

LÍVIA GRACIELLE OLIVEIRA TOMÉ

**ANÁLISES BIOMÉTRICAS E MAPEAMENTO DE QTLs PARA
TOLERÂNCIA À SECA EM MILHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

LÍVIA GRACIELLE OLIVEIRA TOMÉ

**ANÁLISES BIOMÉTRICAS E MAPEAMENTO DE QTLs PARA
TOLERÂNCIA À SECA EM MILHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 30 de julho de 2009.

Pesq. Cláudia Teixeira Guimarães
(Coorientadora)

Prof. Pedro Crescêncio Souza Carneiro
(Coorientador)

Prof^a. Mara Garcia Tavares

Prof. Edgard Augusto de Toledo Picoli

Prof. Cosme Damião Cruz
(Orientador)

Às vezes, caminhamos errantes nesta vida,
sonhamos sempre, nos iludimos mais ainda...
Caímos e nos levantamos...
Em espaços curtos de tempo, somos capazes de chorar e
sorrir,
perder e ganhar,
viver escondidos ou arriscar tudo, dar a cara a tapa.
Podemos ser as pessoas mais amáveis,
porém, podemos nos transformar
em espécies frias e calculistas sem piedade.
Somos capazes de lambear o chão e tocar o céu.
Calar quando é para falar e gritar quando é hora de calar.
Somos frágeis, quase a ponto de nos trincarmos,
mas, quando menos se espera, nos transformamos em
leões,
somos muralhas, pedras inabaláveis.

Deus em sua bondade
nos dotou com a sublime capacidade da escolha.
Somos livres, podemos selecionar, ponderar,
pular de cabeça ou esperar... Somos livres!
Escolher o essencial é arte,
a bela arte de viver bem.

Não temamos a vida.
Tenhamos pavor, sim, da falta de sentido.
Deus nos criou para a felicidade...
A maior missão é ser feliz!
Até o último suspiro ainda é tempo de escolhermos o
caminho certo.
Mesmo se erramos, valerá a pena ter tentado...
Somos livres, graças a Deus!

Pe. Luís Erlin

*Aos meus pais, Levi Tomé de Oliveira e Maria da
Conceição Oliveira
Ao meu irmão, Leandro Tomé Oliveira
Aos meus tios, Ana Aparecida Domingos, Ilma Domingos,
Maria Cristina Domingos, Maria Helena Domingos, Ailton
Claret Domingos e José Luís Domingos.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre junto a mim mesmo nos momentos em que me distancio dele.

A minha mãe Maria da Conceição, ao meu pai Levi Tomé de Oliveira e ao meu irmão Leandro Tomé Oliveira, meus alicerces que me acompanham a todo o momento e nunca me desamparam.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Geral pela oportunidade de realização do curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo auxílio financeiro.

Ao professor Dr. Cosme Damião Cruz pela paciência acima de tudo, compreensão, orientação, pelos sábios ensinamentos responsáveis pelo meu crescimento, pelo desenvolvimento deste trabalho e presença em todos os momentos decisivos.

À Dra. Cláudia Teixeira Guimarães pelo exemplo de pesquisadora, paciência e compreensão, orientação e colaboração na condução deste trabalho.

Ao Dr. Jurandir pela atenção, disponibilidade na contribuição para o desenvolvimento dos trabalhos, orientações e valiosas sugestões.

Ao professor Dr. Pedro Crescêncio Souza Carneiro pela coorientação, amizade e valiosas sugestões.

À professora Dra. Mara Garcia Tavares pela compreensão, atenção, amizade e valiosas sugestões.

Ao professor Dr. Edgard Augusto de Toledo Picoli pela compreensão, atenção, amizade e valiosas sugestões.

À EMBRAPA milho e sorgo pela oportunidade de condução dos experimentos bem como a todos os pesquisadores e funcionários técnicos do Núcleo de Biologia Aplicada, do Galpão de Melhoramento de Milho e funcionários da Estação Experimental em Janaúba.

