentos de DNA e sim todo ele de uma vez. Os estudos buscando a associação entre genótipo e fenótipo no melhoramento tem promovido o desenvolvimento de novas técnicas, que podem aumentar a acurácia e a eficiência de programas de melhoramento. Entre essas técnicas estão a seleção genômica, que tem a capacidade de predizer o desempenho de indivíduos com base em sua composição alélica, seleção assistida, que auxilia na detecção de indivíduos com a presença de alelos desejados para a expressão de determinadas características, e o mapeamento associativo, que busca a identificação de regiões do genoma associadas a expressão de determinada característica. Nesse contexto, os marcadores moleculares *SNP*'s tem se destacado por propiciar alta cobertura dos genomas, com custo relativamente baixo e cada vez mais acessível. Entre suas utilidades, eles podem auxiliar na definição de agrupamentos de genótipos similares e indicar as melhores

combinações, com base em índices de divergência genética e agrupamentos, como os resultados fornecidos pela matriz de correlação genômica de VanRaden.

Assim, os objetivos foram determinar a predominância dos efeitos gênicos; determinar a capacidade combinatória de 10 populações de milho superdoce em um dialelo completo; identificar a existência de associação entre a produtividade e diferentes características agronômicas; estimar a divergência genética entre essas 10 populações utilizando marcadores *SNP*'s; identificar a existência de associação entre capacidade específica de combinação para características de produtividade e os índices de divergência genética.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Milho doce e superdoce

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas mais estudadas em todo o mundo devido a sua grande importância para alimentação humana e animal. Na espécie *Zea mays* L. podemos encontrar diversos tipos de milho, dentre eles, podem-se citar os milhos especiais, destinados principalmente ao consumo humano (Reis, 2009).

Por apresentarem sabor adocicado, devido ao acúmulo de açúcar nos grãos, são classificados no grupo saccharata (Aragão, 2002; Reis, 2009). De acordo com Parentoni et al. (1990), o milho doce apresenta alto valor nutricional além de características próprias como sabor adocicado, pericarpo fino e endosperma com textura delicada. O baixo teor de amido destes milhos os confere uma característica de maior perecibilidade em relação ao milho comum (Mamede et al., 2015).

Alguns trabalhos como os de Silva (2012) e Aragão (2002), citam que este tipo de milho teve origem entre 7000 a 10000 anos atrás e foi utilizado pelos povos antigos como fonte de açúcar, provavelmente no México. A produção de milho doce apresenta uma grande diversificação de uso, podendo ser utilizada para o consumo *in natura* na forma de milho verde ou pelas indústrias de conservas: enlatados, congelados, desidratados e *Baby Corn* ou minimilho, colhido antes da polinização (Oliveira Jr. et al., 2006). A colheita é feita quando as espigas apresentam umidade em torno de 75%, que ocorre em torno de 20 a 28 dias após o florescimento, e de preferência nas primeiras horas do dia. A palhada resultante da colheita pode ser utilizada para silagem (Kwiatkowski & Clemente, 2007; Camilo et al., 2015).

Com relação à botânica e a reprodução, o milho doce é idêntico ao comum (Aragão, 2002), diferindo com relação ao teor de açúcar e amido presentes no

endosperma. O caráter adocicado dos grãos de milho doce superdoce é controlado geneticamente pela ocorrência de genes mutantes em homozigose recessiva, que podem estar presentes de forma isolada ou combinados. Esses genes promovem o bloqueio da conversão de açúcares em amido no endosperma do grão (Luz et al., 2014; Teixeira et al., 2013; Aragão, 2002; Parentoni, 1990). Quando seco, o grão adquire aspecto vítreo em função da cristalização dos açúcares que estão em maior quantidade no endosperma e enrugado devido à menor proporção de amido (Stork & Lovato, 1992)

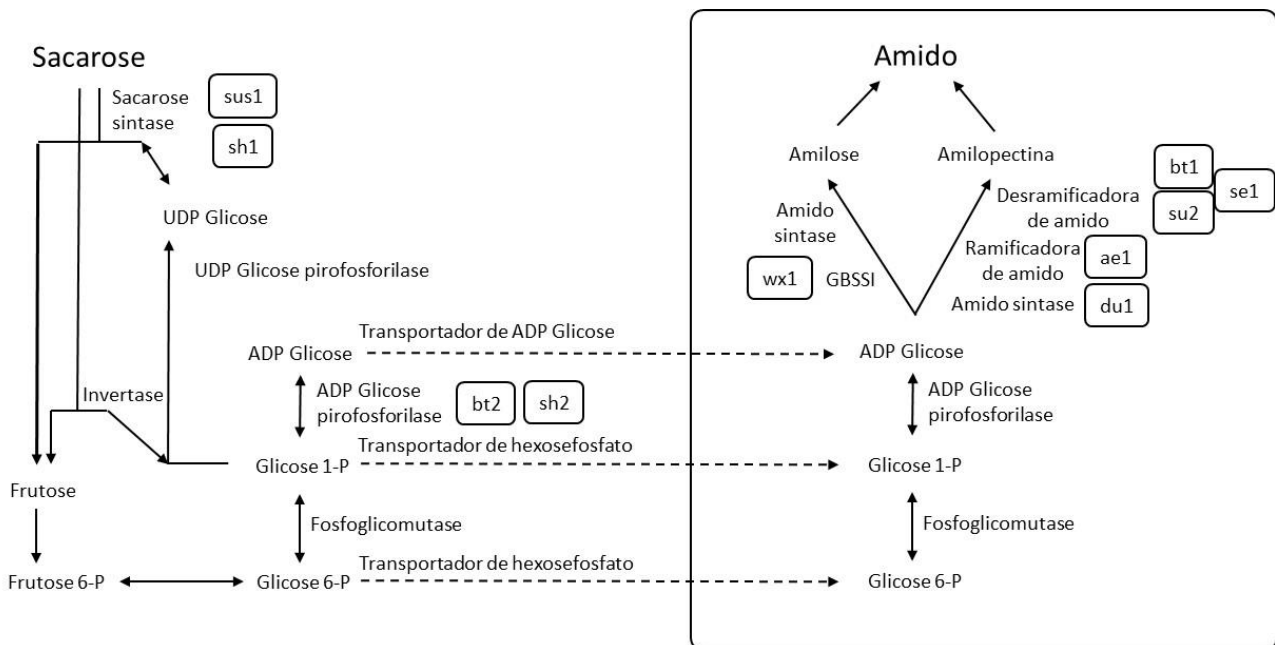


Figura 1 – Esquema resumido da via de síntese do amido em semente de milho. Os mutantes *sus1*, *sh1*, *bt2*, *sh2*, *wx1*, *du1*, *ae1*, *su1*, *se1* e *bt1* aparecem circulado em frente à região onde sofrem alteração.

Quatorze genes relacionados ao caráter doce já foram citados, sendo que oito deles já foram aplicados comercialmente. Entre eles estão: o *sugary enhancer-1* (*se1*), localizado no cromossomo 2; *shrunk-2* (*sh2*) no cromossomo 3; *brittle-2* (*bt2*) e *sugary-1* (*su1*), ambos no cromossomo 4, *amylose extender* (*ae1*) e *brittle-1* (*bt1*),

ambos no cromossomo 5; *waxy-1* (wx_1) no cromossomo 9 e *dull-1* (du_1) (Teixeira et al., 2013; Tracy, 2001). Esses genes atuam em diferentes pontos da rota metabólica de síntese do amido (Sousa et al., 2012) (Figura 1).

Em função da composição do endosperma, Tracy (2001) classificou os genes em duas classes: doce e superdoce. Os milhos classificados como superdoce são aqueles que apresentam os genes mutantes bt_1 , bt_2 ou sh_2 . Esses genes apresentam uma maior quantidade de açúcares em detrimento da produção de amido e, portanto, um sabor mais adocicado. Os milhos classificados como doces apresentam os genes su_1 , ae_1 , wx_1 ou du_1 . A expressão desses genes resulta em um menor acúmulo de açúcar no endosperma. Dessa forma, enquanto o milho comum tem em torno de 3% de açúcar e entre 60% e 70% de amido, o milho doce tem de 9% a 14% de açúcar e de 30% a 35% de amido e o superdoce tem em torno de 25% de açúcar e de 15% a 25% de amido (Luz et al., 1994). Entretanto, as combinações de alguns genes da classe doce podem resultar em índices de açúcares semelhantes ao encontrado em milhos classificados como superdoce, um exemplo é o caso da combinação $ae\ du\ wx$ (Tracy, 2001).

Genótipos su_1 apresentam em torno de 30% a menos de proteínas que os sh_2 , e também um menor período de colheita (Oliveira Jr et al., 2006; Tracy, 2001). Porém, de forma geral, os genótipos su_1 possuem uma melhor qualidade de sementes quanto à germinação e ao vigor, em relação ao grupo de milho superdoce (Tracy, 2001).

De modo geral, as sementes de milho doce e superdoce contém elevados teores de açúcares solúveis e baixa reserva no endosperma, o que leva a uma menor qualidade de sementes, podendo acarretar em falhas de estande na emergência (Aragão et al., 2003). Por exemplo, podem ser citadas as sementes portadoras dos

genes *sh₂*, pois apresentam alta suscetibilidade ao *damping-off* em pré e pós-colheita e ao ataque de patógenos e pragas do solo (Aragão, 2002).

2.2 Aspectos econômicos do milho doce e superdoce no mundo e no Brasil

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) apresenta os dados referentes à produção de milho verde, mas não faz distinção entre milhos comuns e doces ou superdoces. Dados de 2016 mostram que a produção mundial foi de, aproximadamente, 18,09 milhões de toneladas de milho verde em uma área colhida de 1,41 milhões de hectares. Dentre os três maiores produtores mundiais de milho verde, dois encontram-se no continente americano e um no africano. Os Estados Unidos, como maior produtor mundial, obteve uma produção de 3,35 milhões de toneladas em uma área de 195 mil hectares (FAO, 2018).

Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, USDA, no ano de 2017 foram plantados 203.500 hectares de milho doce, resultando em uma produção total de 4.026.697 kg de espiga com palha e uma produtividade média de 19.787 kg de espiga com palha/ha, gerando um movimento de 931 milhões de dólares (USDA, 2017) . No Brasil o milho superdoce cresceu em importância impulsionado pelas indústrias de conservas, o milho superdoce vem ganhando mais espaço no Brasil (Sousa et al., 2012). Além disso, o país apresenta grande potencial para a produção deste milho para a exportação para países europeus e da América do Norte (Camilo et al., 2015; Bordallo et al., 2005).

Os maiores estados brasileiros produtores de milho superdoce são Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal e Pernambuco, com destino basicamente ao processamento industrial como enlatados e congelados (Pereira Filho et al., 2009). Destaca-se aqui o estado de Goiás, maior produtor nacional, que

concentra 90% da área plantada, pois possibilita o cultivo o ano todo (Luz et al., 2014). Dados de 2010 da Associação Brasileira de Sementes e Mudas (ABRASEM) mostram que a área total de milho doce no ano de 2009 foi de aproximadamente 41,5 mil hectares, mostrando um incremento na área de produção no Brasil. Em contrapartida, Teixeira et al. (2013), relatam que a área plantada e a quantidade de sementes vendidas se mantiveram estáveis até 2013.

Existe uma grande dificuldade em se utilizar os dados provenientes de levantamentos estatísticos da cultura do milho doce no Brasil, muitas vezes devido a não discriminação adequada entre milho verde comum e o milho verde doce e superdoce. O consumidor brasileiro, geralmente, desconhece o fato de que o milho verde industrializado é predominantemente oriundo de cultivares de milho superdoce e são raros os mercados que fornecem estes milhos *in natura*. Assim verifica-se a falta de dados de levantamento estatístico sobre a situação atual dessa cultura no Brasil.

O consumo de milho superdoce na forma de milho cozido pode ser uma alternativa para os agricultores aumentarem a sua rentabilidade, pois o caráter doce pode atribuir preços diferenciados no mercado (Pereira Filho et al., 2015; Luz et al., 2014). No Registro Nacional de Cultivares do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA (2018), constam 66 cultivares de milho doce registradas. Quatro destas cultivares são geneticamente modificadas e 12 são variedades. Esse número é muito inferior aos apresentados para o milho comum. Sendo a empresa Agristar do Brasil responsável por 16 desses registros ou 24% do total. Nos últimos dois anos, 2016 e 2017, foram lançadas foram 12 novas cultivares, número expressivamente inferior aos números de milho comum.

2.3 Melhoramento genético de milho superdoce

Em função de sua produção ser destinada ao consumo humano, um programa de melhoramento genético de milho superdoce deve ser considerado como um programa de melhoramento de hortaliças. Seu objetivo é desenvolver cultivares com características sensoriais específicas, entre essas características pode-se citar, por exemplo, a cor, a maciez e o sabor. Essas cultivares devem atender as exigências das indústrias de conservas e dos consumidores *in natura*, além de possuir características agronômicas de interesse dos produtores, como a alta produtividade e tolerância a doenças e pragas (Barbieri & Souza Jr, 2008).

De forma geral, as estratégias utilizadas para o melhoramento de milho superdoce são semelhantes às empregadas em milho comum. O caráter doce é introduzido pelo método de retrocruzamentos em germoplasma existente ou desenvolvendo novas populações base para a extração de linhagens homozigóticas (Parentoni et al., 1990). No desenvolvimento de híbridos de linhagens de milho superdoce também são empregadas as etapas básicas: escolha das populações base; extração de linhagens homozigóticas; determinação da capacidade combinatória destas linhagens e, por fim, testes experimentais com os híbridos formados, avaliando as características de interesse, em diferentes ambientes.

2.3.1 Populações base

A escolha das populações base que serão utilizadas no programa de melhoramento genético de milho superdoce é de extrema importância. Essas populações devem concentrar alta frequência de alelos favoráveis para as características de interesse, resultando assim, em linhagens de desempenho superior. Dessa forma, uma escolha errada na população pode comprometer todo o trabalho

de seleção, além de gerar desperdício de tempo e de recursos financeiros (Oliboni et al., 2013).

Para obtenção de combinações híbridas com performances superiores, as populações são alocadas em grupos heteróticos distintos. Essa estratégia é adotada para maximizar o efeito de heterose nesses híbridos. Dessa forma, dentro de um mesmo grupo, os cruzamentos entre as linhagens obtidas não manifestam heterose ou ela é baixa, ao passo que em grupos diferentes, os níveis de heterose esperados são altos (Souza Jr, 2001).

As populações podem possuir base genética ampla, formada por populações tradicionais, por compostos resultantes do inter cruzamento e recombinação de diversas populações, ou base genética estreita, sendo denominadas de sintéticas, produzidas pelo inter cruzamento e recombinação de um número reduzido de linhagens homocigóticas, ou mesmo pelo emprego de híbridos comerciais. Para a formação de novas populações base, as linhagens e as populações utilizadas são escolhidas em função de seus desempenhos *per se* e de suas combinações em cruzamentos com outros grupos heteróticos, além de se considerar a depressão por endogamia, selecionando aquelas menos sensíveis a depressão (Souza Jr, 2001).

2.3.2 Determinação da capacidade combinatória das populações

Além de obter as populações que possuam desempenho individual superior, é necessário identificar aquelas combinações que permitam extrair linhagens que gerem híbridos de alto potencial produtivo e com desempenho elevado para diferentes características. Para este fim, geralmente, são realizados cruzamentos *topcrosses*, por meio de linhagens elites testadoras, ou cruzamentos dialélicos que permitem

estimar os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC)

Os conceitos de CGC e CEC foram inicialmente apresentados por Sprague & Tatum (1942). As estimativas de CGC referem-se ao comportamento médio de cada genitor quando em cruzamento com os demais genitores, estando principalmente associada aos efeitos aditivos e epistáticos do tipo aditivo (Miranda Filho; Gorgulho, 2001; Fuzatto, 2003). Os genótipos que possuem melhores CGC's apresentam maior frequência de alelos favoráveis, resultando em melhor desempenho individual da linhagem devido aos efeitos aditivos da mesma (Vencovsky & Barriga, 1992), sendo ainda influenciada, parcialmente, pelos efeitos de dominância.

A CEC está associada a uma combinação particular entre dois genitores, cujo desempenho está acima ou abaixo do esperado com base apenas na média e a CGC dos genitores, estando associada aos efeitos de dominância e epistáticos que incluem a dominância (Miranda Filho; Gorgulho, 2001; Hallauer & Miranda Filho, 1995). Portanto, CEC é o desvio de um cruzamento em relação à média dos cruzamentos entre um grupo de genótipos (parentais), não explicado pela CGC, devido à combinação específica entre dois genótipos (parentais) (Falconer, 1987).

Não se deve levar em consideração somente os valores de CGC para a escolha dos genitores, pois estes nem sempre proporcionam o melhor híbrido. As combinações ideais são aquelas que apresentam as melhores estimativas de CEC e que envolvam pelo menos um dos genitores com CGC superior (Bordallo et al. 2005; Cruz & Vencovsky, 1989).

Baseadas nos conceitos de CGC e CEC diversas metodologias foram desenvolvidas para avaliação de genitores em cruzamentos. Destacam-se entre

essas metodologias os dialelos de Griffing (1956), Gardner & Eberhart (1966) e Hayman (1954) e suas variações.

Os cruzamentos dialélicos fundamentam-se nos possíveis cruzamentos entre os genitores, podendo-se empregar ou não o uso dos pais, cruzamentos recíprocos ou ainda gerações relacionadas como, por exemplo, a geração F_2 e retrocruzamentos. Estes esquemas de cruzamentos são amplamente utilizados em programas de melhoramento de milho para seleção de genitores e definição das melhores combinações híbridas. A partir da análise dialélica também se pode estimar os parâmetros úteis na seleção de genitores para hibridação; obter informações sobre o tipo de ação gênica envolvida no caráter de interesse e do potencial heterótico entre as linhagens (Oliboni et al., 2013; Cruz & Regazzi; Carneiro, 2012; Kostetzer, 2007; Teixeira et al., 2001).

Segundo Hallauer et al. (2010) e Cruz et al. (2004) e existem os seguintes tipos de dialelo:

- a) Dialelos balanceados completos: os tratamentos apresentam igual número de repetições e incluem os híbridos F_1 's entre todos os pares de combinações dos genitores, podendo-se incluir os genitores, seus híbridos recíprocos e, algumas vezes, outras gerações relacionadas;
- b) Dialelos parciais: envolvem dois grupos de genitores e seus respectivos cruzamentos, possibilitando aumentar as informações sobre grupos estudados com um número menor de cruzamentos;
- c) Dialelos circulantes: permitem obter informações sobre os genitores com um número menor de cruzamentos, todavia há uma perda de informação em determinadas combinações híbridas;

- d) Dialetos incompletos: os genitores são representados por um número variável de cruzamentos devido a fatores como a perda de tratamentos na condução do experimento, insuficiência de sementes ou também incompatibilidade de cruzamentos;
- e) Dialetos desbalanceados: todas as combinações híbridas e também as demais gerações, como genitores e recíprocos, estão representados, porém em número desigual de repetições por tratamento.

