

DETERMINAÇÃO DE GRUPOS HETERÓTICOS E ANÁLISE FILOGENÉTICA COM MARCADORES DE RAPD EM 28 VARIEDADES TROPICAIS DE MILHO

Sidney Netto Parentoni ⁽¹⁾, Jurandir Magalhães⁽¹⁾, Manoel Xavier dos Santos⁽¹⁾, Cleso Antonio Patto Pacheco⁽¹⁾, Elto Eugenio Gomes e Gama⁽¹⁾; Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães⁽¹⁾, Walter Meireles⁽¹⁾, Isabel Regina Prazeres de Souza⁽¹⁾; Maurício Antonio Lopes⁽¹⁾, Maria José Vilaça Vasconcelos⁽¹⁾ & Edilson Paiva⁽¹⁾. ⁽¹⁾, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG.

Palavras-chave: grupos heteróticos, filogenia, marcadores RAPD, variedades de milho.

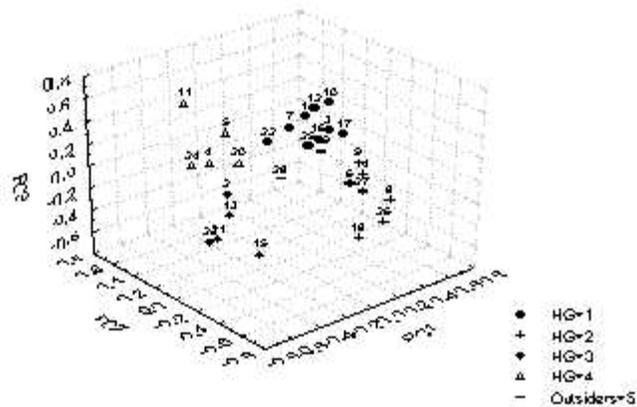
Grupo heterótico tem sido definido como uma coleção de germoplasma que, quando cruzada com germoplasma de outro grupo, tende a exibir maiores níveis de heterose do que quando cruzada com membros de seu próprio grupo (Lee, 1995). Grupos heteróticos em milho são mais claramente determinados em germoplasma temperado (Flints Europeus x linhagens dentadas americanas, utilizados na Europa, e Reid Yellow Dent x Lancaster, utilizados nos EUA) do que em germoplasma tropical. A associação de um maior nível de diversidade genética utilizado nos programas tropicais, com um número menor de estudos de capacidade combinatória desse germoplasma (Cossa et al. 1990; Beck et al. 1990) torna mais difícil o estabelecimento de grupos heteróticos em germoplasma tropical. O programa de melhoramento de milho da Embrapa Milho e Sorgo vem atuando em introdução, avaliação e seleção de germoplasma tropical adaptado às condições brasileiras desde 1974. Nesse período, foram liberadas mais de 30 variedades de polinização aberta usadas diretamente pelos agricultores ou como fonte de linhagens para programas públicos e privados de melhoramento. A coleção ativa do programa de melhoramento de milho da Embrapa Milho e Sorgo é formada hoje por 28 variedades. Essas 28 variedades foram utilizadas como parentais em um dialelo. Os 28 pais e os 378 F1's foram avaliados em cinco locais, por dois anos (Santos et al. 1994;). Foi obtida uma matriz 28x28 com os dados de capacidade específica de combinação (CEC) obtidos nos dez ambientes (Pacheco, 1997). A heterose média no cruzamento de duas variedades (h_{ij}) pode ser definida como: $h_{ij} = s_{ij} - ((s_{ii} + s_{jj})/2)$, onde s_{ij} é a capacidade específica de combinação entre elas e s_{ii} e s_{jj} são função da capacidade específica de combinação de cada variedade com ela mesma (Pacheco, 1997). A matriz de CEC dos 378 F1's foi utilizada em análise de componentes principais. Com base nos resultados gráficos obtidos, associados a dados de pedigree e tipo de grão, foram determinados quatro grupos heteróticos (Figura 1), dispostos da seguinte forma: a) Grupo 1 (nove variedades), formado principalmente por germoplasma de origem Tuxpeño (BR106, CMS28, Sintético Elite) e outros materiais dentados (CMS12, CMS15, BAIH-Tusón); b) Grupo 2 (nove variedades), formado principalmente por germoplasma flint (BR105, BR107, CMS11, CMS23, CMS36, Nitroflint, Saracura); c) Grupo 3 (cinco variedades) formado por compostos dentados como o BR 126 e CMS 50, uma variedade derivada de germoplasma subtropical (CMS22) e a variedade CMS02 (AntiguaxVera Cruz); d) Grupo 4 (cinco variedades), representadas principalmente por duas versões de Amarillo Dentado (CMS04 e CMS04-C) e a variedade CMS 14C. A consistência dos grupos heteróticos foi confirmada de duas maneiras: a) com base nas médias de F1 e CEC para os cruzamentos entre e dentro de grupos heteróticos (Tabela 3); b) os 378 F1's foram organizados em ordem decrescente de CEC e divididos em quatro classes (1-100, 101-200, 201-300 e 301 a 378). A hipótese de uma distribuição ao acaso de cruzamentos entre e dentro de grupos heteróticos em cada uma dessas classes foi verificada utilizando-se um teste de