Aos amigos que me apoiaram nesta caminhada e que contribuíram para a minha vitória: Rafael, Danielle, Jaqueline, Belkiss, Caio, Carlos, Andréia, Fernanda Abreu, Felipe, Janaína, Márcio, Otávio, Tetsu, Eliel, Mirian, Thalís, Ricardo, Ubiraci, Ramon, aos Marcelo's Rabel e Soares, Célio Ramos, Miguel, Edna, Marília, Luísa, Jéssica, Thati e Edmilson.

De forma especial agradeço ao Rafael, Danielle, Jaqueline e Andréia por terem me apoiado muito nos momentos finais de escrita.

As minhas tias, tios e primos. Em especial, as minhas tias Ana, Ilma, Maria Cristina que, juntamente com os meus pais, me proporcionam força em todos os momentos, dedicação incondicional, amor e são responsáveis por minha formação.

Aos amigos de outros tempos que também contribuíram com esta conquista: Luciana Martins, Daniel, Marina, Paula, Wellington, Adriano, Jaqueline, Rosângela, Cíntia, Denilce, Elenice, Hosana e Shirlei.

A Bete e Rosimeire, secretárias do programa de Pós-Graduação.

A todos os professores que já tive em toda a minha vida acadêmica, por terem contribuído com a minha formação e crescimento.

Ao meu País, Brasil, que financiou toda minha formação acadêmica.

Meu muito obrigada!!!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	04
2.1. Centro de origem.....	04
2.2. Aspectos gerais do carácter tolerância à seca.....	05
2.3. Aspectos celulares e moleculares relacionados ao estresse hídrico.....	07
2.4. Mapeamento genético.....	10
2.4.1. Detecção de QTLs relacionados ao florescimento.....	11
2.4.2. Detecção de QTLs relacionados à senescência foliar e “stay- green”	15
2.4.3. Detecção de QTLs relacionados à produção de grãos e prolificidade.....	19
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

CAPÍTULO I

VARIABILIDADE GENÉTICA, INTERAÇÃO GENÓTIPO X AMBIENTE E GANHOS POR SELEÇÃO DIRETA E INDIRETA

RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	39
1. INTRODUÇÃO.....	41
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1. Características avaliadas.....	46
2.2. Análise de variância conjunta.....	47
2.3. Ganhos esperados por seleção.....	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
3.1. Variabilidade genética, potencial da população e qualidade do experimento.....	51
3.2. Parâmetros genéticos.....	59
3.3. Coeficientes de correlação entre caracteres.....	62
3.4. Interação genótipo x ambiente.....	67
3.5. Natureza da interação G x A.....	76
3.6. Ganhos por seleção.....	84
4. CONCLUSÕES.....	89
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

CAPÍTULO II

MAPEAMENTO DE QTLs PARA CARACTERES AGRONÔMICOS RELACIONADOS À TOLERÂNCIA À SECA EM MILHO

RESUMO.....	100
ABSTRACT.....	102
1. INTRODUÇÃO.....	103
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	106
2.1. Extração e quantificação de DNA genômico.....	106
2.2. Marcadores microsatélites.....	107
2.3. Análise estatística.....	108
2.3.1. Teste de segregação.....	109
2.3.2. Mapeamento genético.....	109
2.3.2.1. Estimação da porcentagem de recombinação.....	109
2.3.2.2. Ordenamento de genes.....	110
2.3.3. Análise de associação entre marcador e o QTL.....	111
2.3.3.1. Método da marca simples.....	111
2.3.3.2. Método de intervalo simples.....	111
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	115
3.1. Teste de segregação dos marcadores.....	115
3.2. Análise de associação entre marcador e QTL pelo método da marca simples.....	123
3.3. Regiões genômicas de coincidência para os diferentes caracteres.....	128
3.4. Detecção de QTL pelo método de intervalo simples.....	131
4. CONCLUSÕES.....	141
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	142

