

Correlação da heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens

Paula de Souza Guimarães⁽¹⁾, Maria Elisa Ayres Guidetti Zagatto Paterniani⁽¹⁾, Reginaldo Roberto Lüders⁽¹⁾, Anete Pereira de Souza⁽²⁾, Prianda Rios Laborda⁽²⁾ e Karine Miranda Oliveira⁽²⁾

⁽¹⁾Instituto Agronômico, Av. Barão de Itapura, nº 1481, Caixa Postal 28, CEP 13020-902 Campinas, SP. E-mail: psguim@yahoo.com.br, elisa@iac.sp.gov.br, rrluders@iac.sp.gov.br ⁽²⁾Universidade de Campinas, Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética, Cidade Universitária Zeferino Vaz, Barão Geraldo, Caixa Postal 6010, CEP 13083-875 Campinas, SP. E-mail: anete@unicamp.br, prianda@unicamp.br, kmoliveira@unicamp.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade de híbridos simples de milho obtidos de cruzamentos dialélicos entre linhagens divergentes, estimar a capacidade de combinação das linhagens e confirmar se a divergência genética entre as linhagens, obtida por marcadores moleculares, é correlacionada com a heterose dos híbridos simples no campo. Trinta e seis híbridos resultantes do dialelo parcial e as 12 linhagens parentais foram avaliadas em Campinas em blocos ao acaso, com três repetições e duas testemunhas. A capacidade de combinação das linhagens foi estimada de acordo com o modelo 4 de Griffing. Estimaram-se a correlação matricial, mediante a estatística de Mantel, entre heterose, produtividade e capacidade específica de combinação com divergência genética por AFLP e SSR. Destacou-se o híbrido PM518 x L111 e as linhagens PM518, IP4035 e L111 apresentaram efeitos positivos da capacidade geral de combinação. As estimativas de heterose variaram de 927 a 6.698 kg ha⁻¹. Houve correlação entre heterose e divergência genética por AFLP e SSR. No entanto, a divergência genética não foi suficiente para determinar a capacidade específica de combinação nem a produtividade dos híbridos.

Termos para indexação: *Zea mays*, marcadores moleculares, dialelo parcial, capacidade de combinação, AFLP, SSR.

Correlation between the heterosis of maize hybrids and genetic divergence among lines

Abstract – The objective of this work was to evaluate grain yield of maize single cross hybrids obtained from diallel crosses among contrasting lines, to estimate the combining ability of the lines, and finally to confirm if the genetic diversity among those lines assessed by molecular markers is correlated with single cross hybrids heterosis. The 36 single cross hybrids resulting from partial diallel and 12 parental lines were evaluated in Campinas in randomized block design, with three replicates and two control lines checks. General combining ability of the lines was estimated according to Griffing model 4. Correlations among matrices were estimated through Mantel statistics, considering heterosis, yield and specific combining ability with genetic divergence assessed by AFLP and SSR. The hybrids PM518 x L111 exhibited an outstanding yield and the lines PM518, IP4035 and L111 showed positive general combining ability. The estimate heterosis ranged from 927 to 6,698 kg ha⁻¹. A positive and significant correlation was observed in parental lines between heterosis and genetic diversity assessed by AFLP and SSR. The genetic divergence, however, was not enough to determine the specific combining ability and the hybrids yield.

Index terms: *Zea mays*, molecular markers, partial diallel, combining ability, yield, AFLP, SSR.

Introdução

Em programas de melhoramento de milho é necessário identificar linhagens com melhor desempenho em combinações híbridas. A avaliação das linhagens quanto à capacidade de combinação é a etapa mais trabalhosa e o método de cruzamentos dialélicos é amplamente utilizado pelos melhoristas. De acordo com

Hallauer & Miranda Filho (1995), o conhecimento dos efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) e da capacidade específica de combinação (CEC) auxilia nos testes de hipóteses e predição de cruzamentos, e é importante para o conhecimento da estrutura genética de linhagens e populações.