Na metodologia desenvolvida por Griffing (1956), os possíveis n genótipos podem ser avaliados reunindo-os em uma tabela $n \times n$, dividindo-a em três grupos: os n genitores, híbridos F_1 com $n(n-1)/2$ combinações e os híbridos recíprocos (F_1 's) com $n(n-1)/2$.

Esta metodologia pode ser classificada em quatro métodos:

- Método 1 – são incluídas as n^2 combinações;
- Método 2 – são incluídas as $n(n+1)/2$ combinações, faltando os F_1 's recíprocos;
- Método 3 – são incluídas as $n(n-1)$ combinações, faltando os progenitores;
- Método 4 – inclui somente os híbridos F_1 , com $n(n-1)/2$ combinações.

Ainda, segundo Cruz et al. (2004) cada um destes métodos pode ser analisado considerando um modelo fixo ou aleatório, dependendo da natureza amostral dos progenitores.

Trabalhando com dois genótipos de milho doce, um de milho comum, seus F_1 's e recíprocos em um dialelo completo Bordallo et al. (2005) constataram efeitos

significativos dos efeitos aditivos e não aditivos na para as características de peso médio de espigas sem palha e para comprimento médio de espigas sem palha. Para as duas características foi observada a predominância dos efeitos genéticos aditivos com relação a expressão do caráter. Esses resultados foram corroborados por Aragão (2002) e Lima (2003). Trabalhando com um dialelo envolvendo 12 híbridos comerciais de milho comum Oliboni et al. (2013) também encontraram resultado semelhante para produção de espigas despalhadas, altura de planta e altura de espiga. Também Bignotto et al. (2015) encontrou a mesma relação entre os efeitos aditivos de não-aditivos para a produtividade de grãos em um dialelo completo com oito genótipos de milho branco. A predominância dos efeitos aditivos também foi encontrada por Guimarães et al. (2007) e Paterniani et al. (2008) trabalhando com milho comum.

Rodrigues et al. (2009) utilizando oito linhagens endogâmicas de milho doce em um dialelo completo verificaram que para a produtividade de espigas empalhadas e produtividade de espigas comerciais houve predomínio dos efeitos de dominância no controle genético expressão dessas características. Resultado semelhante também foi encontrado por Oliveira et al. (2016) para a produtividade de grãos trabalhando com milho comum. Também Srdic et al. (2008) encontrou predominância de efeitos de dominância para peso de espiga com palha em um dialelo completo com seis linhagens de milho doce.

Em termos de magnitude dos valores para CGC e CEC, Kwiatkowski et al. (2011) em um dialelo completo com sete linhagens de milho doce observaram estimativas de peso de espiga com palha entre 989 kg ha⁻¹ e -561 kg ha⁻¹ para CGC e entre 831 kg ha⁻¹ e -1386 kg ha⁻¹ para CEC, com uma produtividade média variando entre 6052 a 3022 kg ha⁻¹. Rodrigues et al. (2009), encontraram valores de CGC para peso de espiga com palha entre 794 e -820 kg ha⁻¹ e CEC entre 5175 e -7871 kg ha⁻¹.

¹, com produtividade variando de 22727 e 7729 kg ha⁻¹. Embora, os efeitos de CGC e CEC apresentados sejam de efeitos fixos e não extrapoláveis para outras combinações nos revelam o quão amplas pode ser estas estimativas.

2.3.3 Uso de marcadores no melhoramento

Os marcadores de DNA são divididos em três categorias principais: os que empregam hibridização de moléculas de DNA, ampliações de segmentos de DNA (Reação em cadeia da Polimerase – *Polymerase Chain Reaction* -PCR) ou sequenciamentos de bases. Os marcadores moleculares são classificados em dominantes ou codominantes. Os marcadores codominantes possibilitam diferenciar indivíduos homozigotos e heterozigotos, o que não é possível com marcadores dominantes, para os quais apenas é possível identificar a presença ou ausência de um determinado alelo (Turchetto-Zolet et al., 2017).

O sistema de marcador genético envolvendo hibridização baseia-se na propriedade de pareamento de bases complementares. Este sistema permitiu o desenvolvimento de métodos que utilizam pequenos fragmentos de DNA como sondas para revelar polimorfismos apenas nas sequências homólogas à esta sonda. O polimorfismo deste marcador é baseado nos diferentes tamanhos de fragmentos gerados por enzimas de restrição, como exemplo tem-se o método de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*).

Diferentes técnicas para a análise de marcadores de DNA foram desenvolvidas a partir do surgimento da PCR, permitindo a amplificação de uma grande quantidade de uma sequência específica de DNA sem necessidade de clonagem, começando com apenas algumas moléculas da sequência alvo. Uma vantagem dos métodos de marcadores baseados em PCR sobre os métodos de marcadores baseados em

hibridização é que o último requer o isolamento de grandes quantidades de DNA. Entre os marcadores baseados em PCR, podemos citar, por exemplo: RAPD (*Random Amplified Polymorphism DNA*), ISSR (*Inter-simple sequence repeats*), SSR (*Simple Sequence Repeats*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) e *SNP's* (*Single Nucleotide Polymorphism*) (Turchetto-Zolet et al., 2017).

O marcador *SNP* (*Single Nucleotide Polymorphism*) corresponde ao polimorfismo entre indivíduos em um único par de nucleotídeos. Esse é o marcador com maior capacidade de detectar polimorfismo. No milho, por exemplo, estima-se a ocorrência de um entre cada 70 pares de base (Ramalho et al., 2012). Para o uso desses marcadores no estudo da variabilidade genética é preciso determinar quais sítios de nucleotídeos são variáveis, ou seja, constituem um *SNP*. Os *SNP's* ocorrem em genes, inclusive éxons, íntrons, regiões reguladoras e regiões não codificadoras. Quando o *SNP* ocorre em regiões codificadoras podem ser classificados em três grupos: *sinônimos*, se os alelos diferentes codificam o mesmo aminoácido, *não sinônimos*, se os dois alelos codificarem aminoácidos diferentes e *sem sentido* se um alelo codificar um alelo de parada e o outro codificar um aminoácido. Em geral, os *SNP's* são identificados por meio de sequenciamento de genomas de uma pequena amostra de indivíduos de uma espécie, pela comparação dessas sequências (Griffiths et al., 2013).

Embora as técnicas baseadas em PCR tenham alto potencial para automação e sejam amplamente empregadas, existe a limitação de se trabalhar com a amplificação por meio de clonagem prévia dos fragmentos de DNA em vetores de multiplicação em bactérias ou leveduras.

As técnicas de sequenciamento em larga escala eliminaram a necessidade dessa etapa de amplificação de segmentos, entre elas podemos destacar: o

pirosequenciamento com detecção de pirofosfato, o sequenciamento por ligação da tecnologia *SOLiD*, a metodologia de semicondutores Ion e o sequenciamento por síntese na tecnologia *Illumina*. Ainda, novos métodos vêm sendo constantemente testados, aprimorados ou ainda incorporados por outras tecnologias, tais como a tecnologia *Helicos*, o *Pacific Biosciences* e o *Oxford Nanopore*, que utilizam principalmente a premissa de sequenciamento de moléculas únicas em larga escala. Hoje em dia o chamado sequenciamento de nova geração (NGS – *Next Generation Sequencing*) permitiu aumentar consideravelmente a escala das análises genômicas, sequenciando e genotipando milhares de regiões e genomas de interesse em um único passo, gerando um grande volume de dados biológicos (*High Throughput Sequencing* -HTS).

Os eventos marcantes para o desenvolvimento dos métodos de sequenciamento de DNA, que culminaram nas principais técnicas conhecidas, podem ser cronologicamente organizados (Turchetto-Zolet et al., 2017) (Figura 2).

No caso do milho existem genomas de referência que possuem o posicionamento de marcadores *SNP*'s, um desses genomas é o B73. Esse genoma serve como referência para a localização dos *SNP*'s, possibilitando identificar se a localização dos marcadores utilizados está associada a regiões codificadoras. Estudos comparativos entre 274 linhagens de milho de diferentes bancos de germoplasma e o genoma de referência B73 indicaram a existência de algo em torno de 49585 *SNP*'s que apresentaram distinguibilidade entre as três possíveis combinações de base para o marcador, AA, AB e BB e podem ser considerados robustos. Esses marcadores cobrem um total de 17520 diferentes genes e alguns deles possuem vários marcadores aumentando a resolução para a identificação de haplótipos (Ganal et al., 2011).

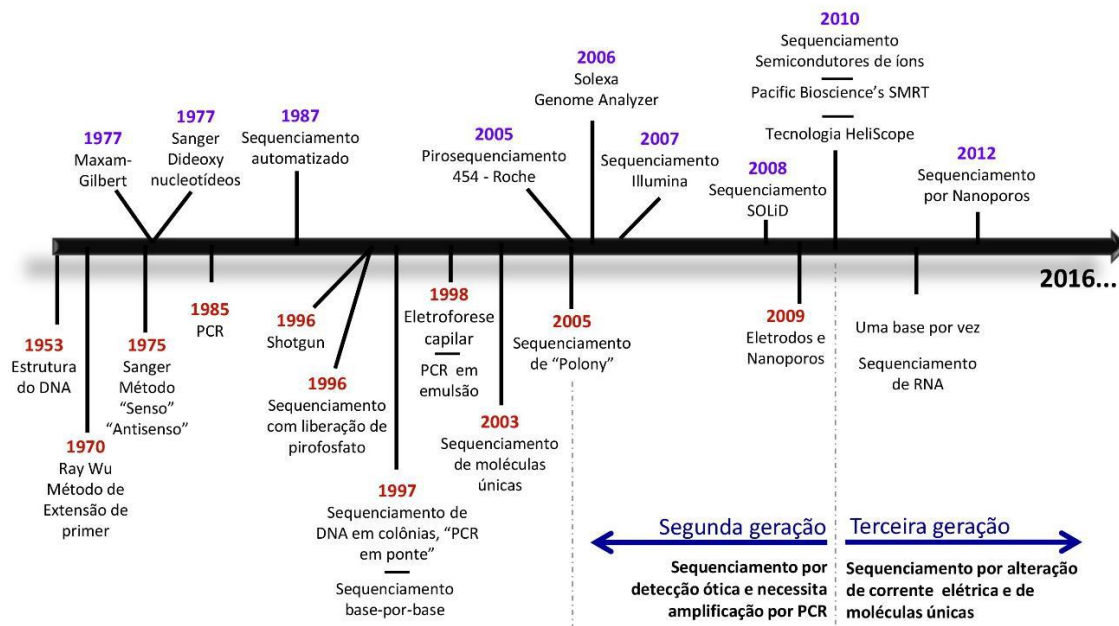


Figura 2 - Tecnologias de sequenciamento de DNA ao longo dos anos e as principais contribuições de metodologias moleculares para o desenvolvimento dos sequenciadores de DNA.

O volume de informações gerado sobre espécies de interesse econômico, como o milho, também levou ao desenvolvimento de técnicas para a manipulação e análise dessas informações genômicas. Pode-se citar três aspectos principais da análise genômica. O primeiro deles, a bioinformática, que consiste na análise das informações de genomas inteiros, o que inclui os números e tipos de genes de produtos gênicos, bem como a localização, os números e tipos de sítios de ligação no DNA e no RNA que permitem que os produtos funcionais sejam sintetizados no momento e locais corretos. O segundo, a genômica comparativa, que considera os genomas de espécies correlatas próximas e distantes a partir de uma percepção evolutiva, e permite que sequencias conservadas sejam usadas como um guia para se analisar a função gênica. A comparação pode ser feita também dentro da mesma

espécie a fim de se determinar a relação existente entre elas. A terceira, a genômica funcional, compreende o uso de uma variedade cada vez maior de métodos para se compreender a função gênica e delinear as redes de interações gênicas e de proteínas nos processos biológicos (Griffiths et al., 2013).

Um exemplo do quanto se evoluiu em relação a capacidade e velocidade de geração de dados genômicos é a primeira planta a ser sequenciada, a *Arabidopsis thaliana*, que consumiu aproximadamente 10 anos para ter o primeiro rascunho do seu genoma apresentado. Com a utilização da nova geração de sequenciadores de DNA (NGS), como *Oxford Nanopore*, *PacBio RS*, *Ion Torrent* and *Ion Proton*, programas de bioinformática bastante robustos e modelagem computacional, genomas inteiros podem ser sequenciados, montados e relacionados a características fenotípicas específicas de cada fenótipo em poucas semanas. Aliado a isso, tem-se a drástica redução nos custos de sequenciamento que vem possibilitando a geração de um volume cada vez maior de dados, possibilitando o profundo estudo dos genomas e o desenvolvimento de marcadores moleculares informativos (Borém & Fritsche-Neto, 2013).

A forma de relacionar os dados genômicos, quando se trata de genômica comparativa, também tem evoluído. Uma das medidas utilizadas para se avaliar o nível de divergência genética é o coeficiente de *Rogers* (Rogers, 1972). O coeficiente de *Rogers* é a distância euclidiana, que é dada pela diferença entre as frequências alélicas dos indivíduos, padronizada para valores entre 0 e 1. Para duas populações com coeficiente de *Rogers* igual a zero as frequências alélicas serão idênticas. A medida que o valor do coeficiente aumenta tem-se o aumento da divergência até chegar ao valor máximo quando as populações fixaram alelos contrastantes. Uma outra forma mais recente de se estudar a divergência é por meio da matriz de

correlação genômica (VanRaden, 2008). Esse modelo requer medidas de frequência alélica para a determinação dos coeficientes de endogamia, as relações de proximidade genética são obtidas a partir da contagem de *locus* em homozigose e de alelos compartilhados (VanRaden, 2008). Diferentemente da distância genética de Nei, quanto maior for o nível de divergência genômica menor será o valor da relação genômica.

À medida que se tem consideráveis volumes de informação a respeito do genótipo, um grande desafio é relacionar esses dados com os dados de fenótipo obtido em experimentos de campo. A aplicação de algoritmos tradicionais para agrupamento de genes apresenta algumas limitações, que decorrem da existência de grupos dependentes dos efeitos das condições experimentais em que a atividade dos genes é não correlacionada. Uma alternativa é o uso de métodos de agrupamento *biclustering*, eles buscam encontrar submatrizes da matriz de dados, ou seja, subgrupos de gene e subgrupos de condições em que os genes apresentam expressão altamente correlacionada em todo o subgrupo de condições (Higa et al., 2010). A escolha de um método para as análises de agrupamento *biclustering*, segundo Higa et al. (2010), deve levar em consideração a estrutura do modelo *biclustering* e testar qual calibração de parâmetros e qual algoritmo se adequa melhor a estrutura dos dados.

A evolução das técnicas de análise e de obtenção de dados tem sido acompanhada por estudos que se utilizam dessas técnicas. O uso isolado de índices de divergência, com o índice de *Jaccard*, e métodos de agrupamento como o *UPGMA*, não tem se mostrado capaz de prever o desempenho dos híbridos obtidos em termos de produtividade, mas para algumas situações a correlação da divergência genética com heterose e capacidade de combinação é positiva (Guimarães et al.,

2007; Paterniani et al., 2008). Posteriormente, um novo método baseado exclusivamente em marcadores que tiveram seus efeitos genéticos estimados a partir de dados fenotípicos e que apresenta alta acurácia seletiva para a seleção foi proposto por Meuwissen et al. (2001). Esse método é denominado de seleção genômica ampla ou GWS (*genomic wide selection*). Estudos a respeito dessa técnica foram realizados via simulação por Resende et al. (2008) mostrando que essa técnica tem um grande potencial de aumentar a eficiência do melhoramento. Para o melhoramento genético de milho Fritsche-Neto et al. (2012) demonstraram aumento significativo da acurácia seletiva e nos ganhos genéticos por unidade de tempo. Com base nos resultados foram propostos os métodos de Seleção Recorrente Genômica Recíproca e Seleção Recorrente Genômica Intrapopulacional para a implementação da GWS em milho.

A eficiência dos modelos utilizados na seleção genômica pode ser incrementada através do uso de matrizes de parentesco genômico, como a matriz de VanRaden (2008), uma vez que os efeitos genéticos genômicos aditivos dos indivíduos avaliados constituem os componentes aleatórios dos modelos mistos. Além disso, a eficiência também depende da densidade de marcadores e da extensão e padrão do desequilíbrio de ligação. Trabalhando com dois painéis distintos de milho tropical, um com 64 linhagens endogâmicas e outro com 452 híbridos, Santos (2016) utilizou diversos cenários de seleção com diferentes correlações de parentesco genômico encontrando melhor resultado na seleção com a matriz de Yang et al. (2010).

O uso de populações ou indivíduos contrastantes para uma determinada característica em estudos de mapeamento associativo pode auxiliar no entendimento da expressão da característica. Utilizando 64 linhagens de milho tropical contrastantes

para eficiência no uso de nitrogênio, Morosini et al. (2017) determinou regiões genômicas ligadas a expressão da eficiência do uso de nitrogênio.

Os estudos associativos entre genótipo e fenótipo também podem ser utilizados para o entendimento de processos metabólicos ligados a condições de estresse. As relações entre os perfis dos metabólitos gerado nas folhas de milho quando submetidos a situações de calor e seca foram estudados por Obata et al. (2015) procurando identificar o efeito desses metabólitos na produtividade.

Também é possível o uso de marcadores para monitorar o andamento de programas de melhoramento, Guimarães (2016) utilizou marcadores SSR-EST's (*Simple Sequence Repeat – Expressed Sequence Tags*), ou microssatélites funcionais para aferir os ganhos preditos para o Ciclo C-8 em comparação com os demais ciclos do programa de seleção recorrente com milho pipoca da UENF (Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro) e observou que ao longo dos ciclos de seleção recorrente, houve uma redução na heterozigosidade observada além de aumento da endogamia. Houve maior compartilhamento dos alelos com menor variabilidade o que garante ainda ganhos genéticos nos próximos ciclos seletivos.

Trabalhos para estudar CGC, CEC e heterose avaliando 36 híbridos de milho comum resultantes de um dialelo parcial e 12 linhagens parentais com o auxílio de marcadores microssatélites SSR e AFLP utilizando o coeficiente de *Jaccard* como medida de divergência genética entre os genótipos foram realizados por Guimarães et al. (2007) e Paterniani et al. (2008). O resultados do estudo da associação entre distância genética entre os parentais e as estimativas de heterose, capacidade específica de combinação e de produtividade revelaram estimativas de correlação não significativas, indicando que não seria adequado fazer inferência sobre o

comportamento dos híbridos de milho a partir da divergência genética das linhagens parentais (Paterniani et al., 2008). Contudo, foi observada correlação significativa entre a distância genética dos híbridos e a heterose. Porém, a distância genética não foi suficiente para determinar a capacidade específica de combinação nem a produtividade dos híbridos (Guimarães et al., 2007).

A partir de marcadores microssatélites SSR (simple sequence repetitive) e a divergência pelo coeficiente de *DICE*, Srdic et al. (2008) estimaram a divergência entre seis linhagens de milho doce e verificaram a ocorrência de correlação estatisticamente significativa entre CEC e a divergência genética.