Qui-Quadrado. O resultado mostrou claramente a maior frequência de cruzamentos entre grupos heteróticos para os maiores valores de CEC e vice-versa, confirmando a consistência dos grupos encontrados (Tabela 2). Com base nos valores máximos de F1 e CEC entre grupos heteróticos foram selecionadas as combinações mais úteis para um programa de híbridos de melhoramento: a) Grupo 1x2 - BR106 x CMS11, BR106 x BR105, CMS03 x BR105; b) Grupo 1x3 - BR106 x CMS50, CMS12 x CMS50; c) Grupo 1x4 - BR106 x CMS14C, BR106 x CMS04; d) Grupo 2x4 - Nitroflint x CMS14C (Figura 2). O fato de a variedade CMS03(Amarillo Cristalino) ser a única variedade de grãos semiduros classificada no Grupo 1 chamou a atenção. O pedigree dessa variedade mostra que a mesma foi formada a partir de uma mistura de germoplasma Eto, Flints Cubanos e Tuxpeño (CIMMYT, 1984). Os resultados deste trabalho indicam que o comportamento desta variedade em cruzamentos é mais próximo ao germoplasma Tuxpeno. Um ponto relevante é que a variedade CMS14C foi uma das que se posicionaram mais distante das outras, na análise de componentes principais com dados de CEC (Figura 1). Ainda com base nos valores de F1 e CEC, o padrão heterótico BR106 X BR105 (8532,+ 34)foi superado pelo padrão heterótico BR106 X CMS14C (8515, + 370). Esse último padrão heterótico tem sido utilizado com sucesso em híbridos públicos como BR201 e BRS3060. Marcadores de RAPD foram utilizados em DNA obtido a partir de um bulk de 80 plântulas, para genotipagem de cada variedade. Foram testados 50 primers, que geraram um total de 178 bandas polimórficas. Foi realizado score para presença (1) ou ausência (0) de cada uma das bandas nas 28 variedades (Figura 4). Dados dessa matriz 28x178 foram utilizados para se obter um dendograma com o método de UPGMA (Figura 3). A classificação obtida no dendograma em geral concorda com aquela esperada com base nos dados de pedigree das variedades. Variedades com grão do tipo Flint ou semiflint tenderam a se agrupar separadamente daquelas com grãos do tipo Dente ou semidente (Figura 3). Um maior número de clusters foi observado entre o germoplasma dente que entre o germoplasma Flint utilizado neste estudo, indicando maior diversidade entre os primeiros. Outros pontos a serem ressaltados no dendograma são: a) variedades que foram obtidas a partir de um mesmo germoplasma e submetidas a seleção divergente para tipo de grão (Nitroflint e Nitrodente), agruparam-se no mesmo cluster e mostraram a menor distância de ligação; b) variedades submetidas a seleção divergente para ambientes específicos (CMS04-Normal e CMS04-Cerrado) agruparam-se juntas; c) duas variedades com germoplasma Antigua em seu pedigree agruparam-se juntas (CMS02 e CMS23); d) Os Pools 21, 25 e 26 do CIMMYT agruparam-se em um mesmo cluster. A consistência do dendograma obtido com marcadores foi testada obtendo-se a correlação entre a matriz de distância obtida com 178 bandas polimórficas com aquelas obtidas com 92, 132, 152 e 162 bandas. Os coeficientes de correlação foram, respectivamente, 0,87, 0,93, 0,97 e 0,98, indicando que 150 bandas polimórficas seria um número adequado para obter-se um dendograma. O dendograma obtido com marcadores de RAPD não separou as variedades nos grupos heteróticos encontrados com base nos dados de CEC. O coeficiente de correlação obtido entre a distância obtida com marcadores de RAPD para cada par de variedades com os valores de CEC dos 378 F1's foi baixo e positivo $r=0.16^{**}$ (Figura 5). Esses dados indicam que marcadores de RAPD são úteis para estudos filogenéticos entre variedades, entretanto sua utilidade em separar as mesmas em grupos heteróticos tem que ser melhor avaliada.