Segundo a teoria da genética quantitativa, em qualquer grau de dominância superior a zero, a heterose é

decorrente da frequência alélica entre os genitores, e existe correlação positiva entre divergência genética e heterose (Falconer & Makay, 1996). Por este motivo, estimativas de divergência genética entre linhagens, por meio de marcadores moleculares, contribuem para poupar esforços de polinizações manuais, possibilitam a obtenção de grupos heteróticos e direcionam os cruzamentos na tentativa de se obter híbridos produtivos e vigorosos (Laborda et al., 2005).

Em estudos sobre o milho, o emprego de marcadores moleculares tem-se mostrado muito importante na avaliação da diversidade genética entre linhagens e na determinação de grupos heteróticos entre elas. No entanto, a correlação entre divergência genética e o comportamento do híbrido não é consistente, o que mostra que análises de divergência genética nem sempre são úteis para prever o desempenho dos híbridos obtidos (Barbosa et al., 2003).

A diversidade entre as linhagens tropicais de milho que compõem os programas de melhoramento genético, é pouco conhecida, e a ausência dessa informação tem dificultado a formação de grupos heteróticos adequados para utilização em programas de híbridos (Laborda, 2003). Destacam-se, na pesquisa com linhagens tropicais, os trabalhos de Barbosa et al. (2003), Laborda (2003), Oliveira et al. (2004) e Laborda et al. (2005).

O objetivo deste trabalho foi avaliar híbridos simples quanto à produtividade, a partir de cruzamentos dialélicos entre linhagens divergentes, sendo esta divergência estimada a partir de marcadores moleculares AFLP e SSR; estimar a heterose e a capacidade de combinação das linhagens e confirmar se a divergência genética entre as linhagens, obtidas por marcadores moleculares, é correlacionada com a heterose dos híbridos simples no campo.

Material e Métodos

As linhagens utilizadas nos cruzamentos, pertencentes ao banco de germoplasma do IAC, formam dois grandes grupos: linhagens antigas do programa de melhoramento de milho, e as mais recentes, provenientes do Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT). As linhagens abreviadas em AL, IP, IA, PM e VER referem-se às linhagens antigas, provenientes de lugares diferentes, enquanto as linhagens L são provenientes do CIMMYT.

Essas linhagens haviam sido caracterizadas quanto à divergência genética por meio de marcadores

moleculares do tipo AFLP (Oliveira et al., 2004) e também pela associação dos marcadores AFLP e SSR (Laborda et al., 2005) pelo Centro de Biologia Molecular da Unicamp, para estudo da diversidade genética e para subsidiar o programa de melhoramento de milho do Instituto Agronômico (IAC).

Com base nos resultados dessas análises moleculares, linhagens de diferentes distâncias genéticas foram cruzadas em esquema dialélico parcial. Os 36 híbridos simples resultantes do dialélico parcial 6x6 e as 12 linhagens genitoras foram avaliados no Centro Experimental do IAC, em Campinas, na safra 2004/2005. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com três repetições e duas testemunhas comerciais (IAC 8333 e DKB 350). Cada parcela foi constituída por duas linhas de 5 m espaçadas em 0,90 m, com um total de 50 plantas.

Foi avaliada a produtividade de grãos (PG), ressaltando-se que para as estimativas de parâmetros genéticos, os dados de PG foram corrigidos para umidade de 14% e estande ideal (Cruz & Regazzi, 1994). Na análise dialélica parcial, foi utilizado o modelo 4 de Griffing (1956) e o programa Genes (Cruz, 1997).

As estimativas da heterose foram realizadas a partir de: $H = \bar{F}_1 - \bar{MP}$, em que \bar{F}_1 é a média do híbrido simples e \bar{MP} é a média das linhagens genitoras.

Estimaram-se as correlações simples entre produtividade de grãos (PG), heterose (H) e capacidade específica de combinação (\hat{s}_{ij}) com a distância genética (DG) obtida por AFLP e SSR.