Diante do exposto, pode-se dizer que as informações fenotípicas, que são essenciais ao entendimento do desempenho dos genótipos durante o decorrer do processo de melhoramento genético, ao serem associadas a informações genotípicas, como a composição alélica obtida através de genotipagem, podem contribuir no direcionamento dos processos de melhoramento, com maiores ganhos e mais assertividade nas decisões tomadas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção dos genótipos

Em 2014, durante a segunda safra do milho, na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina (FAZESC) (23°19'35"S, 51°11'59"W e 591 m de altitude) foram realizados cruzamentos dialélicos completos, segundo o Método IV de Griffing (1956), entre 10 populações homozigóticas para o gene *shrunk-2* (PD2001; PD2002; PD2003; SD3001; SD3002; SD3003; SD3004; SD3005; SD3006; SD3007), desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento Genético de Milho do Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Paraná.

As populações foram semeadas em fileiras de 6,00 m, dispostas lado a lado, para realização de pelo menos 30 cruzamentos manuais por fileira, com a finalidade de se obter pelo menos 50 espigas para cada combinação.

3.2 Preparo e condução dos experimentos

No laboratório, as espigas despalhadas dos cruzamentos recíprocos foram secadas em esteiras. Depois dos grãos atingirem 12 a 13% de água, as espigas foram debulhadas e as sementes misturadas e acondicionadas em sacos com identificação para cada cruzamento, para armazenamento em câmara fria, a 10°C e com 45% de umidade relativa do ar.

As 45 combinações híbridas e mais quatro testemunhas (PD2002, Balu01, Balu34 e Tropical Plus) foram avaliados em três ambientes da FAZESC, referentes às épocas de semeadura: 24/11/2014; 17/10/2016 e 02/12/2016, respectivamente.

O delineamento utilizado nos experimentos foi o de blocos completamente casualizados com três repetições, com parcelas de fileiras duplas de 4,00 m de comprimento, com espaçamento de 0,80 m entre fileiras e 0,20 m entre plantas. Na semeadura foram utilizadas 120 sementes por parcela, semeando três sementes por cova.

O desbaste foi realizado no estágio de V₄ a V₅ da cultura do milho, mantendo cinco plantas por metro linear, atingindo uma densidade populacional de 62500 plantas ha⁻¹. Os tratos culturais foram conforme as recomendações técnicas para a cultura do milho doce.

A colheita foi realizada quando os grãos apresentarem aproximadamente 75% de umidade, entre 30 e 35 dias após o florescimento. A colheita da primeira época foi realizada nos dias 11, 12 e 19/02/2015 sendo que em cada dia foi colhido um bloco do experimento. A colheita da segunda época foi feita nos dias 23, 24 e 25/01/2017 e a terceira nos dias 1, 2 e 3/03/2017.

A precipitação durante a realização do experimento foi distribuída irregularmente (Figura 3).

Precipitação acumulada a cada 5 dias (mm dia⁻¹)

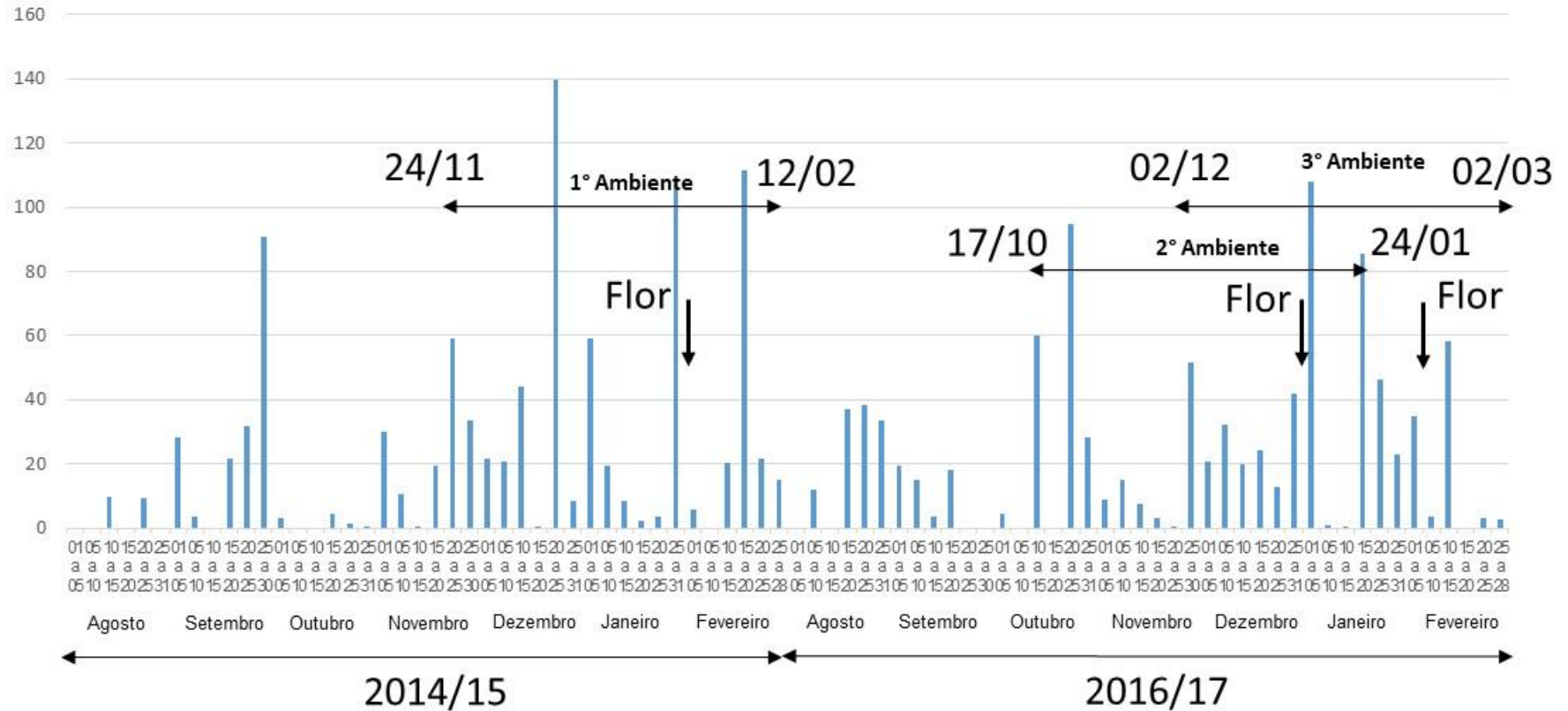


Figura 3 – Precipitação acumulada a cada cinco dias para os três ambientes com datas de plantio, florescimento e colheita.

3.3 Caracteres agronômicos avaliados

As características agronômicas avaliadas foram:

- a) **Número de dias para florescimento** (FL, em dias): definido pela média entre o florescimento masculino e o feminino, a partir da data de semeadura. A parte masculina foi considerada florescida quando 50% das plantas da parcela estavam liberando pólen e com 1/3 dos pendões com as anteras abertas. A parte feminina foi considerada como florescida quando 50% das plantas da parcela apresentaram estilo/estigmas com pelo menos 1,0 cm de comprimento, aproximadamente;
- b) **Altura média de plantas** (AP, em cm): determinada pela medida linear do nível do solo até a inserção da folha bandeira, em amostras de seis plantas representativas em cada parcela;
- c) **Altura média de espigas** (AE, em cm): obtida pela medida linear do nível do solo até a inserção da espiga principal, em amostras de seis plantas representativas em cada parcela;
- d) **Estande observado por parcela** (ST, em número de plantas): contagem do número de plantas na parcela;
- e) **Produtividade de espigas com palha em toneladas por hectare** (PECP, em $t\ ha^{-1}$): pesagem das espigas com palha colhidas de cada parcela, corrigida para estande ideal, e extrapolada para toneladas por hectare;
- f) **Produtividade de espigas sem palha em toneladas por hectare** (PESP, em $t\ ha^{-1}$): pesagem das espigas sem palha colhidas de cada parcela, corrigida para estande ideal, e extrapolada para toneladas por hectare;

- g) **Produtividade de grãos** (PG, em t ha⁻¹): pesagem dos grãos extraídos das espigas em estágio de milho verde de cada parcela, corrigida para estande ideal, e extrapolada para toneladas por hectare;
- h) **Comprimento de espiga** (CE, em cm): obtido pela média do comprimento de dez espigas representativas de cada parcela;
- i) **Diâmetro da espiga** (DE, em cm): determinado pela média do diâmetro das dez espigas representativas de cada parcela;
- j) **Número de fileiras de grãos** (NF): obtido pela média da contagem do número de fileiras de grãos de dez espigas representativas de cada parcela.

Os valores de PECP, PESP e PG foram corrigidos para um estande ideal de 40 plantas por parcela, utilizando a metodologia da covariância proposta por Vencovsky & Barriga (1992) e seu valor foi extrapolado para a produtividade de 62500 plantas por hectare (t ha⁻¹). Por meio das análises de variância e covariância para estande e produtividade, foi estimado o coeficiente de regressão linear b , obtido por $b = SP_{xy} / SQ_x$, onde: x é o estande observado na parcela (ST); y é a produtividade observada na parcela (P); SP_{xy} a soma de produtos residual da análise de covariância; SQ_x é a soma de quadrados residual da análise de variância para estande.

As correções foram obtidas pela seguinte expressão:

$$PC = P - b(ST - ST_i)$$

onde:

PC: Produtividade corrigida de espigas com palha, sem palha ou de grãos, respectivamente, com base no estande ideal da parcela;

P: produtividade de espigas com palha, sem palha ou de grãos, respectivamente, com base no estande observado na parcela;

b: Coeficiente de regressão linear;

ST: estande observado;

ST_i: estande ideal de 40 plantas por parcela.

3.4 Genotipagem das populações de milho superdoce

Foram utilizadas 25 sementes de cada uma das 10 populações do dialelo. As sementes foram acondicionadas em copos plásticos contendo turfa canadense como substrato e colocados em câmara de germinação sob fotoperíodo de 12 horas com temperatura de 27°C por um período de 7 dias. Foram coletados 16 discos foliares a partir de um *bulk* de 8 plantas, sendo amostrados dois discos por planta. As amostras foram mantidas em gelo até o final da coleta, sendo posteriormente congeladas a -80°C e liofilizadas para garantir a integridade do DNA.

O processo de extração do DNA foi realizado por meio do kit da *Qiagen* pela empresa *TraitGenetics*. As amostras foram genotipadas com 13188 marcadores *SNP*'s através da plataforma de genotipagem *Illumina Infinium 15k*.

3.5 Análise Estatística dos Dados

As análises estatísticas dos dados dos ensaios de campo foram inicialmente realizadas utilizando os softwares SAS (*Statistical Analysis System*), Genes e Excel. Posteriormente, as análises foram replicadas em Software R (R Core Team, 2017).

3.5.1 Normalidade dos dados Experimentais

Antes de se iniciar a análise de variância dos dados experimentais foi realizada a análise de resíduos, com a finalidade de verificar se os resíduos dos dados possuíam distribuição normal. O método utilizado foi o de Shapiro & Wilk (1965).

3.5.2 Análise de variância individual

Após verificar a normalidade dos resíduos, foi realizada a análise de variância individual (Tabela 1). O efeito de tratamentos foi desdobrado nas fontes variação testemunhas (T), híbridos experimentais (H) e o contraste híbridos experimentais versus testemunhas (H vs T).

As análises individuais seguiram o seguinte modelo:

$$Y_{jk} = m + t_j + b_k + e_{jk}$$

onde:

Y_{jk} : observação referente ao genótipo j na repetição k ;

m : média geral dos tratamentos;

t_j : efeito fixo do tratamento j ;

b_k : efeito aleatório do bloco k ;

e_{jk} : erro experimental associado ao valor observado Y_{jk} .

Os efeitos de híbridos experimentais foram desdobrados em efeitos de CGC e CEC, sendo as análises de variâncias realizadas com base em médias, segundo o método IV de Griffing (1956).

$$Y_{ii'} = \mu + g_i + g_{i'} + s_{ii'} + e_{ii'}$$

onde:

$Y_{ii'}$: valor médio do híbrido resultante do cruzamento entre a i -ésima e i' -ésima população.

μ : média geral dos cruzamentos dialélicos;

g_i : efeito da capacidade geral de combinação do i -ésima população;

$g_{i'}$: efeito da capacidade geral de combinação do i' -ésima população;

$s_{ii'}$: efeito da capacidade específica de combinação para os cruzamentos entre a i -ésima e i' -ésima populações;

$e_{ii'}$: erro experimental médio.

Para estimar os efeitos das capacidades combinatórias, geral e específicas, e suas respectivas somas de quadrados foi empregado o método dos quadrados mínimos e as equações normais $X'X\beta = X'Y$, derivadas do modelo linear $Y = X\beta + \varepsilon$, onde Y é o vetor dos dados de média observados para os híbridos experimentais; X é a matriz dos constantes dos valores de 0 e 1 relacionados aos parâmetros μ , g_i , $g_{i'}$ e s_{ij} ; β é vetor desses parâmetros; e ε é o vetor resultante dos erros associados às médias.

Tabela 1 – Análise de variância individual, envolvendo os híbridos interpopulacionais (H), a testemunha (T), o contraste híbridos interpopulacionais versus testemunha (H vs T), capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC).

Fonte de Variação	GL	QM	F
Bloco (B)	K-1	QM ₁	QM ₁ /QM ₃
Tratamentos (Trat)	J-1	QM ₂	QM ₂ /QM ₃
Híbridos (H)	[I(I-1)/2]-1	QM ₂₁	QM ₂₁ /QM ₃
CGC	I-1	QM ₂₁₁	QM ₂₁₁ /QM ₃
CEC	I(I-3)/2	QM ₂₁₂	QM ₂₁₂ /QM ₃
Testemunhas (T)	T-1	QM ₂₂	QM ₂₂ /QM ₃
H vs T	1	QM ₂₃	QM ₂₃ /QM ₃
Resíduo	(K-1)(J-1)	QM ₃	

3.5.3 Análise de variância conjunta

Para a realização da análise conjunta dos ambientes e das interações tratamentos x ambientes e seus respectivos desdobramentos (Tabela 2), foi verificada se há homogeneidade das variâncias residuais obtidas nas análises individuais pelo teste F máximo de Hartley (1950). Para esta análise foi utilizado o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{jkl} = m + (b/a)_{kl} + t_j + a_l + (ta)_{jl} + e_{jkl}$$

onde:

Y_{jkl} : observação referente ao tratamento j , no bloco k , no ambiente l .

m : média geral dos experimentos;

$(b/a)_{kl}$: efeito do k -ésimo bloco dentro do l -ésimo ambiente;

t_j : efeito do j -ésimo tratamento;

a_l : efeito do l -ésimo ambiente;

$(ta)_{ji}$: efeito da interação do j-ésimo tratamento com o l-ésimo ambiente;

e_{jkl} : erro aleatório.

Para a verificação de possíveis interações dos tratamentos e ambientes, com respectivos desdobramentos, foi realizada a análise conjunta de acordo com a metodologia apresentada por Miranda Filho & Vencovsky (1995).

Tabela 2 – Análise de variância conjunta envolvendo os híbridos interpopulacionais (H), a testemunha (T), os contrastes H vs T, a interação de tratamentos x ambiente (Trat x Amb) e seus respectivos desdobramentos.

Fonte de Variação	GL	QM	F
Bloco/Ambiente	$(K-1)L$	QM ₁	QM ₁ / QM ₅
Ambiente (A)	L-1	QM ₂	QM ₂ / QM ₁
Tratamentos (Trat)	J-1	QM ₃	QM ₃ / QM ₄
Híbridos (H)	$[I(I-1)/2]-1$	QM ₃₁	QM ₃₁ / QM ₄
CGC	I-1	QM ₃₁₁	QM ₃₁₁ / QM ₄
CEC	$I(I-3)/2$	QM ₃₁₃	QM ₃₁₃ / QM ₄
Testemunha (T)	T-1	QM ₃₂	QM ₃₂ / QM ₄
H vs T	1	QM ₃₃	QM ₃₃ / QM ₄
Trat x Amb	$(J-1)(L-1)$	QM ₄	QM ₄ / QM ₅
H x A	$\{[I(I-1)/2]-1\}(L-1)$	QM ₄₁	QM ₄₁ / QM ₅
CGC x A	$(I-1)(L-1)$	QM ₄₁₁	QM ₄₁₁ / QM ₅
CEC x A	$[I(I-3)/2](L-1)$	QM ₄₁₂	QM ₄₁₂ / QM ₅
(H vs T) x A	$(L-1)$	QM ₄₂	QM ₄₂ / QM ₅
T x A	$(T-1)(L-1)$	QM ₄₃	QM ₄₃ / QM ₅
Resíduo	$L(J-1)(K-1)$	QM ₅	

O procedimento de comparação de médias utilizado para formação de grupos que diferem estatisticamente entre si foi o procedimento de *Scott-Knott* (Scott & Knott, 1974).

Para a avaliação da qualidade experimental foi utilizado o coeficiente de variação, ou CV%, dado por:

$$CV\% = 100 \left(\frac{\sqrt{\sigma_e^2}}{\mu} \right)$$

onde:

σ_e^2 : variância média residual;

μ : média;

Também foi utilizada a acurácia seletiva proposta por Resende (2007) e Ramalho et al. (2012). A acurácia seletiva é dada pela seguinte equação:

$$r_{gg} = \sqrt{\frac{1}{1 + (CV_e^2 / CV_g^2) / r}}$$

onde:

r_{gg} : acurácia seletiva;

CV_e : coeficiente de variação experimental;

CV_g : coeficiente de variação genético;

r : número de repetições.

As estimativas de medidas de produtividade foram utilizadas para estimar as correlações entre si e as demais características por meio da correlação de Pearson.

3.5.4 Análise estatística dos dados moleculares

Como a amostragem para a genotipagem foi realizada na forma de *bulk*, cada amostra populacional continha a informação de presença ou ausência dos

alelos, sem a informação da frequência. Como os métodos de imputação de dados precisam da informação de frequência, foram removidos os *SNP*'s que apresentaram alguma falha ou resultados ambíguos segundo a tabela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) (Stothard, 2000). Após a remoção desses *SNP*'s foi criada a matriz de correlação genômica das populações. O método utilizado para a construção da matriz foi o de VanRaden (2008) segundo a equação:

$$G = \frac{XX'}{\sum_n^i 2p_i(1 - p_i)}$$

onde:

p_i : é frequência de um dos alelos do locus i ;

X : matriz de incidência de marcadores dos indivíduos, corrigida para a média em cada locus ($2p_i$).

Com os valores gerados foi confeccionado o *Heatmap* para a matriz de correlação genômica de VanRaden.

Para a avaliação da distância genética entre as dez populações foi construído um dendrograma, por meio do método *WARD* (Murtagh & Legendre, 2011), utilizando o coeficiente de *Rogers* (Rogers, 1972) entre eles, com a definição do número de agrupamentos do dendrograma (Charrad et al., 2014).

O coeficiente de *Rogers* é dado pela equação:

$$d_{xy} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^m \sqrt{\frac{1}{2} \sum_{i=1}^{mj} (p_{ij} - q_{ij})^2}$$

onde:

d_{xy} : é a distância de Rogers entre as populações X e Y ;

p_{ij} e q_{ij} : são as frequências do alelo i e no loco j nas populações X e Y ;

n : é o número de locos de contendo os alelos i estudados;

m : é o número de alelos;

Os valores de CEC para PECP, PESP e PG foram submetidos a uma correlação de *Pearson* com valores da matriz de correlação genômica e do coeficiente de *Rogers* para verificar a existência de correlação entre eles.