Bibliografia

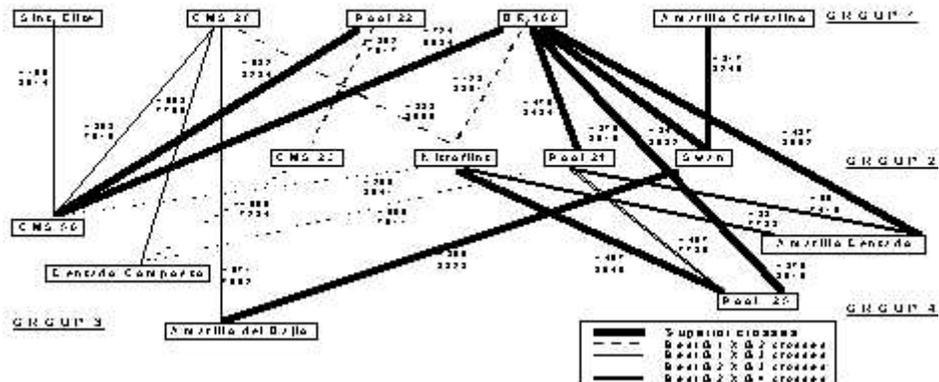
- Beck D.L., Vasal S.K., Crossa J., 1990. Heterosis and combining ability of CIMMYT'S tropical early and intermediate maturity maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Maydica* 35:279-285.
- CIMMYT 1984 International maize testing program. Informe preliminar de 1984, México, D.F., México.
- Crossa J., Vasal S.K., Beck D.L., 1990. Combining ability estimates of CIMMYT'S tropical late yellow maize germplasm. *Maydica* 35:273-278.
- Lee M., 1995 DNA markers and plant breeding programs. *Advances in Agronomy*, 55:265-344.
- Pacheco C.A.P., 1997 Associação das metodologias de análise dialélica de Griffing e de análise de adaptabilidade e estabilidade de Eberhart e Russel. Tese (doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, UFV, 118p.

HETEROTIC GROUPING ON 28 TROPICAL MAIZE VARIETIES USING PCA ON SCA DATA FROM 10 ENVIRONMENTS



Santos M.X., Pacheco C.A.P., Guimarães P.E.O., Gama E.E.G., Silva A.E., Oliveira A.C. 1994. Diallel among twenty eight varieties of maize. *Revista Brasileira de Genética* 17(3):277-282.

Figura 1. Grupos heteróticos obtidos entre 28 variedades de milho utilizando Análise de Componentes Principais nos valores de



capacidade específica de combinação para peso de espigas obtidos em dez ambientes.

Figura 2. Cruzamentos com mais altos valores de capacidade específica de combinação (CEC) e produção do F1. Valores próximos de cada linha indicam a CEC e F1 do respectivo cruzamento (médias de dez ambientes). Cruzamentos superiores para utilização em programas de melhoramento são identificados com linhas mais grossas.

Tabela 1. Valores de Qui-Quadrado utilizados para testar a hipótese de uma distribuição ao acaso ou não de cruzamentos dentro de cada uma das quatro classes (hipótese testada: existe maior frequência de cruzamentos entre grupos heteróticos nas classes com maiores valores de CEC e vice-versa). Valores de CEC dos 378 F1's foram ordenados em sequência decrescente e divididos nas quatro classes abaixo.

Classes	Cruzamentos entre Grupos Heteróticos		Cruzamentos dentro de Grupos Heteróticos		Qui-Quadrado	
	Observado	Esperado	Observado	Esperado	Valor	Probabilidade
1-100	92	75.6	08	24.3	15.41	< 0.001
101-200	84	75.6	16	24.3	4.32	< 0.05
201-300	61	75.6	39	24.3	10.45	< 0.01
301-378	49	59.0	29	19.0	9.65	< 0.01

Tabela 2. Valores médios de CEC e média de F1 (kg esp./ha) para dez ambientes para cruzamentos entre e dentro dos grupos heteróticos 1, 2 e 3. Número de cruzamentos utilizados para obter cada média são mostrados na segunda coluna.

GRUPOS	Número de Cruzamentos	Médias	
		CEC	F1
1 x 1	36	-111.6	6841
2 x 2	36	-213.1	6993
3 x 3	10	-361.2	6500
1 x 2	81	+87.8	7168
1 x 3	45	+296.3	7204
2 x 3	45	+180.0	7215