O DNA foi isolado de acordo com Hoisington et al. (1994) e quantificado em géis de agarose a 0,8%. A amplificação dos SSR seguiu um programa de PCR e a visualização dos produtos da PCR foi feita em géis agarose/metaphor 4%, corados com brometo de etídeo. Na análise dos dados SSR, empregou-se os programas “Tools For Population Genetic Analysis” (TFPGA) versão 1.3 (Miller, 1997) e “Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System” (NTSYS) versão 2.1 (Rohlf, 1997).

A análise por AFLP foi realizada de acordo com Vos et al. (1995), utilizando o “AFLP Analysis Kit” (Life Technologies – GIBCO BRL).

Os resultados SSR e AFLP foram interpretados por meio de um sistema binário, obtendo-se uma matriz utilizada para fins de cálculo de distância genética, feito com o auxílio do software NTSYS (Exeter Software, N.Y.; Rohlf, 1997), utilizando-se o coeficiente de

similaridade de Jaccard (1908) e o método de agrupamento UPGMA. O coeficiente de similaridade (SG) foi convertido para distância genética (DG): $DG = 1 - SG$. Os diferentes grupos foram obtidos mediante o método de otimização de Tocher (Rao, 1952).

A estatística de Mantel (1967) foi utilizada a fim de se testar a significância da associação entre as matrizes com diferentes tipos de distâncias entre pares de observações (Smouse et al., 1986; Manly, 1991). Mil permutas aleatórias foram utilizadas para se testar a significância das correlações matriciais. Os testes de Mantel simples foram utilizados com o pacote NTSYS.

Resultados e Discussão

Houve diferenças significativas ($p < 0,01$) no efeito de tratamentos para PG, indicando haver variabilidade genética entre os híbridos simples. Destacou-se o híbrido 4x3' (PM518 x L111), com produtividade de 11.402 kg ha⁻¹, que superou a média das testemunhas comerciais (Tabela 1).

As estimativas de heterose em relação à média dos pais (H), obtidas pelos híbridos experimentais do dialelo, variaram de 927 a 6.738 kg ha⁻¹, o que confirma a grande variabilidade genética entre os híbridos e também a elevada diversidade entre as linhagens genitoras.

Tabela 1. Médias de produtividade de grãos (PG) (corrigida para 14% de umidade e estande ideal) de 36 híbridos simples experimentais do dialelo parcial e das testemunhas comerciais, heterose (H), estimativa da capacidade específica de combinação (\hat{s}_{ij}) e valores de divergência genética (DG) entre as linhagens por AFLP e SSR⁽¹⁾.