As análises estatísticas dos dados dos ensaios de campo foram inicialmente realizadas utilizando os softwares SAS (*Statistical Analysis System*), Genes e Excel. As análises estatísticas dos dados moleculares foram realizadas no software R (R Core Team, 2017), utilizando os pacotes *snpReady* (Granato & Fritsche-Neto, 2017), *poppr* (Kamvar et al., 2014), *NbClust* (Charrad et al., 2014) e *fBasics* (Wuertz et al., 2017).

4 RESULTADOS

4.1 Artigo - Índices de divergência genética e capacidade combinatória em dialelos de milho superdoce

Índices de divergência genética e capacidade combinatória em dialelos de milho superdoce

Renato Gonçalves de Oliveira

Artigo a ser submetido para a revista Genetics and Molecular Biology (GMB).

RESUMO

A identificação do potencial de populações base para o melhoramento individual e em cruzamentos é uma fase determinante no melhoramento genético. O uso de ferramentas moleculares pode auxiliar na identificação das melhores combinações utilizando a divergência genética. Nesse trabalho foram avaliadas 10 populações de milho superdoce em um dialelo completo, em blocos ao acaso com três repetições, em três ambientes, e marcadores *SNP*'s com o objetivo de determinar o potencial genético dos genitores, as suas capacidades combinatórias e a existência de associação da capacidade de combinação específica e divergência genética. As combinações mais promissoras são SD3004xSD30005 e SD3006XSD3007 para a obtenção de linhagens e formação de híbridos. As populações SD3004, SD3005 e SD3006 apresentam as melhores estimativas de capacidade geral de combinação e estão presentes nas combinações com melhor desempenho para as características de produtividade e capacidade específica de combinação nos diferentes ambientes. Os agrupamentos segundo a correlação genômica de *VanRaden* são eficientes para indicar combinações híbridas superiores para produtividade com alta taxa de assertividade. A associação entre estimativas da capacidade específica de combinação e correlação genômica de *VanRaden* é maior quando comparada com a correlação usando o coeficiente de *Rogers*.

INTRODUÇÃO

O milho superdoce (*Zea mays* L. var. *saccharata*), botanicamente idêntico ao milho comum, é caracterizado pelo maior acúmulo de açúcar no endosperma. Essa característica advém de mutações naturais em genes envolvidos na síntese do amido, podendo-se citar os genes: *sugary enhancer-1* (*se₁*), localizado no cromossomo 2;

shrunk-2 (*sh₂*) no cromossomo 3; *brittle-2* (*bt₂*) e *sugary-1*(*su₁*), ambos no cromossomo 4, *amylose extender* (*ae₁*) e *brittle-1* (*bt₁*), ambos no cromossomo 5; *waxy-1* (*wx₁*) no cromossomo 9 e *dull-1* (*du₁*) (Aragão, 2002; Luz et al., 2014). De acordo com Parentoni et al. (1990), o milho doce apresenta alto valor nutricional além de características próprias como sabor adocicado, pericarpo fino e endosperma com textura delicada. A produção de milho superdoce apresenta uma grande diversificação de uso, podendo ser utilizada para o consumo *in natura*, na forma de milho verde, ou para indústrias de conservas (Oliveira Jr. et al., 2006), sendo esta última a maior demanda no Brasil.

O milho superdoce é considerado, no melhoramento genético, como uma hortaliça em função das exigências sensoriais como: cor, maciez e sabor. Contudo, as estratégias utilizadas para o seu melhoramento são semelhantes às empregadas em milho comum (Parentoni et al., 1990), devendo atender as exigências da indústria de conservas, consumidores *in natura* e aos produtores, quanto produtividade, qualidade, uniformidade e tolerância a pragas e doenças (Barbieri & Souza Jr, 2008).

Neste contexto, os híbridos de linhagens são os genótipos que melhor atendem estas exigências. Assim, é fundamental a identificação de populações que possuam desempenho individual superior e capacidade combinatória que maximizem a oportunidade da síntese de linhagens que gerem híbridos de alto potencial produtivo e com desempenho elevado para diferentes características exigidas. Para isto, os dialelos tem sido extensamente utilizados e permitem estimar os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC), que orientam a seleção de genitores e definição das melhores combinações híbridas (Cruz et al., 2004; Oliboni et al., 2013). Além disto, as estimativas de CGC e CEC permitem caracterizar o tipo de ação gênica predominante para as

características de interesse, auxiliando no direcionamento do programa de melhoramento (Cruz et al., 2004).

Cada vez mais, ferramentas genético moleculares, que aliam o estudo da associação entre genótipo e fenótipo voltados para o melhoramento tem promovido o desenvolvimento de novas técnicas que podem aumentar a acurácia e a eficiência de programas de melhoramento (Ramalho et al., 2012; Borém & Fritsche-Neto, 2013; Griffiths et al., 2013). Dentre estes, os marcadores moleculares *SNP*'s tem se destacado por propiciar alta cobertura dos genomas e podem ajudar a definir as melhores combinações com base em índices de divergência genética como o índice de correlação genômica de VanRaden (2008). Estudos sobre a estrutura populacional utilizando marcadores *SNP*'s têm auxiliado na determinação de quais métodos ou modelos são mais eficientes para agrupar genótipos geneticamente similares e separar os divergentes, com intuito de melhor explorar a heterose em combinações híbridas, maximizando o aproveitamento do potencial dos genótipos no melhoramento (De Andrade et al., 2016; Matias et al., 2017; Mendonça et al., 2017).

Assim, os objetivos foram determinar a predominância dos efeitos gênicos; determinar a capacidade combinatória de 10 populações de milho superdoce em um dialelo completo; identificar a predominância dos efeitos gênicos; identificar a existência de associação entre a produtividade e diferentes características; estimar a divergência genética entre essas 10 populações utilizando marcadores *SNP*'s; identificar a existência de associação entre capacidade específica de combinação para características de produtividade e os índices de divergência genética.

MATERIAL E MÉTODOS

Em 2014, durante a segunda safra do milho, na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina (FAZESC) (23°19'35"S, 51°11'59"W e 591 m de altitude) foram realizados cruzamentos dialélicos completos, segundo o Método IV de Griffing (1956), entre 10 populações homozigóticas para o gene *shrunken-2* (PD2001; PD2002; PD2003; SD3001; SD3002; SD3003; SD3004; SD3005; SD3006; SD3007), desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento Genético de Milho do Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Londrina, Paraná. As 45 combinações híbridas e mais quatro testemunhas (PD2002, Balu01, Balu34 e Tropical Plus) foram avaliados em três ambientes da FAZESC, referentes às épocas de semeadura: 24/11/2014; 17/10/2016 e 02/12/2016, respectivamente. O delineamento utilizado nos experimentos foi o de blocos completamente casualizados com três repetições, com parcelas de fileiras duplas de 4,00 m de comprimento, com espaçamento de 0,80 m entre fileiras e 0,20 m entre plantas, atingindo uma densidade populacional de 62500 plantas ha⁻¹. Os tratos culturais foram conforme as recomendações técnicas para a cultura do milho doce.

A colheita foi realizada quando os grãos apresentarem aproximadamente 75% de umidade, entre 30 e 35 dias após o florescimento. A colheita da primeira época foi realizada nos dias 11, 12 e 13/02/2015 sendo que em cada dia foi colhido um bloco do experimento. A colheita da segunda época foi feita nos dias 23, 24 25/01/2017 e a terceira nos dias 1, 2 e 3/03/2017.

As características agrônômicas avaliadas foram: produtividade de espigas com palha (PECP), produtividade de espigas sem palha (PESP), produtividade de grãos em estágio de milho verde (PG), número de fileira de grãos, número de dias para

florescimento, diâmetro de espiga, comprimento de espiga, altura de plantas, altura de espigas.

Os valores de PECP, PESP e PG foram corrigidos para um estande ideal de 40 plantas por parcela, utilizando a metodologia da covariância proposta por Vencovsky & Barriga (1992) e seu valor foi extrapolado para a produtividade de 62500 plantas por hectare ($t\ ha^{-1}$).

O procedimento de comparação de médias foi feito segundo Scott & Knott, (1974).

Os efeitos de híbridos experimentais foram desdobrados em efeitos de CGC e CEC, sendo as análises de variâncias e estimativas de parâmetros genéticos realizadas com base em médias, segundo o método IV de Griffing (1956), $Y_{ij} = \mu + g_i + g_{i'} + s_{ij} + e_{ij}$, onde: Y_{ij} = valor médio do híbrido resultante do cruzamento entre a i -ésima e i' -ésima população; μ = média geral dos cruzamentos dialélicos; g_i = efeito da capacidade geral de combinação do i -ésima população; $g_{i'}$ = efeito da capacidade geral de combinação do i' -ésima população; s_{ij} = efeito da capacidade específica de combinação para os cruzamentos entre a i -ésima e i' -ésima populações e e_{ij} = erro experimental médio.

Para estimar os efeitos das capacidades combinatórias, geral e específicas, e suas respectivas somas de quadrados foi empregado o método dos quadrados mínimos e as equações normais $X'X\beta = X'Y$, derivadas do modelo linear $Y = X\beta + \varepsilon$, onde Y é o vetor dos dados de média observados para os híbridos experimentais; X é a matriz dos constantes dos valores de 0 e 1 relacionados aos parâmetros μ , g_i , $g_{i'}$ e s_{ij} ; β é vetor desses parâmetros; e ε é o vetor resultante dos erros associados às médias.

Uma vez verificada a homogeneidade das variâncias residuais obtidas pelo teste F máximo de Hartley (1950), foi realizada a análise conjunta de acordo com a metodologia apresentada por Miranda Filho & Vencovsky (1995).

Para a avaliação da qualidade experimental foi utilizado o coeficiente de variação e a acurácia seletiva (Resende, 2007; Ramalho et al., 2012; Zimmermann, 2014).

A existência de associação entre PECP, PESP e PG com as demais características foi testada pela correlação de Pearson e foi construída uma rede de correlação para ilustrar a associação entre as características (Epskamp et al., 2012).

Para a genotipagem foram utilizadas 25 sementes de cada uma das 10 populações genitoras do dialelo. Foram coletados 16 discos foliares a partir de um *bulk* de 8 plantas, sendo amostrados dois discos por planta. As amostras foram liofilizadas para garantir a integridade do DNA. O processo de extração do DNA foi realizado através do kit da *Qiagen* pela empresa *TraitGenetics*. As amostras foram genotipadas com 13188 marcadores *SNP*'s, por meio da plataforma de genotipagem *Illumina Infinium 15k*. Como a amostragem para a genotipagem foi realizada na forma de *bulk*, cada amostra populacional continha a informação de presença ou ausência dos alelos sem a informação da frequência. Como os métodos de imputação de dados precisam da informação de frequência, foram removidos os *SNP*'s que apresentaram alguma falha ou resultados ambíguos segundo a tabela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) (Stothard, 2000). Após a remoção desses *SNP*'s foi criada a matriz de correlação genômica das populações (VanRaden, 2008). Com os valores gerados foi confeccionado o *Heatmap* para a matriz (Barter & Yu 2017).

Foi construído um dendrograma através do método *WARD* (Murtagh & Legendre, 2011), utilizando o coeficiente de *Rogers* (Rogers, 1972) entre eles, definindo o número de agrupamentos do dendrograma (Charrad et al., 2014).

Os valores de CEC para PECP, PESP e PG foram submetidos a uma correlação de *Pearson* com valores da matriz de correlação genômica e do coeficiente de *Rogers* para verificar a existência de correlação entre eles.

As análises estatísticas dos dados dos ensaios de campo foram realizadas utilizando os softwares *Statistical Analysis System* (SAS), Genes e Excel. As análises estatísticas dos dados moleculares foram realizadas no software R (R Core Team, 2017), utilizando os pacotes *snpReady* (Granato & Fritsche-Neto, 2017), *poppr* (Kamvar et al., 2014), *NbClust* (Charrad et al., 2014), *fBasics* (Wuertz et al., 2017) e *qgraph* (Epskamp et al., 2012).

RESULTADOS

Análise de variância conjunta

Os valores de acurácia seletiva estão entre 0,88 e 0,94, classificando os dados experimentais como sendo de precisão alta e muito alta para aqueles com valores acima de 0,9 (Resende, 2007). As estimativas de coeficiente de variação estão entre 1,62% e 12,36%, indicam também adequada precisão experimental (Tabela 3).

Os resultados da análise de variâncias conjunta de ambientes revelam diferenças significativas de ambiente para a maioria das características (Tabela 3). O efeito de tratamento foi significativo para todas as características avaliadas, assim como para os efeitos de híbridos e testemunhas. O contraste testemunha versus híbrido foi não significativo para as características de produtividade: peso de espigas com palha, peso de espigas sem palha e peso de grãos. Quanto ao desdobramento

do efeito de híbrido, a CGC foi significativa para todas as características avaliadas e CEC só não foi significativa para altura de espigas. A interação tratamento x ambiente foi significativa para a maioria das características, com exceção da altura de planta e de espiga. A interação testemunha x ambiente foi significativa para as características de produtividade e número de dias para o florescimento. A interação híbrido x ambiente foi significativa para as características de produtividade, diâmetro de espiga e altura de planta. A interação CGC x ambiente foi significativa para essas mesmas características, com exceção da altura de planta. A interação CEC x ambiente não foi significativa para nenhuma das características avaliadas. A interação do contraste (testemunha versus híbrido) x ambiente foi significativa apenas para o número de dias para o florescimento. Ao comparar as magnitudes dos efeitos aditivos e não aditivos observa-se a predominância dos efeitos aditivos para todas das características avaliadas (Tabela 3).

Procedimento de agrupamento de médias de Scott-Knott

O agrupamento de médias pelo teste de *Scott-Knott* revela que as testemunhas Balu34, Balu01 e 16 híbridos do dialelo apresentaram os melhores desempenhos para produtividade de espiga com e sem palha nos três ambientes, com média de 21,75 t ha⁻¹ para produtividade de espigas com palha (Tabela 4). Esses 16 híbridos são formados pelas combinações da população SD3004 com PD2001, PD2002, SD3001, SD3002, SD3007; população SD3005 com PD2001, PD2002, SD3001, SD3002, SD3007; população SD3006 com PD2002, SD3001, SD3002, SD3007; SD3007xPD2002 e SD3002xPD2002. Dessas combinações híbridas SD3004xSD3005 e SD3006xSD3007 se mantiveram, em todos os ambientes, nos grupos com maior produtividade de grãos de milho verde. Para as demais

características avaliadas, os 16 híbridos apresentaram um valor médio ligeiramente inferior de número de fileiras, diâmetro e comprimento de espigas quando comparados à testemunha com melhores desempenhos, o híbrido Balu34.

Capacidade Geral de Combinação

As melhores estimativas de CGC para o conjunto das características avaliadas, nos diferentes ambientes, revelam uma superioridade das populações SD3004, SD3005 e SD3006 (Tabela 5), com uma predominância de efeitos com contribuição favorável no desempenho do conjunto de híbridos em que participam, chegando a contribuir com mais de 1500, 1110 e 800 kg ha⁻¹ para PECP, PESP e PG, respectivamente. No geral, estas três populações apresentam estimativas de CGC predominantemente favoráveis para as demais características, com exceção de SD3004 para altura de planta e espigas e SD3005 para comprimento de espigas.

Capacidade Específica de Combinação

Das 45 combinações híbridas do dialelo, 23 apresentaram estimativas positivas de CEC para as três características de produtividade, com valor máximo igual a 1716 kg ha⁻¹ (Tabela 6). Entre as demais características, embora tenha havido efeito significativo de CEC, somente para altura de planta são observadas estimativas mais expressivas, com valores entre -16,3 a 9,8 cm.

Correlações entre as características avaliadas

As estimativas de correlações para as características de produtividade PECP, PESP e PG foram realizadas de forma individual para cada ambiente, sendo as correlações destas com as demais características obtidas com base na média dos

tratamentos nos três ambientes (Tabela 5). Entre as características de produtividade existe maior correlação entre PECP e PESP (0,94) e entre PESP e PG (0,95), sendo menor entre PECP e PG (0,80) (Figura 4(a)). Quanto a correlação entre produtividade e as demais características, observa-se maior associação positiva entre PECP com diâmetro de espiga, comprimento de espiga e altura de planta (Figura 4(b)); associação positiva entre PESP e diâmetro de espiga, comprimento de espiga, número de fileiras e negativa entre PESP e número de dias para o florescimento (Figura 4(c)); correlações positivas entre PG e diâmetro de espigas, número de fileiras, comprimento de espiga e negativa entre PG e número de dias para o florescimento (Figura 4(d)).

Análise dos Dados Moleculares

Partindo de total de 13188 *SNP*'s foram utilizados 4798 *SNP*'s que atenderam aos critérios de corte adotados. Foi construída a matriz de relação genômica (VanRaden, 2008) para as dez populações do dialelo. O gráfico *heatmap* para essa matriz mostra a relação genômica entre as populações (Figura 5). No caso das populações utilizadas pode-se observar a formação de três grupos distintos, no primeiro grupo estão as populações PD2001, PD2002, PD2003 e SD3007. No segundo grupo estão as populações SD3006, SD3004, SD3005 e SD3003. No terceiro estão as populações SD3001 e SD3002. O índice de correlação genômica de VanRaden para essas combinações variou de -0,334 a 0,411 (Tabela 7).

O dendrograma foi construído pelo método *WARD*, utilizando o coeficiente de *Rogers* (Figura 7). O número de grupos foi definido como dois pelo pacote *NbClust* (Charrad et al., 2014) (Figura 6). Em um dos grupos ficaram as populações SD3007, SD3001, PD2001, PD2002 e PD2003, no outro grupo estão as populações SD3002,

SD3003, SD3004, SD3005 e SD3006 (Figura 7). O coeficiente de *Rogers* para esse grupo de genótipos variou de 0,185 a 0,418 (Tabela 7).

Correlação entre os Índices de Divergência

As correlações entre as estimativas dos índices de divergência genética e CEC para PECP, PESP e PG foram significativas (Tabela 7). Isto revela que, quanto maior o valor do coeficiente de *Rogers*, maior é o valor da estimativa de CEC. Por outro lado, a correlação entre as estimativas da correlação genômica de *VanRaden* e CEC para PECP, PESP e PG foram negativas e significativas, com valores variando de -0,63 a -0,76, mostrando que quanto menor o coeficiente de correlação genômica maior será a estimativa de CEC.

Das 23 combinações híbridas do dialelo que apresentaram CEC positiva para as três características de produtividade, 17 delas são formadas por populações que foram dispostas em grupos diferentes segundo a correlação genômica de *VanRaden*. Dentre os 16 melhores híbridos do dialelo para as características de produtividade, 10 apresentam as melhores estimativas de CEC, sendo eles: PD2002xSD3005, PD2002xSD3006, PD2002xSD3007, SD3001xSD3004, SD3001xSD3004, SD3001xSD3006, SD3002xSD3006, SD3003xSD3005, SD3004xSD3005, SD3005xSD3007 e SD3006xSD3007. Dessas 10 combinações híbridas, sete envolvem populações alocadas em diferentes grupos segundo a correlação genômica de *VanRaden*, com apenas três oriundos de cruzamentos de populações pertencentes ao mesmo grupo: PD2002xSD3007, SD3003xSD3005 e SD3004xSD3005 (Figura 5).