Híbridos	Origem	PG (kg ha ⁻¹)	H (kg ha ⁻¹)	\hat{s}_{ij} (kg ha ⁻¹)	DG AFLP	DG SSR
1 x 1'	L110 x L10	6.769efgh	3.789	-131,472	0,5856	0,7222
1 x 2'	L110 x IP4035	8.713bcdef	6.467	521,694	-	0,8133
1 x 3'	L110 x L111	7.787bcdefghi	3.646	-169,472	0,5709	0,7703
1 x 4'	L110 x L172	6.214ghij	3.564	-1.090,970	0,5152	0,7671
1 x 5'	L110 x L100	6.942cdefghij	3.760	-110,806	0,5276	0,8072
1 x 6'	L110 x L13	8.479bcdefgh	4.570	981,028	0,5333	0,7922
2 x 1'	AL519 x L10	9.204abc	5.575	2.222,194	0,5082	-
2 x 2'	AL519 x IP4035	7.338bcdefghj	4.443	-935,639	-	-
2 x 3'	AL519 x L111	6.041ij	1.251	-1996,810	0,5184	-
2 x 4'	AL519 x L172	7.008bcdefghij	3.709	-378,306	0,4985	-
2 x 5'	AL519 x L100	7.115bcdefghij	3.284	-19,139	0,5323	-
2 x 6'	AL519 x L13	8.686bcdef	4.128	1.107,694	0,4972	-
3 x 1'	IP330 x L10	7.924bcdefghi	3.213	891,361	0,4331	0,7108
3 x 2'	IP330 x IP4035	8.995bcde	5.018	670,528	-	0,7470
3 x 3'	IP330 x L111	6.799defghij	927	-1.289,640	0,4332	0,6579
3 x 4'	IP330 x L172	7.750bcdefghi	3.369	311,861	0,4057	0,6835
3 x 5'	IP330 x L100	7.051bcdefghij	2.138	-133,972	0,4140	0,6941
3 x 6'	IP330 x L13	7.180bcdefghij	1.540	-450,139	0,4422	0,6914
4 x 1'	PM518 x L10	7.132bcdefghij	3.629	-139,972	0,4944	0,7750
4 x 2'	PM518 x IP4035	7.350bcdefghij	4.581	-1.213,810	-	0,7632
4 x 3'	PM518 x L111	11.402a	6.738	3.074,028	0,4956	0,7123
4 x 4'	PM518 x L172	7.634bcdefghij	4.462	-42,472	0,5106	0,7027
4 x 5'	PM518 x L100	6.465fghij	2.760	-959,306	0,4859	0,8182
4 x 6'	PM518 x L13	7.150bcdefghij	2.719	-718,472	0,4871	0,7750
5 x 1'	IP701 x L10	6.097ghij	2.452	-1.269,810	0,5374	0,7848
5 x 2'	IP701 x IP4035	8.466bcdefgh	5.555	-192,639	-	0,8205
5 x 3'	IP701 x L111	8.790bcdef	3.984	367,194	0,5197	0,7397
5 x 4'	IP701 x L172	8.573bcdefg	5.258	802,694	0,5073	0,7297
5 x 5'	IP701 x L100	8.484bcdefg	4.637	964,861	0,5372	0,7375
5 x 6'	IP701 x L13	7.291bcdefghij	2.717	-672,306	0,5312	0,7500
6 x 1'	L11 x L10	5.359j	1.949	-1.572,310	0,5430	0,7105
6 x 2'	L11 x IP4035	9.374ab	6.698	1.149,861	-	0,6944
6 x 3'	L11 x L111	8.004bcdefghi	3.433	14,694	0,5317	0,7949
6 x 4'	L11 x L172	7.734bcdefghij	4.655	397,194	0,5165	0,5970
6 x 5'	L11 x L100	7.344bcdefghij	3.732	258,361	0,5276	0,7619
6 x 6'	L11 x L13	7.281bcdefghij	2.943	-247,806	0,5110	0,6575
	DKB 350	6.599fghij				
	IAC 8333	9.167abcd				
Média		6.758				
Dms (5%)		2.383				
CV (%)		9,4				

⁽¹⁾Médias com letras diferentes na coluna diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; dados de divergência genética obtidos por Laborda (2003).

O híbrido com o maior valor de heterose foi 4x3' (PM518 x L111), formado por linhagens pertencentes a grupos heteróticos diferentes. O híbrido que alcançou o menor valor de heterose, 3x3' (IP330 x L111) é proveniente da combinação entre duas linhagens do mesmo grupo de diversidade, de acordo com Oliveira et al. (2004).

Ressaltam-se ainda os híbridos com produtividade superior a 9.000 kg ha⁻¹: 2x1' (AL519 x L10) e 6x2' (L11 x IP4035). O primeiro híbrido é formado por linhagens de grupos divergentes, ao passo que o segundo, apesar de ser formado por linhagens que pertencem ao mesmo grupo de diversidade genética, possui origens diferentes.

Hallauer & Miranda Filho (1995), ao estudarem o fenômeno da heterose, verificaram que, além da existência de genes com grau parcial a completo de dominância, controlando determinado caráter, a expressão da heterose quanto à produtividade também depende do grau de diversidade entre os genitores, ou seja, diferenças nas frequências alélicas são necessárias para a expressão da heterose. Falconer & Makay (1996) verificaram que o fenômeno da heterose ocorre devido à existência de dominância no controle do caráter e também pela divergência genética entre as linhagens.

A média da PG dos 36 híbridos foi de 7.664 kg ha⁻¹. A análise de variância dialélica para PG está apresentada na Tabela 2. Os quadrados médios referentes à CGC das linhagens do Grupo 2 e à CEC foram altamente significativos (p<0,01). Estes resultados evidenciam a presença de efeitos aditivos e não-aditivos no controle genético de PG, o que concorda com resultados obtidos por Miranda Filho & Nass (2001) e Aguiar et al. (2003).

Na Tabela 3, estão descritos os grupos de diversidade genética (Oliveira et al., 2004), a origem, o valor da produtividade de grãos (PG) e as estimativas de capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) das linhagens empregadas neste dialelo. De maneira geral, obtiveram-se estimativas baixas de \hat{g}_i , destacando-se no Grupo 1 as linhagens PM518 e

Tabela 2. Análise de variância dialélica (Griffing, 1956) de produtividade de grãos de 36 híbridos simples de milho resultantes do dialelo parcial.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio
Cruzamentos	35	3.939.778,369**
CGC G-1	5	666.121,883
CGC G-2	5	4.620.885,483**
CEC 1x2	25	4.458.288,243**
Resíduo	70	476.109,413

**Significativo pelo teste F, a 1% de probabilidade.

IP701 e no Grupo 2, IP4035 e L111. As estimativas da capacidade específica de combinação foram mais expressivas, destacando-se valores de \hat{s}_{ij} dos híbridos para produtividade de grãos: 2x1' (AL519 x L10), 2x6' (AL519 x L13), 4x3' (PM518 x L111) e 6x2' (L11 x IP4035), respectivamente, de 2.222, 1.108, 3.074 e 1.150 kg ha⁻¹ (Tabela 1).

As estimativas de diversidade entre as linhagens genitoras apresentaram maiores amplitudes de variação mediante o uso de SSR, no qual a divergência genética variou de 0,5970 a 0,8205 (Laborda, 2003). Quanto a AFLP, houve menor amplitude de variação, com valores variando de 0,4057 a 0,5856 (Laborda, 2003). No entanto, os maiores valores de DG não corresponderam aos maiores valores de produtividade de grãos.

Os maiores coeficientes de distância genética foram obtidos pelos cruzamentos entre linhagens de grupos heteróticos distintos, como no caso de 1x1' (0,5856) e 1x3' (0,5709) obtidos por AFLP, e de 1x5' (0,8072) e 4x5' (0,8182) por SSR (Tabela 1).

Na Tabela 4 estão apresentados os coeficientes de correlação entre produtividade (PG), heterose em relação à média dos pais (H), estimativa da capacidade específica de combinação (\hat{s}_{ij}) e diversidade genética obtida por AFLP e SSR. Houve correlação positiva e significativa somente entre as estimativas de heterose e distância genética entre as linhagens genitoras, o que está de acordo com os

Tabela 3. Grupo de diversidade genética, origem, produtividade de grãos (PG) e estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (\hat{g}_i) (Griffing, 1956) de 12 linhagens de milho empregadas no dialelo parcial.

Linhagem	Grupo ⁽¹⁾	Origem	PG (kg ha ⁻¹)	\hat{g}_i
Grupo 1				
1 L110	D	POP.26	2.475	-180,528
2 AL519	C	CATETO	2.018	-99,194
3 IP330	A	CATETO	5.809	-43,361
4 PM518	B	CATETO	2.825	190,972
5 IP701	D	CATETO	3.890	285,805
6 L11	D	POP.27	5.343	-148,694
Grupo 2				
1' L10	A	POP.36	3.772	-583,528
2' IP4035	D	CATETO	5.937	708,305
3' L111	A	POP.26	3.520	472,472
4' L172	A	POP.28	3.806	-179,028
5' L100	A	POP.27	3.334	-431,194
6' L13	A	POP.26	3.486	12,972
DP(g_i) ⁽²⁾				148,466

⁽¹⁾Grupo de diversidade genética obtido por marcadores moleculares (Oliveira et al., 2004). ⁽²⁾DP: desvio-padrão da estimativa da CGC.

resultados obtidos por Smith et al. (1990), Barbosa et al. (2003) e Reif et al. (2003).