DISCUSSÃO

Os efeitos significativos para tratamentos e seu desdobramento para testemunhas e híbridos e seus contrastes e interações com ambiente, aliados ao bom desempenho dos híbridos interpopulacionais, evidenciam a existência de combinações híbridas superiores no dialelo, sendo competitivos com os melhores desempenhos das testemunhas comerciais utilizadas. O fato destes cruzamentos serem híbridos interpopulacionais e não de linhagens, como nas testemunhas comerciais, tornam ainda mais importantes os resultados observados e revelam o potencial dessas populações de milho superdoce para uso em programas de melhoramento genético.

O contraste entre testemunhas versus os híbridos do dialelo foi não significativo para as características de produtividade e comprimento de espigas, com interação significativa deste contraste com ambiente para dias para o florescimento, indicando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os desempenho médios dos híbridos e das testemunhas.

Os efeitos significativos da interação tratamento x ambiente revelam que os genótipos e a suas combinações híbridas tem desempenhos diferentes nos ambientes. Contudo, as combinações SD3004xSD3005 e SD3006xSD3007 destacam-se das demais nos três ambientes, ficando sempre no agrupamento das mais produtivas para as três características de produtividade, mostrando um desempenho bastante consistente. A combinação SD3004xSD3005 apresentou médias entre 20,9 e 26,0 t ha⁻¹ para produtividade espigas com palhas e de 5,8 a 13,6 t ha⁻¹ para produtividade de grãos e, na mesma ordem, SD3006xSD3007 apresentou valores ente 21,4 e 22,3 t ha⁻¹ e de 6,9 a 12,7 ton ha⁻¹, respectivamente. Avaliando seis híbridos simples experimentais de milho superdoce da Syngenta, Luz et al. (2014)

obteve valores de produtividades médias de espigas com palha entre 21,79 a 24,38 t ha⁻¹ e para peso de grãos de 8,87 a 11,70 t ha⁻¹.

A maior importância observada da CGC indicam o predomínio dos efeitos aditivos para todas as características avaliadas e que existem genótipos com maior acúmulo de alelos favoráveis, sendo mais favoráveis a extração de linhagens e seus efeitos genéticos transmitidos para a próxima geração (Vencovsky & Barriga, 1992; Ramalho et al., 2012). Esse resultado encontrado é similar aos resultados encontrados por Bordallo et al. (2005), Oliboni et al. (2013) e Bignotto et al. (2015) que também observaram a predominância dos efeitos genéticos aditivos e se contrapõe aos resultados obtidos Rodrigues et al. (2009) e Oliveira et al. (2016) onde houve predominância dos efeitos não aditivos com relação as características de produtividade. Embora predominem os efeitos aditivos, com exceção da altura de espiga, os efeitos não aditivos foram significativos para as características avaliadas, mostrando que existe uma parte importante a ser explorada na produção de híbridos de linhagens, obtidas a partir das populações com desempenho superior nestes cruzamentos.

As populações SD3005, SD3006 e SD3004 se destacaram em relação a CGC e ficaram agrupadas no grupo 2, segundo a correlação genômica de VanRaden, juntamente com a população SD3003. As estimativas de CGC para produtividade de espigas com palha deste trabalho tiveram variação semelhante as observadas por Kwiatkowski et al. (2011), ao avaliar um dialeto completo de linhagens de milho superdoce, mas com desempenho de produtividade inferiores aos híbridos interpopulacionais aqui avaliados.

Os valores de CEC obtidos são inferiores aos resultados obtidos por Rodrigues et al. (2009), considerando as maiores estimativas positivas obtidas, e similares aos obtidos por Kwiatkowski et al. (2011).

As estimativas de associação entre as características de produtividade PECP, PESP e PG, embora apresentem variação nos ambientes, apresentam valores altos. Estes resultados revelam que para a seleção visando a produtividade de grãos é melhor avaliar a produtividade de espiga sem palha, para maior assertividade da seleção. Contudo, talvez devido a maior praticidade, alguns trabalhos da literatura envolvem avaliações de produtividade de espigas com palhas (Srdic et al., 2008); ao invés de apresentarem produtividade de espigas sem palha (Bordallo et al. 2005; Kwiatkowski et al., 2011) e peso de grãos (Guimarães et al., 2007; Luz et al., 2014).

As estimativas de associação entre os índices de divergência, índice de correlação genômica de VanRaden e o coeficiente de *Rogers*, e a CEC foram estatisticamente significativos, assim como os resultados obtidos por Srdic et al. (2008), apesar deles terem utilizado marcadores microssatélites SSR e o coeficiente de *DICE* para estimar a divergência genética. Os resultados obtidos neste trabalho vão ao encontro das observações de Guimarães et al. (2007), mas contrastam com os resultados obtidos por Paterniani et al. (2008), ambos utilizaram marcadores AFLP e SSR e o índice de Jaccard, como medida de divergência genética.

Os valores de associação obtidos para a correlação dos índices de divergência genética com CEC foram maiores para o índice de correlação genômica de *VanRaden*, mostrando que esse parâmetro é mais assertivo para identificação de cruzamentos com melhores estimativas de CEC. Embora segundo Paterniani et al. (2008) não seja adequado fazer inferência sobre o comportamento dos híbridos a partir da divergência genética dos parentais, a matriz genômica de *VanRaden*, além

de fornecer índices de correlação genômica, permitiu a formação de grupos de populações geneticamente similares. Esses grupos foram formados com base nas frequências alélicas e nos alelos compartilhados (VanRaden, 2008) e conseguem indicar com eficiência as combinações híbridas entre grupos superiores para produtividade. Embora os genótipos agrupados dentro do mesmo grupo pelo método de *VanRaden* possuam alelos compartilhados, a diferença de frequência desses alelos pode resultar em um nível de divergência genética alta o suficiente para propiciar elevadas estimativas de CEC. Isso pode ser observado na combinação SD3004xSD3005, que embora pertençam ao mesmo grupo segundo *VanRaden*, apresentam estimativas de CEC superiores para as características de produtividade.

Dos 16 híbridos interpopulacionais com desempenho superior, 13 deles são oriundos de cruzamentos intergrupos e apenas três provêm de cruzamento entre populações do mesmo grupo. Além disso a matriz de correlação genômica, através do *heatmap*, permite visualizar de forma clara a formação de grupos geneticamente próximos, ou padrões heteróticos.

O dendrograma *WARD* construído a partir do coeficiente de Rogers, que teve seu número de grupos definido em dois, apresenta formação de grupos semelhantes ao agrupamento segundo VanRaden. A diferença, com relação ao grupamento de VanRaden, está no fato de que as populações SD3001 e SD3002 que não formaram um novo grupo, mas foram inseridas dentro de outros dois grupos estabelecidos pela metodologia de VanRaden. Contudo se mantiveram em grupos diferentes daquelas populações com as quais formam combinações com altas estimativas de CEC.

A partir dos resultados é possível concluir que há predominância dos efeitos aditivos com relação aos não aditivos para PECP, PESP, PG, NF, DE, CE, FLOR, AP, e AE; as combinações mais promissoras são a SD3004xSD3005 e SD3006xSD3007

para a obtenção de linhagens e formação de híbridos; as populações SD3004, SD3005 e SD3006 apresentam as melhores estimativas de CGC e estão presentes nas combinações híbridas com melhor desempenho para as características de produtividade, com melhores estimativas de CEC nos diferentes ambientes; a maioria dos melhores híbridos do dialelo são oriundos de cruzamentos entre populações alocadas em diferentes grupos com base na correlação genômica de *VanRaden*; os agrupamentos segundo a correlação genômica de *VanRaden* são eficientes para indicar as combinações híbridas superiores para produtividade com alta taxa de assertividade; existe maior associação entre as estimativas da CEC e a correlação genômica de *VanRaden* do que entre o coeficiente de *Rogers* e CEC.

Agradecimentos

Ao programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, a Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina e a Tropical Melhoramento e Genética pelo apoio para a realização deste trabalho.

Bibliografia

DE ANDRADE, L. R. B.; FRITSCHÉ-NETO, R.; GRANATO, I. S. C.; et al. Genetic vulnerability and the relationship of commercial germplasms of maize in Brazil with the nested association mapping parents. **PLoS ONE**, v. 11, n. 10, p. 1–14, 2016.

ARAGÃO, C. A. **Avaliação de híbridos simples de milho super doce (*Zea mays* L.) portadores do gene *shrunken-2*, utilizando o esquema dialélico parcial**, 2002. Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

ARAGÃO, C. A. **Avaliação de híbridos simples de milho super doce (*Zea mays* L.) portadores do gene *shrunken-2*, utilizando o esquema dialélico parcial.**, 2002.

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

BARTER, R. ; YU, B. superheat: A Graphical Tool for Exploring Complex Datasets Using Heatmaps. , 2017.

BIGNOTTO, L. S.; SCAPIM, C. A.; JOSÉ, R.; et al. Evaluation of combining ability in white corn for special use as corn grits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, p. 258–264, 2015.

BORDALLO, P. N.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; GABRIEL, A. C. Análise dialélica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 123–127, 2005.

BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. **Ômicas 360°: aplicações e estratégias para o melhoramento de plantas**. 1º ed. Viçosa MG: Editora UFV, 2013.

CHARRAD, M.; GHAZZALI, N.; BOITEAU, V.; NIKNAFS, A. NbClust : An R Package for Determining the Relevant Number of Clusters in a Data Set. **Journal of Statistical Software**, v. 61, n. 6, 2014.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, J. R. P. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. 3º ed. Viçosa: UFV, 2004.

EPSKAMP, S.; CRAMER, A. O. J.; WALDORP, L. J.; SCHMITTMANN, V. D.; BORSBOOM, D. qgraph: Network Visualizations of Relationships in Psychometric Data. **Journal of Statistical Software**, v. 48, n. 4, p. 1–18, 2012.

FRITSCHÉ-NETO, R.; RESENDE, M. D. V.; MIRANDA, G. V.; DOVALE, J. C. Seleção genômica ampla e novos métodos de melhoramento do milho. **Revista Ceres**, v. 59, n. 6, p. 794–802, 2012.

GANAL, M. W.; DURSTEWITZ, G.; POLLEY, A.; et al. A large maize (zea mays L.) SNP genotyping array: Development and germplasm genotyping, and genetic mapping

to compare with the B73 reference genome. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, 2011.

GRANATO, I.; FRITSCHÉ-NETO, R. snpReady: Preparing Genotypic Datasets in Order to Run Genomic Analysis. R package. , 2017.

GRIFFING, B. A. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal Biology Science**, v. 9, p. 463–493, 1956.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; CARROLL, S. B.; DOEBLEY, J. **Introdução a Genética**. 10^o ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

GUIMARÃES, A. G. **Ganhos Genéticos Por Seleção Recorrente E Estreitamento Genético Na População UENF-14 De Milho-Pipoca Por Marcadores SSR-ESTs**, 2016. Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

GUIMARÃES, P. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; LÜDERS, R. R.; et al. Correlação da heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 6, p. 811–816, 2007.

HALLAUER, A. R.; CARENA, M. J.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative Genetics in Maize Breeding, Handbook of Plant Breeding 6**. 3^o ed. Ames, Iowa: Springer, 2010.

HARTLEY, H. O. The use of range in analysis of variance. **Biometrika**, v. 37, n. 3, p. 271–280, 1950.

HAYMAN, B. I. The Theory and Analysis of Diallel Crosses. **Genetics**, v. 39, n. 6, p. 789–809, 1954.

HIGA, R. H.; REGITANO, L. C. A.; IBELLI, A. M. G.; SANTOS, I. L. N. **Estudo de algoritmos de biclustering para a análise de expressão gênica utilizando a tecnologia de microarranjo**. Campinas - SP, 2010.

KAMVAR, Z. N.; TABIMA, J. F.; GRÜNWALD, N. J. Poppr : an R package for genetic

analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. **PeerJ**, v. 2, p. e281, 2014.

KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E.; SCAPIM, C. A. Agronomic traits and chemical composition of single hybrids of sweet corn. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 531–536, 2011.

LIMA, M. W. P. **Capacidade Combinatória de Linhagens S4 DE Milho Superdoce (Zea mays L .) , Portadoras do Gene Shrunken-2**, 2003. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

LUZ, J. M. Q.; CAMILO, J. S.; BARBIERI, V. H. B. Produtividade de genótipos de milho doce e milho verde em função de intervalos de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 163–167, 2014.

MAPA. Registro Nacional de Cultivares. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 19/2/2018.

MATIAS, F. I.; GALLI, G.; GRANATO, I. S. C.; FRITSCHÉ-NETO, R. Genomic prediction of autogamous and allogamous plants by SNPs and haplotypes. **Crop Science**, v. 57, n. 6, p. 2951–2958, 2017.

MENDONÇA, L. DE F.; GRANATO, Í. S. C.; ALVES, F. C.; et al. Accuracy and simultaneous selection gains for N-stress tolerance and N-use efficiency in maize tropical lines. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 6, p. 481–488, 2017.

MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, v. 157, n. 4, p. 1819–1829, 2001.

MIRANDA FILHO, J. B. .; VENCOSKY, R. Analysis of variance with interaction of effects. **Revista Brasileira de Genética**, v. 18, n. 1, p. 129–134, 1995.

MOROSINI, J. S.; MENDONÇA, L. D. F.; LYRA, D. H.; et al. Association mapping for traits related to nitrogen use efficiency in tropical maize lines under field conditions. **Plant and Soil**, v. 421, p. 453–463, 2017. Plant and Soil.

MURTAGH, F.; LEGENDRE, P. Ward's Hierarchical Clustering Method: Clustering Criterion and Agglomerative Algorithm. , , n. November 2011, 2011.

OBATA, T.; WITT, S.; LISEC, J.; et al. Metabolite profiles of maize leaves in drought, heat and combined stress field trials reveal the relationship between metabolism and grain yield. **Plant Physiology**, v. 169, n. December, 2015.

OLIBONI, R.; FARIA, M. V.; NEUMANN, M.; et al. Análise dialélica na avaliação do potencial de híbridos de milho para a geração de populações- base para obtenção de linhagens. **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 34, n. 1, p. 7–18, 2013.

OLIVEIRA, G. H. F.; BUZINARO, R.; REVOLTI, L. T. M.; et al. An accurate prediction of maize crosses using diallel analysis and best linear unbiased predictor (BLUP). **Chilean journal of agricultural research**, v. 76, n. 3, p. 294–299, 2016.

PARENTONI, S. N.; GAMA, E. E. G.; MAGNAVACA, R.; REIFSCHNEIDER, F. B.; VILLAS BOAS, G. L. Milho Doce. **Informe Agropecuário**, p. 17–22, 1990. Belo Horizonte.

PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; DE GUIMARÃES, P. S.; LÜDERS, R. R.; et al. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 639–648, 2008.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. , 2017. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B.; NUNES, J. A. R. **Aplicações**

da genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas. 1º ed. Lavras: Ed. UFLA, 2012.

REIS, L. S. **Desenvolvimento de genótipos de milho doce: avaliação de genitorese e híbridos,** 2009. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético.** 1º ed. Colombo: EMBRAPA, 2007.

RESENDE, M. D. V.; LOPES, P. S.; SILVA, R. L.; PIRES, I. E. Seleção genômica ampla (GWS) e maximização da eficiência do melhoramento genético. **Pesquisa Florestal Brasileira,** v. 56, p. 63–77, 2008.

RODRIGUES, F.; PINHO, R. G. V.; ALBUQUERQUE, C. J. B.; FILHO, E. M. F.; GOULART, J. C. Combining Ability of Inbred Lines of Sweet Corn. **Bragantia,** v. 68, n. 1, p. 75–84, 2009.

ROGERS, J. S. Measures of genetic similarity and genetic distance. **Studies in Genetics,** v. VII, n. 7213, p. 145–153, 1972.

SANTOS, A. R. M. **Efeito da densidade de marcadores e do tipo de matriz de parentesco genômico na acurácia da seleção genômica em milho tropical,** 2016. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance. **Biometrics,** v. 30, n. 3, p. 507–512, 1974.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika,** v. 52, n. 3/4, p. 591, 1965.

SOUSA, S. M.; PAES, M. C. D.; TEIXEIRA, F. F. **Milho doce: origem de mutações naturais.** 2012.

SRDIC, J.; NIKOLIC, A.; PAJIC, Z. SSR markers in characterization of sweet corn inbred lines. **Genetika**, v. 40, n. 2, p. 169–177, 2008.

STOTHARD, P. The Sequence Manipulation Suite: JavaScript programs for analyzing and formatting protein and DNA sequences. **Biotechniques**, v. 28, p. 1102–1104, 2000.

TURCHETTO-ZOLET, A. C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G. **Marcadores Moleculares na Era Genômica : Metodologias e Aplicações**. 1º ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2017.

USDA. National Agricultural Statistics Service. Disponível em: <https://www.nass.usda.gov/Statistics_by_Subject/result.php?1AB625B8-19CC-312D-ACF6-58D2EA98E806§or=CROPS&group=VEGETABLES&comm=SWEET_CORN>. Acesso em: 19/2/2018.

VANRADEN, P. M. Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 11, p. 4414–4423, 2008.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética Biométrica no Fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992.

WUERTZ, D.; SETZ, T.; CHALABI, Y. fBasics: Rmetrics - Markets and Basic Statistics. , 2017. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/package=fBasics>>.

YANG, J.; BENYAMIN, B.; MCEVOY, B. P.; et al. Common SNPs explain a large proportion of heritability for human height. **Nature Genetics**, v. 42, n. 7, p. 565–569, 2010.

Tabela 3 - Análises de variâncias com respectivos graus de liberdade (GL), quadrados médios e seus níveis de significância, acurácia seletiva (A_{cc}), coeficiente de variação (CV%) e média, para diferentes características avaliadas no experimento em três diferentes ambientes, em Londrina – PR.