O valor da correlação entre a distância genética obtida por AFLP e heterose foi de $r = 0,527^*$ ($p < 0,05$), ao passo que para a distância por SSR a correlação foi de $r = 0,511^*$ ($p < 0,05$). Em virtude da correlação positiva e significativa entre heterose e DG, esperava-se consistência na correlação entre capacidade específica de combinação (\hat{s}_{ij}) e DG, uma vez que heterose e \hat{s}_{ij} fornecem informações semelhantes. No entanto, foram observados valores negativos nas correlações entre DG obtidas por ambos os marcadores e \hat{s}_{ij} ($r = -0,061$ para AFLP e $r = -0,075$ para o marcador SSR), o que demonstra que estimativas de correlações entre variáveis moleculares (distância genética) com estimativas de parâmetros quantitativos são complexas, de pouca consistência e difícil interpretação.

Os valores das correlações entre as médias de produtividade dos híbridos simples e as distâncias genéticas, obtidas por AFLP e SSR, respectivamente, alcançaram resultados positivos, porém não-significativos pelo teste de Mantel ($r = 0,173$ e $r = 0,169$), o que concorda com os resultados obtidos por Dudley et al. (1992) e Lanza et al. (1997). Esta baixa correlação pode ser explicada pela ausência de dominância, pelas frequências alélicas das linhagens genitoras não estarem negativamente correlacionadas, das marcas não estarem associadas com QTL influentes ao caráter e devido à produtividade de grãos não possuir alta herdabilidade (Bernardo, 1992).

A correlação entre os dois marcadores moleculares empregados foi significativa ($p < 0,01$) com valor elevado ($r = 0,993^{**}$) no dialelo, mostrando que o emprego de ambos os marcadores moleculares é útil nas análises de divergência genética entre linhagens.

Tabela 4. Estimativas de coeficientes de correlação simples (r) entre produtividade de grãos (PG), heterose em relação à média dos pais (H) e capacidade específica de combinação (\hat{s}_{ij}) (Griffing, 1956) com distância genética (DG) por AFLP e SSR.

	Dialelo	
	AFLP	SSR
PG	0,173 ^{ns}	0,169 ^{ns}
H	0,527*	0,511*
\hat{s}_{ij}	-0,016 ^{ns}	-0,075 ^{ns}

^{ns}Não-significativo. *Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Mantel.

Conclusões

1. Há predominância dos efeitos aditivos e de dominância para produtividade de grãos em milho.
2. As distâncias genéticas obtidas por AFLP e SSR são correlacionadas apenas com a heterose dos híbridos e não permitem inferir sobre os cruzamentos em programas de melhoramento de milho.
3. As altas estimativas de divergência genética entre as linhagens não implicam, necessariamente, altos valores de CEC e não se correlacionam com a produtividade do híbrido.
4. Não é possível prever a CEC e a produtividade de grãos dos cruzamentos com base na divergência genética entre as linhagens envolvidas.

Agradecimentos

À Fapesp, pelo financiamento do projeto; à pesquisadora Maria Imaculada Zucchi, pela ajuda e interpretação das estatísticas de Mantel.