Fonte de Variação	GL	PECP	PESP	PG	NF	DE	CE	FLOR	AP	AE
Bloco/Ambiente	6									
Ambientes (A)	2	30830384	92368596*	446814618**	4,5826	1,3898**	21,228**	2326,5**	424,26	154,100
Trat (T)	48	7326930**	3387718**	1803946**	3,4652**	0,0767**	0,7895**	1,8655**	264,99**	225,54**
Test	3	29807961**	14828496**	7527511**	11,064**	0,3311**	0,5262**	3,8048**	192,63**	122,68**
Test vs Híb	1	2268031	41719	539869	11,540**	0,1869**	0,1996	2,5124**	1228,3**	1786,73**
Híbridos	44	5909108**	2683710**	1442432**	2,7636**	0,0568**	0,8209**	1,7186**	248,03**	197,07**
CGC	9	12072431**	4626236**	2931274**	12,462**	0,2060**	2,2042**	5,1819**	886,87**	762,86**
CEC	35	4324253**	2184203**	1059587**	0,2697**	0,0185**	0,4652**	0,8281**	83,764**	51,588
Interação TxA	96	1781573**	1019483**	681880**	0,1545**	0,0138**	0,2318**	0,5473**	64,481	43,508
Test x A	6	5456250**	2380761**	1604848**	0,0871	0,0162	0,3339	1,1699**	26,935	11,941
(Test vs Híb) x A	2	1454109	337344	158616	0,3595	0,0205	0,3910	1,5898**	26,618	20,022
Híb x A	88	1538469*	942172**	630842**	0,1545	0,0135**	0,2213	0,4811	67,902*	46,194
CGC x A	18	2466907**	1715382**	1423980**	0,2628**	0,0260**	0,3564**	0,6072	75,344	46,125
CEC x A	70	1299727	743347	426893	0,1266	0,0103	0,1865	0,4487	65,988	46,212
Resíduo	288	1155479	642526	365600	0,1412	0,0087	0,1698	0,4037	50,354	37,231
A_{cc}		0,91	0,90	0,89	0,97	0,94	0,88	0,88	0,89	0,91
CV%		9,01	10,00	12,36	4,1	3,3	3,7	1,62	5,64	9,04

* e **: significativo em nível de 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. PECP: produtividade de espigas com palha (kg ha^{-1}); PESP: produtividade de espigas sem palha (kg ha^{-1}); PG: produtividade de grãos (kg ha^{-1}); NF: número de fileiras; DE: diâmetro de espigas (cm); CE: comprimento de espigas (cm); FLOR: dias para o florescimento; AP: altura de plantas (cm); AE: altura de espigas (cm).

Fonte: O próprio autor.

Tabela 4 - Médias dos híbridos interpopulacionais utilizados no ensaio de dialelo completo de dez populações de milho superdoce e das testemunhas, para diferentes características avaliadas no experimento em três diferentes ambientes, em Londrina - PR.

Tratamentos	PECP			PESP			PG			NF	DE	CE	FLOR	AP	AE
	Amb1	Amb2	Amb3	Amb1	Amb2	Amb3	Amb1	Amb2	Amb3						
PD2001xPD2002	17156 ^c	20072 ^a	19106 ^b	10286 ^b	13270 ^a	13602 ^b	3537 ^b	8851 ^b	9806 ^c	14,6 ⁱ	4,7 ^g	18,8 ^d	67,9 ^c	212 ^c	116 ^d
PD2001xPD2003	19038 ^b	20600 ^a	20285 ^b	11886 ^b	13582 ^a	14182 ^b	4485 ^b	9018 ^b	10041 ^c	15,0 ^h	4,8 ^g	19,0 ^d	68,4 ^b	215 ^c	115 ^d
PD2001xSD3001	18297 ^b	20103 ^a	16653 ^b	11689 ^b	13712 ^a	11806 ^b	4275 ^b	9413 ^b	8527 ^c	15,5 ^g	4,8 ^g	18,5 ^e	67,9 ^c	211 ^c	115 ^d
PD2001xSD3002	20752 ^a	22342 ^a	22280 ^a	13123 ^a	14179 ^a	15079 ^b	5604 ^a	9039 ^b	10285 ^c	15,4 ^g	5,0 ^d	19,0 ^d	69,1 ^a	230 ^a	128 ^b
PD2001xSD3003	19202 ^b	19964 ^a	21125 ^b	11809 ^b	13218 ^a	14794 ^b	5015 ^b	8818 ^b	10466 ^c	14,5 ⁱ	4,9 ^f	18,5 ^e	69,2 ^a	215 ^c	117 ^d
PD2001xSD3004	22778 ^a	19819 ^a	22990 ^a	14376 ^a	12952 ^a	16268 ^a	6435 ^a	8544 ^b	11617 ^b	16,1 ^f	5,0 ^e	19,7 ^b	67,8 ^c	235 ^a	134 ^a
PD2001xSD3005	21158 ^a	23924 ^a	22379 ^a	12664 ^a	15594 ^a	15720 ^a	5360 ^a	10199 ^a	11127 ^b	16,2 ^f	5,1 ^c	19,5 ^c	67,5 ^d	213 ^c	110 ^d
PD2001xSD3006	19282 ^b	22750 ^a	23895 ^a	12494 ^a	15577 ^a	17598 ^a	5173 ^b	10757 ^a	13070 ^a	17,5 ^c	5,2 ^c	19,7 ^b	68,0 ^c	222 ^b	121 ^c
PD2001xSD3007	18648 ^b	20435 ^a	19314 ^b	11960 ^b	13227 ^a	13697 ^b	4744 ^b	8712 ^b	9815 ^c	15,4 ^g	4,8 ^g	18,7 ^e	67,7 ^c	213 ^c	115 ^d
PD2002xPD2003	19676 ^b	20715 ^a	20836 ^b	12978 ^a	13381 ^a	14115 ^b	5575 ^a	8688 ^b	9654 ^c	14,8 ⁱ	5,0 ^e	19,3 ^c	69,1 ^a	217 ^c	118 ^d
PD2002xSD3001	16414 ^c	19250 ^a	18118 ^b	10237 ^b	13286 ^a	12924 ^b	3465 ^b	9267 ^b	9362 ^c	15,4 ^g	4,8 ^g	18,8 ^d	67,9 ^c	207 ^d	110 ^d
PD2002xSD3002	22246 ^a	22280 ^a	23366 ^a	13335 ^a	14364 ^a	16227 ^a	4919 ^b	9284 ^b	11336 ^b	15,1 ^h	5,0 ^e	19,1 ^d	68,3 ^b	226 ^b	125 ^b
PD2002xSD3003	20378 ^a	17939 ^a	20182 ^b	12852 ^a	11668 ^a	14130 ^b	5285 ^a	7673 ^b	9974 ^c	14,8 ⁱ	4,8 ^g	18,7 ^e	68,1 ^b	215 ^c	115 ^d
PD2002xSD3004	20662 ^a	21135 ^a	21715 ^a	12964 ^a	14111 ^a	15496 ^a	5174 ^b	9464 ^b	11171 ^b	16,1 ^f	4,9 ^e	19,4 ^c	68,3 ^b	234 ^a	135 ^a
PD2002xSD3005	22014 ^a	20153 ^a	23478 ^a	13243 ^a	13126 ^a	16661 ^a	5338 ^a	8608 ^b	11913 ^b	16,1 ^f	5,0 ^d	18,6 ^e	67,6 ^c	216 ^c	118 ^d
PD2002xSD3006	20564 ^a	21616 ^a	21475 ^a	13343 ^a	14315 ^a	15493 ^a	5913 ^a	9561 ^b	11306 ^b	17,8 ^b	5,2 ^b	19,3 ^c	68,1 ^b	218 ^c	118 ^d
PD2002xSD3007	19920 ^a	21266 ^a	21420 ^a	12709 ^a	14647 ^a	15552 ^a	4843 ^b	10165 ^a	11400 ^b	15,9 ^f	5,0 ^e	19,4 ^c	66,9 ^e	218 ^c	114 ^d
PD2003xSD3001	17064 ^c	20751 ^a	20128 ^b	11053 ^b	13835 ^a	14318 ^b	3705 ^b	9274 ^b	10264 ^c	14,7 ⁱ	4,7 ^h	19,0 ^d	67,8 ^c	207 ^d	109 ^e
PD2003xSD3002	20519 ^a	21787 ^a	22166 ^a	12243 ^b	13489 ^a	15528 ^a	4896 ^b	8341 ^b	10980 ^c	14,3 ^j	4,9 ^f	19,0 ^d	68,2 ^b	223 ^b	122 ^c
PD2003xSD3003	18176 ^b	18248 ^a	22988 ^a	11743 ^b	11610 ^a	16207 ^a	4728 ^b	7495 ^b	11523 ^b	14,7 ⁱ	4,8 ^g	19,1 ^d	69,1 ^a	215 ^c	120 ^c
PD2003xSD3004	20517 ^a	24250 ^a	22207 ^a	12592 ^a	15243 ^a	14986 ^b	4985 ^b	9538 ^b	10157 ^c	15,3 ^h	4,8 ^g	20,0 ^a	68,6 ^a	239 ^a	136 ^a
PD2003xSD3005	23195 ^a	21068 ^a	21791 ^a	14609 ^a	13722 ^a	15149 ^b	6368 ^a	8977 ^b	10618 ^c	15,7 ^g	5,0 ^d	19,2 ^c	67,3 ^d	218 ^c	114 ^d
PD2003xSD3006	19224 ^b	20941 ^a	22688 ^a	10914 ^b	13915 ^a	15650 ^a	4014 ^b	9356 ^b	10901 ^c	16,8 ^d	5,0 ^e	20,0 ^a	67,7 ^c	220 ^c	117 ^d
PD2003xSD3007	19421 ^b	20399 ^a	20770 ^b	12698 ^a	14392 ^a	14994 ^b	5281 ^a	10213 ^a	10920 ^c	15,1 ^h	4,9 ^f	18,8 ^d	66,6 ^e	214 ^c	115 ^d
SD3001xSD3002	20836 ^a	21807 ^a	20811 ^b	13891 ^a	14058 ^a	14655 ^b	6091 ^a	9069 ^b	10440 ^c	14,8 ⁱ	5,0 ^e	19,6 ^c	68,3 ^b	214 ^c	112 ^d
SD3001xSD3003	18616 ^b	19906 ^a	20136 ^b	11683 ^b	13480 ^a	14371 ^b	4596 ^b	9184 ^b	10351 ^c	14,7 ⁱ	4,8 ^g	18,6 ^e	67,7 ^c	215 ^c	111 ^d
SD3001xSD3004	20381 ^a	20934 ^a	22446 ^a	13044 ^a	14118 ^a	16034 ^a	5137 ^b	9569 ^b	11528 ^b	15,9 ^f	4,8 ^g	19,8 ^b	67,4 ^d	233 ^a	128 ^b

Continuação

Tratamentos	PECP			PESP			PG			NF	DE	CE	FLOR	AP	AE
	Amb1	Amb2	Amb3	Amb1	Amb2	Amb3	Amb1	Amb2	Amb3						
SD3001xSD3005	21636 ^a	23921 ^a	21969 ^a	13820 ^a	16286 ^a	15052 ^b	5348 ^a	11100 ^a	10512 ^c	16,2 ^f	5,0 ^d	19,6 ^c	67,4 ^d	220 ^c	117 ^d
SD3001xSD3006	19771 ^a	21623 ^a	22278 ^a	12723 ^a	15198 ^a	16271 ^a	4866 ^b	10775 ^a	12029 ^b	16,9 ^d	5,0 ^d	19,8 ^b	67,7 ^c	221 ^c	115 ^d
SD3001xSD3007	16928 ^c	18382 ^a	18899 ^b	11315 ^b	13245 ^a	13965 ^b	4255 ^b	9701 ^b	10436 ^c	15,1 ^h	4,8 ^g	19,1 ^d	66,8 ^e	201 ^e	103 ^e
SD3002xSD3003	18031 ^b	19025 ^a	20815 ^b	11286 ^b	12068 ^a	14762 ^b	4697 ^b	7702 ^b	10537 ^c	15,0 ^h	4,9 ^f	18,0 ^f	68,8 ^a	218 ^c	123 ^c
SD3002xSD3004	22474 ^a	20209 ^a	24021 ^a	14035 ^a	12540 ^a	16653 ^a	5959 ^a	7813 ^b	11597 ^b	15,9 ^f	5,1 ^c	20,1 ^a	68,2 ^b	235 ^a	133 ^a
SD3002xSD3005	18642 ^b	21502 ^a	21626 ^a	11851 ^b	13610 ^a	15483 ^a	5053 ^b	8676 ^b	11212 ^b	16,1 ^f	5,1 ^c	18,6 ^e	67,8 ^c	216 ^c	117 ^d
SD3002xSD3006	21937 ^a	20694 ^a	23555 ^a	14413 ^a	13637 ^a	17470 ^a	6836 ^a	9074 ^b	13101 ^a	17,6 ^c	5,3 ^a	19,5 ^c	68,4 ^b	220 ^c	121 ^c
SD3002xSD3007	18689 ^b	20831 ^a	19058 ^b	11670 ^b	14078 ^a	13732 ^b	4642 ^b	9594 ^b	10046 ^c	15,3 ^h	4,9 ^e	19,3 ^c	68,2 ^b	214 ^c	113 ^d
SD3003xSD3004	18894 ^b	20083 ^a	23552 ^a	11403 ^b	13265 ^a	17095 ^a	4263 ^b	8805 ^b	12476 ^a	15,7 ^g	4,9 ^f	19,2 ^c	67,7 ^c	229 ^b	128 ^b
SD3003xSD3005	21547 ^a	20641 ^a	22813 ^a	13577 ^a	13513 ^a	16449 ^a	5996 ^a	8898 ^b	11912 ^b	15,6 ^g	5,0 ^e	18,6 ^e	67,9 ^c	208 ^d	109 ^e
SD3003xSD3006	19192 ^b	19960 ^a	22445 ^a	12581 ^a	13082 ^a	15908 ^a	5512 ^a	8638 ^b	11368 ^b	16,6 ^e	5,0 ^e	19,0 ^d	68,8 ^a	219 ^c	117 ^d
SD3003xSD3007	15887 ^c	18884 ^a	19660 ^b	10117 ^b	13153 ^a	14098 ^b	3836 ^b	9311 ^b	10218 ^c	15,3 ^h	4,8 ^g	19,0 ^d	68,3 ^b	209 ^d	108 ^e
SD3004xSD3005	20857 ^a	23371 ^a	26025 ^a	13511 ^a	15707 ^a	18767 ^a	5834 ^a	10576 ^a	13595 ^a	16,3 ^f	5,1 ^c	19,7 ^b	67,2 ^d	232 ^a	126 ^b
SD3004xSD3006	22637 ^a	18696 ^a	21038 ^b	14404 ^a	12378 ^a	15486 ^a	5768 ^a	8283 ^b	11576 ^b	17,3 ^c	5,0 ^d	20,2 ^a	67,7 ^c	232 ^a	126 ^b
SD3004xSD3007	20678 ^a	19574 ^a	22140 ^a	13098 ^a	13209 ^a	16532 ^a	5069 ^b	8974 ^b	12478 ^a	16,5 ^e	4,9 ^f	19,5 ^c	66,9 ^e	223 ^b	122 ^c
SD3005xSD3006	18003 ^b	15641 ^a	19927 ^b	11272 ^b	10263 ^a	14591 ^b	4796 ^b	6859 ^b	10841 ^c	17,9 ^b	5,0 ^d	18,0 ^f	68,7 ^a	198 ^e	99 ^f
SD3005xSD3007	21422 ^a	21563 ^a	21574 ^a	13896 ^a	15348 ^a	15820 ^a	5733 ^a	11034 ^a	11732 ^b	16,5 ^e	5,0 ^d	19,2 ^c	66,4 ^f	215 ^c	112 ^d
SD3006xSD3007	21638 ^a	21434 ^a	22345 ^a	14827 ^a	15387 ^a	16910 ^a	6911 ^a	11173 ^a	12962 ^a	17,4 ^c	5,2 ^c	19,5 ^c	65,4 ^g	216 ^c	114 ^d
Balu01	24862 ^a	21470 ^a	22825 ^a	15972 ^a	14169 ^a	16579 ^a	7505 ^a	9419 ^b	12146 ^b	17,1 ^d	5,3 ^a	19,1 ^d	66,1 ^f	212 ^c	106 ^e
Balu34	21962 ^a	23655 ^a	22430 ^a	14035 ^a	16875 ^a	16796 ^a	6188 ^a	12146 ^a	12764 ^a	19,5 ^a	5,4 ^a	19,6 ^c	67,2 ^d	203 ^e	106 ^e
PD2002	20264 ^a	16121 ^a	19600 ^b	12489 ^a	10540 ^a	13453 ^b	5647 ^a	7016 ^b	9337 ^c	15,3 ^h	5,0 ^d	18,6 ^e	68,8 ^a	218 ^c	113 ^d
TropiPlus	13168 ^d	17132 ^a	19421 ^b	8848 ^b	11948 ^a	14183 ^b	2961 ^b	8489 ^b	10508 ^c	15,5 ^g	4,6 ^h	18,9 ^d	67,6 ^c	200 ^e	97 ^f
Média Híbridos	19889	20678	21522	12583	13734	15340	5118	9201	11048	16,8	5,0	19,0	67,4	208	105
Média test.	20064	19595	21069	12836	13383	15253	5575	9267	11189	15,8	4,9	19,1	67,8	218	117

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Scott e Knott, em nível de 5% de probabilidade. PECP: produtividade de espigas com palha (kg ha⁻¹); PESP: produtividade de espigas sem palha (kg ha⁻¹); PG: produtividade de grãos (kg ha⁻¹); NF: número de fileiras; DE: diâmetro de espigas (cm); CE: comprimento de espigas (cm); FLOR: dias para o florescimento; AP: altura de plantas (cm); AE: altura de espigas (cm).

Fonte: O próprio autor.

Tabela 5 - Estimativas de capacidade geral de combinação das dez populações de milho superdoce utilizadas no ensaio de dialelo para diferentes características avaliadas no experimento em três diferentes ambientes e correlação entre características de produtividade e demais características avaliadas, em Londrina - PR.

\hat{g}_i	PECP			PESP			PG			NF	DE	CE	FLOR	AP	AE
	Amb1	Amb2	Amb3	Amb1	Amb2	Amb3	Amb1	Amb2	Amb3						
\hat{g}_{PD2001}	-336	489	-709	-370	213	-664	-179	67	-585	-0,2	0,0	-0,1	0,3	-0,1	1,2
\hat{g}_{PD2002}	4	-209	-500	-162	-180	-482	-252	-156	-439	-0,2	0,0	-0,1	0,1	-0,6	0,8
\hat{g}_{PD2003}	-271	333	20	-316	-55	-366	-253	-238	-547	-0,7	0,0	0,0	0,2	-0,0	0,3
\hat{g}_{SD3001}	-1132	72	-1533	-474	451	-1082	-541	567	-748	-0,3	-0,1	0,0	-0,2	-4,7	-5,3
\hat{g}_{SD3002}	641	547	500	325	-198	192	329	-527	12	-0,3	0,0	0,0	0,5	3,5	4,0
\hat{g}_{SD3003}	-1135	-1431	2	-774	-1069	-30	-267	-785	-76	-0,6	0,0	-0,4	0,5	-3,2	-1,9
\hat{g}_{SD3004}	1360	247	1555	773	-11	1158	320	-155	845	0,3	0,0	0,6	-0,1	15,4	13,1
\hat{g}_{SD3005}	1184	711	986	650	445	704	470	264	503	0,5	0,1	-0,1	-0,3	-4,0	-5,0
\hat{g}_{SD3006}	406	-343	744	466	18	915	466	207	965	1,7	0,1	0,3	-0,0	-0,3	-1,6
\hat{g}_{SD3007}	-721	-416	-1065	-119	385	-344	-94	758	71	0,0	-0,0	-0,0	-0,9	-5,6	-5,6
DP(\hat{g}_i)	352	414	308	253	309	239	171	236	196	0,1	0,0	0,1	0,2	2,3	2,0
DP($\hat{g}_i - \hat{g}_j$)	525	617	459	377	461	357	255	352	292	0,2	0,0	0,2	0,3	3,5	3,0
PECP	-	-	-	0,95**	0,91**	0,94**	0,87**	0,73**	0,82**	0,38**	0,68**	0,58**	-0,24	0,58**	0,50
PESP	-	-	-	-	-	-	0,94**	0,94**	0,96**	0,54**	0,73**	0,61**	-0,45**	0,43**	0,34*
PG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,66**	0,76**	0,54**	-0,56**	0,25	0,15

* e **: significativo em nível de 5% e 1% de probabilidade pelo teste t, respectivamente. PECP: produtividade de espigas com palha (kg ha⁻¹); PESP: produtividade de espigas sem palha (kg ha⁻¹); PG: produtividade de grãos (kg ha⁻¹); NF: número de fileiras; DE: diâmetro de espigas (cm); CE: comprimento de espigas (cm); FLOR: dias para o florescimento; AP: altura de plantas (cm); AE: altura de espigas (cm).

Fonte: O próprio autor.

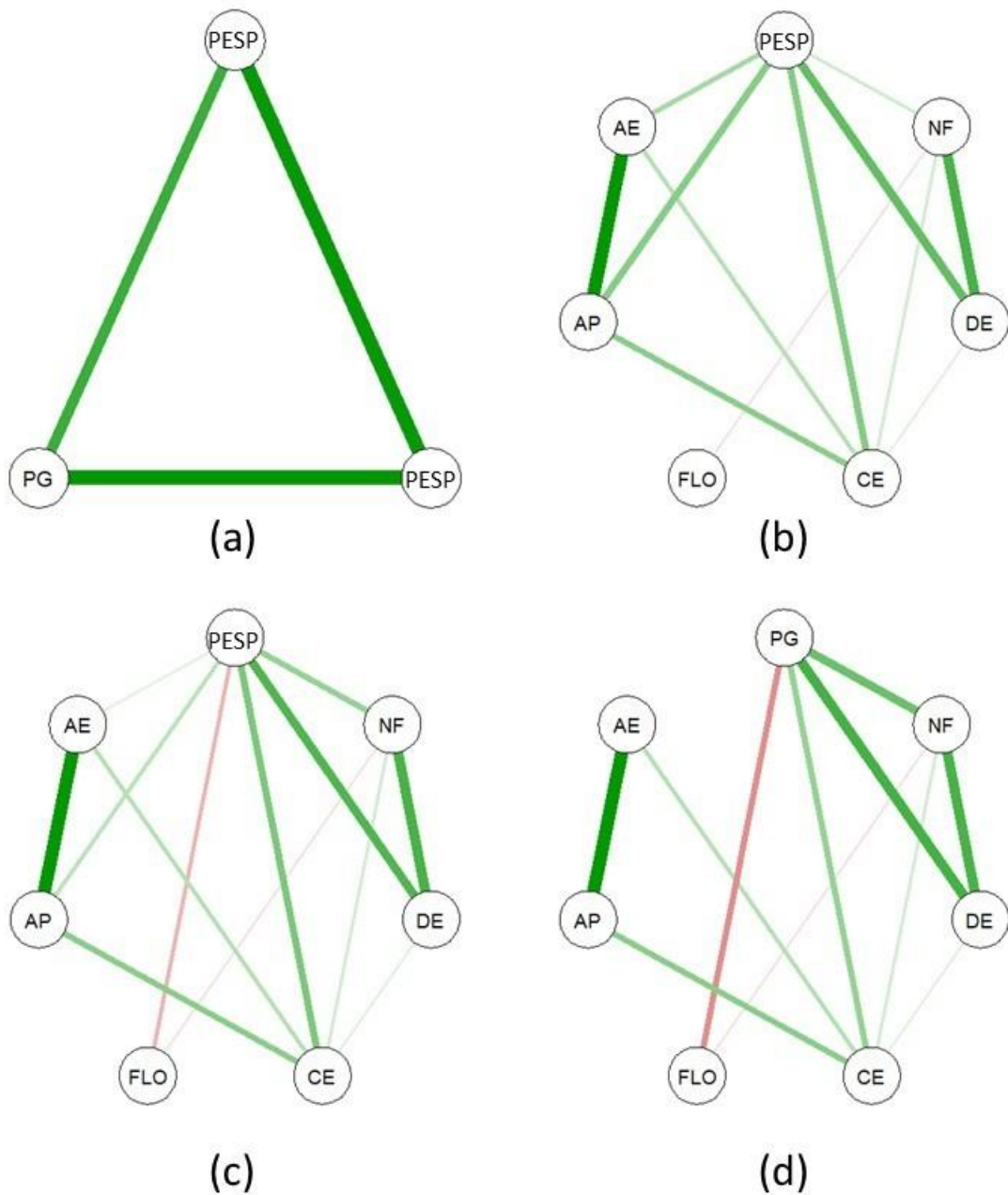


Figura 4 – Diagramas para as redes de correlações entre as características de produtividade e demais características avaliadas. (a) diagrama para as correlações entre a produtividade de espiga com palhas (PECP), produtividade de espiga sem palhas (PESP) e peso de grãos (PG); (b), (c) e (d), respectivamente, para correlações entre PECP, PESP e PG com as características número de fileiras (NF); diâmetro de espigas (DE); comprimento de espigas (CE); número de dias para o florescimento (FLO); altura de plantas (AP); altura de espigas (AE).

Fonte: O próprio autor.

Tabela 6 – Estimativas de capacidade específica de combinação das populações de dez populações de milho superdoce utilizadas no ensaio de dialelo, para diferentes características avaliadas no experimento em três diferentes ambientes, em Londrina - PR.

\hat{S}_{ij}	PECP	PESP	PG	NF	DE	CE	FLOR	AP	\hat{S}_{ij}	PECP	PESP	PG	NF	DE	CE	FL	AP
$\hat{S}_{PD2001 \times PD2002}$	-1498	-951	-543	-0,8	-0,2	-0,1	-0,5	-6,2	$\hat{S}_{SD3001 \times SD3002}$	757	578	380	-0,2	0,1	0,5	0,2	-3,1
$\hat{S}_{PD2001 \times PD2003}$	-564	-150	-29	0,2	0,0	-0,1	0,0	-3,9	$\hat{S}_{SD3001 \times SD3003}$	575	285	205	-0,1	0,0	-0,1	-0,5	4,2
$\hat{S}_{PD2001 \times SD3001}$	-1296	-841	-578	0,3	0,0	-0,6	0,0	-2,3	$\hat{S}_{SD3001 \times SD3004}$	368	242	193	0,1	0,0	-0,1	-0,1	4,0
$\hat{S}_{PD2001 \times SD3002}$	718	409	148	0,2	0,0	0,0	0,4	8,3	$\hat{S}_{SD3001 \times SD3005}$	1716	936	359	0,3	0,1	0,6	0,2	9,8
$\hat{S}_{PD2001 \times SD3003}$	440	286	253	-0,4	0,0	0,0	0,4	-0,2	$\hat{S}_{SD3001 \times SD3006}$	1123	747	462	-0,2	0,0	0,3	0,1	7,3
$\hat{S}_{PD2001 \times SD3004}$	298	280	306	0,2	0,1	0,0	-0,3	1,0	$\hat{S}_{SD3001 \times SD3007}$	-1029	-649	-330	-0,3	0,0	-0,1	0,1	-7,3
$\hat{S}_{PD2001 \times SD3005}$	1016	447	259	0,1	0,1	0,6	-0,3	-1,5	$\hat{S}_{SD3002 \times SD3003}$	-1114	-662	-372	0,2	-0,1	-0,7	-0,2	-0,8
$\hat{S}_{PD2001 \times SD3006}$	1196	1145	897	0,3	0,1	0,4	-0,2	4,1	$\hat{S}_{SD3002 \times SD3004}$	-78	-222	-274	0,0	0,1	0,4	-0,1	-2,5
$\hat{S}_{PD2001 \times SD3007}$	-311	-624	-712	-0,1	-0,1	-0,3	0,5	0,6	$\hat{S}_{SD3002 \times SD3005}$	-1629	-944	-493	0,1	0,0	-0,3	-0,2	-2,5
$\hat{S}_{PD2002 \times PD2003}$	-79	126	145	0,0	0,1	0,2	0,8	-0,9	$\hat{S}_{SD3002 \times SD3006}$	534	715	730	0,4	0,1	0,1	0,1	-2,0
$\hat{S}_{PD2002 \times SD3001}$	-1670	-1093	-569	0,2	0,0	-0,2	0,1	-6,0	$\hat{S}_{SD3002 \times SD3007}$	-999	-805	-545	-0,2	-0,1	0,2	0,8	-3,0
$\hat{S}_{PD2002 \times SD3002}$	1607	925	402	-0,2	-0,1	0,1	-0,3	4,6	$\hat{S}_{SD3003 \times SD3004}$	-52	20	99	0,2	0,0	-0,1	-0,6	-2,3
$\hat{S}_{PD2002 \times SD3003}$	-107	-103	-153	-0,1	0,0	0,2	-0,5	0,4	$\hat{S}_{SD3003 \times SD3005}$	865	652	443	-0,1	0,0	0,1	-0,2	-3,1
$\hat{S}_{PD2002 \times SD3004}$	-344	-60	93	0,2	0,0	-0,2	0,5	0,7	$\hat{S}_{SD3003 \times SD3006}$	422	130	-120	-0,2	-0,1	0,0	0,4	3,7
$\hat{S}_{PD2002 \times SD3005}$	460	133	34	-0,1	0,0	-0,2	0,0	2,1	$\hat{S}_{SD3003 \times SD3007}$	-964	-779	-537	0,1	0,0	0,3	0,8	-1,0
$\hat{S}_{PD2002 \times SD3006}$	488	306	207	0,5	0,1	0,0	0,2	-0,1	$\hat{S}_{SD3004 \times SD3005}$	708	870	796	-0,4	0,0	0,1	-0,2	1,9
$\hat{S}_{PD2002 \times SD3007}$	1142	718	384	0,3	0,1	0,3	-0,2	5,4	$\hat{S}_{SD3004 \times SD3006}$	-1229	-903	-796	-0,5	-0,1	0,1	0,0	-2,0
$\hat{S}_{PD2003 \times SD3001}$	-545	-203	-121	0,0	-0,1	-0,3	0,0	-6,7	$\hat{S}_{SD3004 \times SD3007}$	-218	-219	-197	0,3	0,0	-0,3	0,1	-5,4
$\hat{S}_{PD2003 \times SD3002}$	205	7	25	-0,4	-0,1	-0,3	-0,5	0,9	$\hat{S}_{SD3005 \times SD3006}$	-4068	-2910	-1916	-0,1	-0,2	-1,3	1,3	-16,3
$\hat{S}_{PD2003 \times SD3003}$	-65	171	183	0,3	0,1	0,3	0,4	-0,8	$\hat{S}_{SD3005 \times SD3007}$	598	562	386	0,1	0,0	0,3	-0,1	6,0
$\hat{S}_{PD2003 \times SD3004}$	548	-6	-220	-0,1	-0,1	0,1	0,6	4,6	$\hat{S}_{SD3006 \times SD3007}$	1575	1383	1101	-0,2	0,1	0,1	-1,5	3,4
$\hat{S}_{PD2003 \times SD3005}$	334	253	132	0,1	0,1	0,1	-0,4	3,6	DP(\hat{S}_{ij})	948	707	533	0,3	0,1	0,3	0,5	6,2
$\hat{S}_{PD2003 \times SD3006}$	-41	-613	-565	0,0	-0,1	0,4	-0,4	1,8	DP($\hat{S}_{ij} - \hat{S}_{ik}$)	1422	1060	800	0,4	0,1	0,5	0,8	9,3
$\hat{S}_{PD2003 \times SD3007}$	207	414	450	0,0	0,1	-0,5	-0,5	1,3	DP($\hat{S}_{ij} - \hat{S}_{km}$)	1317	982	741	0,4	0,1	0,5	0,7	8,6

PECP: produtividade de espigas com palha (kg ha⁻¹); PESP: produtividade de espigas sem palha (kg ha⁻¹); PG: produtividade de grãos (kg ha⁻¹); NF: número de fileiras; DE: diâmetro de espigas (cm); CE: comprimento de espigas (cm); FLOR: dias para o florescimento; AP: altura de plantas (cm).

Fonte: O próprio autor.

Tabela 7 – Índices de correlação genômica de VanRaden (diagonal superior), Coeficiente de Rogers (diagonal inferior), correlações (r) e coeficiente de determinação (R^2) para associações entre os índices de divergência genética e estimativas de capacidade específica de combinação (CEC) das características de produtividade para os híbridos do dialelo.

	PD2001	PD2002	PD2003	SD3007	SD3006	SD3004	SD3005	SD3003	SD3001	SD3002
PD2001		0,003	0,033	0,033	-0,284	-0,150	-0,236	-0,154	0,153	-0,183
PD2002	0,322		-0,033	-0,085	-0,244	-0,170	-0,250	-0,209	-0,007	-0,219
PD2003	0,254	0,331		0,016	-0,223	-0,101	-0,188	-0,135	0,086	-0,142
SD3007	0,269	0,355	0,255		-0,265	-0,108	-0,235	0,016	0,258	-0,146
SD3006	0,403	0,418	0,392	0,413		-0,083	0,411	-0,165	-0,334	-0,143
SD3004	0,359	0,412	0,340	0,355	0,410		-0,077	-0,103	-0,191	-0,069
SD3005	0,379	0,416	0,361	0,387	0,281	0,380		-0,154	-0,273	-0,078
SD3003	0,372	0,407	0,372	0,401	0,413	0,406	0,407		-0,250	0,113
SD3001	0,218	0,312	0,225	0,185	0,410	0,364	0,383	0,385		-0,176
SD3002	0,361	0,403	0,342	0,356	0,399	0,369	0,369	0,338	0,347	
Correlações entre CEC para produtividade e os índices de divergência genética								r	R^2	
r(CEC p/ PECP; Correlação Genômica VanRaden)								-0,761**	0,57	
r(CEC p/ PESP; Correlação Genômica VanRaden)								-0,702**	0,49	
r(CEC p/ PG; Correlação Genômica VanRaden)								-0,632**	0,40	
r(CEC p/ PECP; Coeficiente de Rogers)								0,485**	0,23	
r(CEC p/ PESP; Coeficiente de Rogers)								0,444**	0,19	
r(CEC p/ PG; Coeficiente de Rogers)								0,398**	0,15	

** : significativo em nível de 1% de probabilidade pelo teste t, respectivamente. PECP: produtividade de espigas com palha (kg ha^{-1}); PESP: produtividade de espigas sem palha (kg ha^{-1}); PG: produtividade de grãos (kg ha^{-1}).

Fonte: O próprio autor.

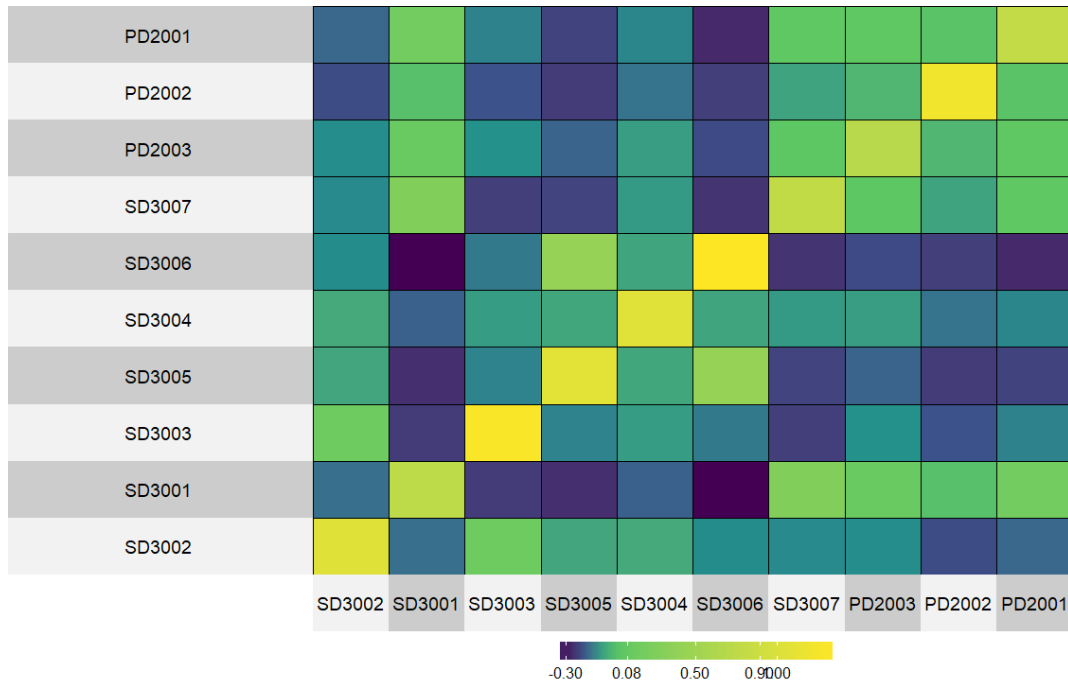


Figura 5 – Heatmap elaborado a partir dos valores obtidos na matriz de relação genômica calculada pelo método de VanRadem para as dez populações de milho superdoce utilizadas no dialelo.

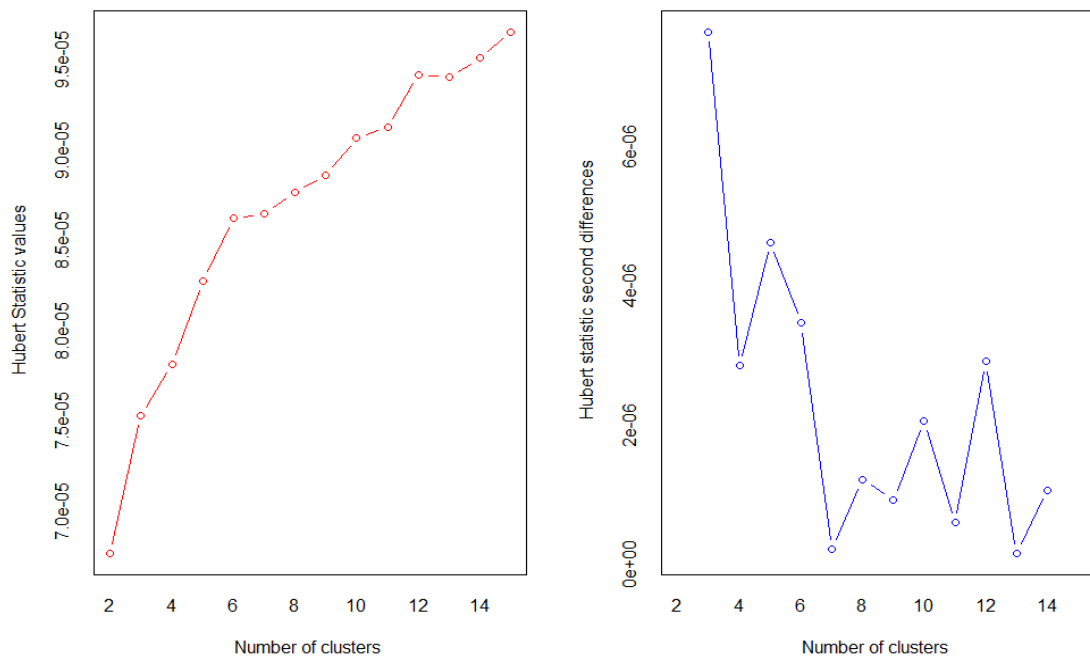


Figura 6 – Número de agrupamentos definidos pelo pacote *NbCluster* para as dez populações de milho superdoce do dialelo.