Referências

- AGUIAR, A.M.; CARLINI-GARCIA, L.A.; SILVA, A.R. da; SANTOS, M.F.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, C.L. de. Combining ability of inbred lines of maize and stability of their respective single-crosses. *Scientia Agricola*, v.60, p.83-89, 2003.
- BARBOSA, A.M.M.; GERALDI, I.O.; BENCHIMOL, L.L.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, C.L.; SOUZA, A.P. Relationship of intra- and interpopulation tropical maize single cross hybrid performance and genetic distances computed from AFLP and SSR markers. *Euphytica*, v.130, p.87-99, 2003.
- BERNARDO, R. Relationship between single-cross performance and molecular marker heterozygosity. *Theoretical and Applied Genetics*, v.83, p.628-634, 1992.
- CRUZ, C.D. **Programa GENES**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 1997. 442p.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1994. 390p.
- DUDLEY, J.W.; SAGHAI MOROOF, M.A.; RUFENER, G.K. Molecular marker information and selection of parents in corn breeding programs. *Crop Science*, v.32, p.301-304, 1992.
- FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to quantitative genetics**. 4th ed. Edinburgh: Longman, 1996. 462p.
- GRIFFING, J.B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel systems. *Australian Journal of Biological Science*, v.9, p.463-493, 1956.
- HALLAEUR, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2nd ed. Ames: Iowa State University Press, 1995. 468p.

- HOISINGTON, D.; KHAIRALLAH, M.; GONZALEZ-DE-LEON, D. Laboratory protocols: CIMMYT applied molecular genetics laboratory. 2nd ed. México: CIMMYT, 1994. 88p.
- JACCARD, P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. **Bulletin Society Vaud Science Natural**, v.44, p.223-270, 1908.
- LABORDA, P.R. **Diversidade genética entre linhagens de milho tropical**: estudo com base em marcadores moleculares. 2003. 103p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- LABORDA, P.R.; OLIVEIRA, K.M.; GARCIA, A.A.F.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; SOUZA, A.P. Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? **Theoretical and Applied Genetics**, v.111, p.1288-1299, 2005.
- LANZA, L.L.B.; SOUZA JUNIOR, C.L. de; OTTOBONI, L.M.M.; VIEIRA, M.L.C.; SOUZA, A.P. Genetic distance of inbred lines and prediction of maize single-cross performance using RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.94, p.1023-1030, 1997.
- MANLY, B.F.J. **Randomization and Monte Carlo methods in biology**. London: Chapman & Hall, 1991. 281p.
- MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, v.27, p.209-220, 1967.
- MILLER, M.P. **Tools For Population Genetic Analyses (TFPGA)**: a Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Versão 1.3. Northern Arizona University, 1997. (Computer software distributed by the author).
- MIRANDA FILHO, J.B.; GERALDI, I.O. An adapted model for the analysis of partial diallel crosses. **Revista Brasileira de Genética**, v.7, p.677-688, 1984.
- MIRANDA FILHO, J.B.; NASS, L.L. Hibridação no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S. de; VALADARES-INGLIS, M.C. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas**, p.603-627, 2001.
- OLIVEIRA, K.M.; LABORDA, P.R.; GARCIA, A.A.F.; ZAGATTO-PATERNIANI, M.E.A.G.; Souza, A.P. Evaluating genetic relationships between tropical maize inbred lines by means of AFLP profiling. **Hereditas**, v.140, p.24-33, 2004.
- RAO, R.C. **Advanced statistical methods in biometrical research**. New York: John Willey and Sons, 1952. 390p.
- REIF, J.C.; MELCHINGER, A.E.; XIA, X.C.; WARBURTON, M.L.; HOISINGTON, D.A.; VASAL, S.K.; SRINIVASAN, G.; BOHN, M.; FRISCH, M. Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. **Crop Science**, v.43, p.1275-1282, 2003.
- ROHLF, F.J. **NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System**. Versão 2.1. New York: Exeter Publications, 1997.
- SMITH, O.S.; SMITH, J.S.C.; BOWEN, S.L.; TENBORG, R.A.; WALL, S.J. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F₁ grain yield, heterosis, and RFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, v.80, p.833-840, 1990.
- SMOUSE, P.E.; LONG, J.C.; SOKAL, R.R. Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. **Systematic Zoology**, v.35, p.627-632, 1986.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRITJERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v.23, p.4407-4414, 1995.

Recebido em 22 de dezembro de 2006 e aprovado em 23 de maio de 2007