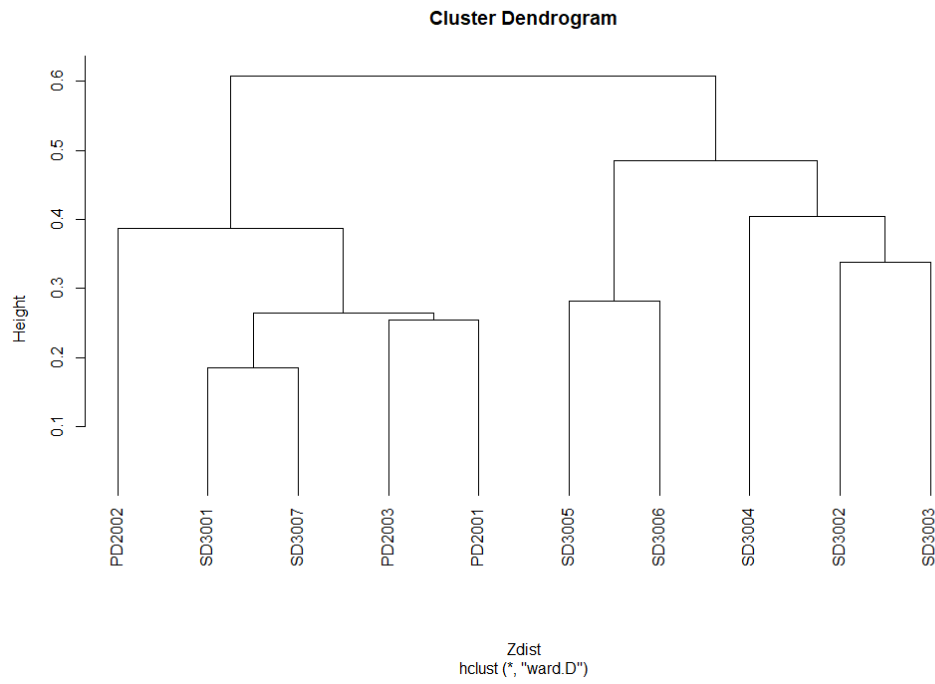


Figura 7 – Dendrograma construído pelo método WARD utilizando as distâncias genéticas de Rogers calculadas para as dez populações de milho superdoce utilizadas no ensaio de dialelo.

5 CONCLUSÕES

A partir dos resultados é possível concluir que:

- a) Há predominância dos efeitos aditivos com relação aos não aditivos para PECP, PESP, PG, NF, DE, CE, FLOR, AP e AE;
- b) As combinações mais promissoras são a SD3004xSD30005 e SD3006XSD3007 para a obtenção de linhagens e formação de híbridos;
- c) As populações SD3004, SD3005 e SD3006 apresentam as melhores estimativas de CGC e estão presentes nas combinações híbridas com melhor desempenho para as características de produtividade, com melhores estimativas de CEC nos diferentes ambientes;
- d) A de produtividade de grãos está mais fortemente associada a e produtividade de espiga sem palha, do que com produtividade de espiga com palha;
- e) A maioria dos melhores híbridos do dialelo são oriundos de cruzamentos entre populações alocadas em diferentes grupos com base na correlação genômica de *VanRaden*;
- f) Os grupamentos segundo a correlação genômica de *VanRaden* são eficientes para indicar as combinações híbridas superiores para produtividade com alta taxa de assertividade;
- g) Existe maior associação entre as estimativas da CEC e a correlação genômica de *VanRaden* do que entre o coeficiente de *Rogers* e CEC.

6 BIBLIOGRAFIA

DE ANDRADE, L. R. B.; FRITSCHÉ-NETO, R.; GRANATO, I. S. C.; et al. Genetic vulnerability and the relationship of commercial germplasms of maize in Brazil with the nested association mapping parents. **PLoS ONE**, v. 11, n. 10, p. 1–14, 2016.

ARAGÃO, C.A. **Avaliação de híbridos simples de milho super doce (*Zea mays* L.) portadores do gene *shrunk-2*, utilizando o esquema dialélico parcial**. Botucatu, 2002, 101p. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

ARAGÃO, C.A.; DANTAS, B.F.; ALVES, E.; CATANEO, A.C.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J. Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho superdoce tratadas com ácido giberélico. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 25, n. 1, p. 43 - 48, 2003.

BARBIERI, V.H.B; SOUZA JÚNIOR, C.L. **Melhoramento genético do milho doce**. Disponível em: <<http://www.genetica.esalq.usp.br/pub/seminar/VHBBarbieri-200801-Resumo.pdf>>. Acesso em: 22/02/2018.

BARBIERI, V.H.B.; LUZ, J.M. Q.; BRITO, C.H.; DUARTE, J.; GOMES, L.S.; SANTANA, D.G. Produtividade e rendimento industrial de híbridos de milho doce em função de espaçamento e populações de plantas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 826 – 830, 2005.

BARTER, R. ; YU, B. superheat: A Graphical Tool for Exploring Complex Datasets Using Heatmaps. **R package**. 2017.

BIGNOTTO, L. S.; SCAPIM, C. A.; JOSÉ, R.; et al. Evaluation of combining ability in white corn for special use as corn grits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, p. 258–264, 2015.

BORDALLO, P.N.; PEREIRA, M.G.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; GABRIEL, A.P.C.

Análise dialéctica de génotipos de milho doce e comum para caracteres agrônômicos e proteína total. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 123 - 127, 2005.

BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. **Ômicas 360°: aplicações e estratégias para o melhoramento de plantas**. 1º ed. Viçosa MG: Editora UFV, 2013.

CAMILO, J.S.; BARBIERI, V.H.B.; RANGEL, R.M.; BONNAS, D.S.; LUZ, J.M.Q.; OLIVEIRA, R.C. Aceitação sensorial de híbridos de milho doce e híbridos de milho verde em intervalos de colheita. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n.1, p. 001- 008, 2015.

CHARRAD, M.; GHAZZALI, N.; BOITEAU, V.; NIKNAFS, A. NbClust : An R Package for Determining the Relevant Number of Clusters in a Data Set. **Journal of Statistical Software**, v. 61, n. 6, 2014.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, J. R. P. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. 3º ed. Viçosa: UFV, 2004.

EPSKAMP, S.; CRAMER, A. O. J.; WALDORP, L. J.; SCHMITTMANN, V. D.; BORSBOOM, D. qgraph: Network Visualizations of Relationships in Psychometric Data. **Journal of Statistical Software**, v. 48, n. 4, p. 1–18, 2012.

FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 1987, 279p.

FAO – **Food and agriculture organization of the united nations – Statistics division**. 2018. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 13/02/2018.

FRANCO, A.A.N.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SCAPIM, C.A.; MARQUES, O.J.; ZIMMERMANN, G.; ORTIZ, A.H.T. Época de semeadura na safrinha e produtividade de híbridos de milho doce. In: XII Seminário Nacional De Milho Safrinha – Estabilidade E Produtividade, Dourados, 2013. **Anais**. Dourados. Embrapa/UFV, 2013.

FRITSCHÉ-NETO, R.; RESENDE, M. D. V.; MIRANDA, G. V.; DOVALE, J. C. Seleção genômica ampla e novos métodos de melhoramento do milho. **Revista Ceres**, v. 59, n. 6, p. 794–802, 2012.

FUZATTO, S.R. **Dialelo parcial circulante interpopulacional em milho (*Zea mays* L.): efeito do número (s) de cruzamentos**. Piracicaba, 2003, 131p. Tese (Doutorando em Agronomia, Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

GANAL, M. W.; DURSTEWITZ, G.; POLLEY, A.; et al. A large maize (*zea mays* L.) SNP genotyping array: Development and germplasm genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 reference genome. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, 2011.

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

GRANATO, I.; FRITSCHÉ-NETO, R. snpReady: Preparing Genotypic Datasets in Order to Run Genomic Analysis. **R package**. , 2017.

GRIFFING, B. A. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal Biology Science**, v. 9, p. 463–493, 1956.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; CARROLL, S. B.; DOEBLEY, J. **Introdução a Genética**. 10º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

GUIMARÃES, A. G. **Ganhos Genéticos Por Seleção Recorrente E Estreitamento Genético Na População UENF-14 De Milho-Pipoca Por Marcadores SSR-ESTs**, 2016 89 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

GUIMARÃES, P. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; LÜDERS, R. R.; et al. Correlação da heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 6, p. 811–816, 2007.

HALLAUER, A. R.; CARENA, M. J.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative Genetics in Maize Breeding, Handbook of Plant Breeding 6**. 3º ed. Ames, Iowa: Springer, 2010.

HARTLEY, H. O. The use of range in analysis of variance. **Biometrika**, v. 37, n. 3, p. 271–280, 1950.

HARTL, D. H.; CLARCK, A. D. **Genética de Populações**. 4º ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

HAYMAN, B.I. The theory and analysis of diallel crosses. **Genetics**, Austin, v.39, p 789-809, 1954.

HIGA, R. H.; REGITANO, L. C. A.; IBELLI, A. M. G.; SANTOS, I. L. N. **Estudo de algoritmos de biclustering para a análise de expressão gênica utilizando a tecnologia de microarranjo**. Campinas - SP, 2010.

JONES, D.F. The effect of inbreeding and crossbreeding upon development. **Corn. Agr. Exp. Stn. Bul**, 207:5-100, 1918.

KAMVAR, Z. N.; TABIMA, J. F.; GRÜNWARD, N. J. Poppr : an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. **PeerJ**, v. 2, p. e281, 2014.

KOSTETZER, V. **Capacidade combinatória entre variedades de milho crioulo e sintéticos**. Londrina, 70p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina.

KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E.; SCAPIM, C. A. Agronomic traits and chemical composition of single hybrids of sweet corn. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 531–536, 2011.

LORENCETTI, C.; CARVALHO, F.I.F.; BENIN, G.; MARCHIORO, V.S.; OLIVEIRA, A.C.; SILVA, J.A.G.; HARTWIG, I.; SCHMIDT, D.A.M.; VALÉRIO, I.P. Capacidade combinatória e heterose em cruzamento dialélico de aveia (*Avena sativa* L.), **R. bras. Agrociência**, Pelotas, v.11, n. 2, p. 143-148, 2005.

LIMA, M. W. P. **Capacidade Combinatória de Linhagens S4 DE Milho Superdoce (Zea mays L .) , Portadoras do Gene Shrunken-2**, 2003. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

LUZ, J. M. Q.; CAMILO, J. S.; BARBIERI, V. H. B. Produtividade de genótipos de milho doce e milho verde em função de intervalos de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 163–167, 2014.

LUZ, J.M.Q.; CAMILO, J S.; BARBIERI, V.H.B.; RANGEL, R.M.; OLIVEIRA, R.C. Produtividade de genótipos de milho doce e milho verde em função de intervalos de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília. v. 32, n. 2, p.163 - 167, 2014.

MAMEDE, A.M.G.N.; CHITARRA, A.B.; FONSECA, M.J.O.; SOARES, A.G.; PEREIRA FILHO, I.A. Qualidade do milho doce minimamente processado conservado sob diferentes atmosferas. **Engenharia da Agricultura**, v.22, n.6, p. 520 - 534, 2014.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Registro Nacional de Cultivares – RNC Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 19/2/2018.

MATIAS, F. I.; GALLI, G.; GRANATO, I. S. C.; FRITSCHÉ-NETO, R. Genomic prediction of autogamous and allogamous plants by SNPs and haplotypes. **Crop Science**, v. 57, n. 6, p. 2951–2958, 2017.

MENDONÇA, L. DE F.; GRANATO, Í. S. C.; ALVES, F. C.; et al. Accuracy and simultaneous selection gains for N-stress tolerance and N-use efficiency in maize tropical lines. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 6, p. 481–488, 2017.

MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, v. 157, n. 4, p. 1819–1829, 2001.

MIRANDA FILHO, J.B.; GORGULHO, E.P. Cruzamentos com testadores e dialelos. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S. de; INGLIS, M.C.V. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, p. 649 - 670, 2001.

MIRANDA FILHO, J. B. .; VENCOSKY, R. Analysis of variance with interaction of effects. **Revista Brasileira de Genética**, v. 18, n. 1, p. 129–134, 1995.

MOROSINI, J. S.; MENDONÇA, L. D. F.; LYRA, D. H.; et al. Association mapping for traits related to nitrogen use efficiency in tropical maize lines under field conditions. **Plant and Soil**, v. 421, p. 453–463, 2017. *Plant and Soil*.

MORRISON, D. F. **Multivariate statistical methods**. 2^o ed. Singapore: McGraw Hill, 1976.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, n. 3, p. 583–590, 1978.

OBATA, T.; WITT, S.; LISEC, J.; et al. Metabolite profiles of maize leaves in drought, heat and combined stress field trials reveal the relationship between metabolism and

grain yield. **Plant Physiology**, v. 169, n. December, p. pp.01164.2015, 2015.

OLIBONI, R.; FARIA, M.V.; NEUMANN, M.; RESENDE, J.T.V.; BATTISTELLI, G.M.; TEGONI, R.G.; OLIBONI, D.F. Análise dialélica na avaliação do potencial de híbridos de milho para a geração de populações-base para obtenção de linhagens. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 7-18, 2013.

OLIVEIRA Jr, L.F.G.; PEREIRA, M.G.; BRESSAN-SMITH, R. Caracterização e avaliação agronômica de híbridos e linhagens de milho doce (*su1*). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 283 - 288, 2006.

OLIVEIRA, G. H. F.; BUZINARO, R.; REVOLTI, L. T. M.; et al. An accurate prediction of maize crosses using diallel analysis and best linear unbiased predictor (BLUP). **Chilean journal of agricultural research**, v. 76, n. 3, p. 294–299, 2016.

PARENTONI, S. N.; GAMA, E. E. G.; MAGNAVACA, R.; REIFSCHNEIDER, F. B.; VILLAS BOAS, G. L. Milho Doce. **Informe Agropecuário**, v.14, p. 17–22, 1990. Belo Horizonte.

PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; DE GUIMARÃES, P. S.; LÜDERS, R. R.; et al. Capacidade combinatória, divergência genética entre linhagens de milho e correlação com heterose. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 639–648, 2008.

PIERRE, P. M. O.; DAVIDE, L. M. C.; COUTO, E. G. O.; SILVA, T. N.; RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. Duplo-haploides: estratégias para obtenção e importância no melhoramento genético de milho. **Rev. Brasileira de Milho e Sorgo**. v.10, n.1, p.1-16, 2011.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. , 2017. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B.; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**. 1º ed. Lavras: Ed. UFLA, 2012.

REIS, S.R. **Desenvolvimento de genótipos de milho doce: avaliação de genitores e híbridos**. Campos dos Goytacazes, 2009, 64p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

RESENDE, M. D. V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. 1º ed. Colombo: EMBRAPA, 2007.

RESENDE, M. D. V.; LOPES, P. S.; SILVA, R. L.; PIRES, I. E. Seleção genômica ampla (GWS) e maximização da eficiência do melhoramento genético. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 56, p. 63–77, 2008.

RODRIGUES, F.; PINHO, R. G. V.; ALBUQUERQUE, C. J. B.; FILHO, E. M. F.; GOULART, J. C. Combining Ability of Inbred Lines of Sweet Corn. **Bragantia**, v. 68, n. 1, p. 75–84, 2009.

ROGERS, J. S. Measures of genetic similarity and genetic distance. **Studies in Genetics**, v. VII, n. 7213, p. 145–153, 1972.

SANTOS, A. R. M. **Efeito da densidade de marcadores e do tipo de matriz de parentesco genômico na acurácia da seleção genômica em milho tropical**. Piracicaba, 2016, 65 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance. **Biometrics**, v. 30, n. 3, p. 507–512, 1974.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591, 1965.

SOUSA, S. M.; PAES, M. C. D.; TEIXEIRA, F. F. **Milho doce: origem de mutações naturais**. 2012.

SRDIC, J.; NIKOLIC, A.; PAJIC, Z. SSR markers in characterization of sweet corn inbred lines. **Genetika**, v. 40, n. 2, p. 169–177, 2008.

SILVA, I.O. **Avaliação de produção de milho doce para consumo em maçaroca em três datas de sementeira diferentes**. Angra do Heroísmo, 2012, 69p. Dissertação (Mestre em Engenharia Agrônômica) – Universidade do Açores.

SOUSA, S.M.; PAES, M.C.D.; TEIXEIRA, F.F. **Milho doce: origem das mutações naturais**. Documentos/Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, n. 144, 2012

SOUZA JR, C.L. Melhoramento de espécies alógamas. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S. de; INGLIS, M. C. V. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, p. 157 – 199, 2001.

SPRAGUE, G.F.; TATUM, L.A. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. **Agronomy Journal**, 34:923-932, 1942.

STOTHARD, P. The Sequence Manipulation Suite: JavaScript programs for analyzing and formatting protein and DNA sequences. **Biotechniques**, v. 28, p. 1102–1104, 2000.

STORK, L., LOVATO, C. Milho doce. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 2, p. 283 - 292, 1992.

TEIXEIRA, F.F.; MIRANDA, R.A.; PAES, M.C.D.; SOUZA, S.M.; GAMA, E.E.G. **Melhoramento de milho-doce**. Documentos/Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, n. 154, 2013.

TEIXEIRA, F.F; SOUZA, I.R.P.; GAMA, E.E.G.; PACHECO, C.A.P.; PARENTONI, S.N.; SANTOS, M.X.; MEIRELLES, W.F. Avaliação da capacidade de combinação entre linhagens de milho doce. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.3, p.483-488, 2001.

TOPPA, E. V. B.; JADOSKI, C. J. O Uso dos Marcadores Moleculares no Melhoramento Genético de Plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 1, p. 1–5, 2013.

TRACY, W. F. Sweet corn. In: HALLAUER, A.R. **Specialty corn**, Boca Raton, p. 155 - 198, 2001.

TURCHETTO-ZOLET, A. C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G. **Marcadores Moleculares na Era G enômica : Metodologias e Aplicações**. 1º ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2017.

USDA – United States Department of Agricultural. National Agricultural Statistics Service. Disponível em:
<https://www.nass.usda.gov/Statistics_by_Subject/result.php?1AB625B8-19CC-312D-ACF6-58D2EA98E806§or=CROPS&group=VEGETABLES&comm=SWEET CORN>.
Acesso em: 19/2/2018.

VANRADEN, P. M. Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 11, p. 4414–4423, 2008.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. 496p.

WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. **Evolution**, v. 38, n. 6, p. 1358, 1984.

WUERTZ, D.; SETZ, T.; CHALABI, Y. fBasics: Rmetrics - Markets and Basic Statistics. **R package**. 2017.

YANG, J.; BENYAMIN, B.; MCEVOY, B. P.; et al. Common SNPs explain a large proportion of heritability for human height. **Nature Genetics**, v. 42, n. 7, p. 565–569, 2010.