RESUMO

TOMÉ, Livia Gracielle Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009. **Análises biométricas e mapeamento de QTLs para tolerância à seca em milho.** Orientador: Cosme Damião Cruz. Coorientadores: Cláudia Teixeira Guimarães e Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

Um dos grandes objetivos do melhoramento de culturas é o aumento da produtividade agrícola associado à melhoria para o consumo humano ou animal. Esses objetivos podem ser alcançados por meio de melhorias nas condições ambientais ou por melhoria no potencial genético das populações. Nos últimos tempos, muito tem sido discutido a respeito do aquecimento global, mudanças climáticas, sobre o cenário agrícola frente a estas alterações e a contribuição do melhoramento genético na atenuação dos problemas advindo do aquecimento global. A seca é um dos maiores estresses ambientais que limitam o crescimento de plantas e, consequentemente, o rendimento das culturas. As plantas respondem ao déficit hídrico e se adaptam às condições de seca por meio de várias alterações fisiológicas e bioquímicas, incluindo modificações fenológicas. Entretanto, no milho, as perdas na produção de grãos são severas quando a cultura está sob condição de estresse hídrico, sendo este um dos principais fatores limitantes. O milho é particularmente sensível ao estresse hídrico na fase reprodutiva. Os programas de melhoramento de milho, nacionais e internacionais, têm considerado o estudo simultâneo de (i) análises

biométricas de caracteres relacionados à seca e correlacionados à produção de grãos e (ii) ao uso da tecnologia de marcadores moleculares para detecção de QTLs, que são a identificação de regiões genômicas responsáveis por induzir a tolerância à seca. Ambos os estudos possibilitam aos geneticistas o entendimento da herança do caráter tolerância à seca. As investigações genéticas indicam que a maioria dos caracteres relacionados ao estresse abiótico é de herança complexa, controlados por vários genes e altamente influenciados pela variação ambiental. O presente trabalho teve como objetivos abordar estes dois tipos de análises para o estudo de uma população $F_{2:3}$ de milho desenvolvida pela Embrapa/Milho e sorgo. Os experimentos instalados nos anos de 2006 e 2007 permitiram realizar inferências precisas para fins de melhoramento e para o mapeamento de QTLs. Ambos apresentaram variabilidade genética para as características de interesse, predizendo o sucesso de futuros estudos e uma possível utilização em programas de melhoramento. A interação genótipos x ambientes foi, predominantemente, complexa, mostrou a necessidade da condução e avaliação das populações segregantes nos diferentes anos da cultura do milho, bem como no ambiente com estresse hídrico. Os maiores ganhos com a seleção indireta para produção de grãos é através da característica prolificidade. Entretanto, os maiores ganhos diretos para produção de grãos, no ambiente de seca são realizados com base no desempenho médio dos genótipos. Da análise de detecção de QTLs, foi gerado um mapa de ligação com 82 marcadores microssatélites, cobrindo 825,03 cM do genoma do milho, com um marcador em média a cada 20 cM. Foram mapeados 45 QTLs pela metodologia de intervalo simples: seis para intervalo entre florescimentos, treze para altura de plantas, seis para produção de grãos, dez para folhas mortas, cinco para prolificidade e cinco para produção relativa.

ABSTRACT

TOMÉ, Livia Gracielle Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2009. **Biometric analysis and mapping of QTLs for drought tolerance in maize.** Advisor: Cosme Damião Cruz. Coadvisors: Cláudia Teixeira Guimarães and Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

One of the major goals of crop improvement is the increase in agricultural productivity associated with the improvement for the consumption in human or animal feeding. These goals can be achieved through improvements in environmental conditions or by improving the genetic potential of populations. Recently, much has been discussed about global warming, climate change on the agricultural scenario in the face of these changes and the contribution of genetic improvement in mitigating the problems arising from global warming. Drought is a major environmental stresses that limit plant growth and consequently crop yields. Plants respond to water deficit and adapt to drought conditions through a variety of physiological and biochemical changes, including phenological changes. However, the losses in grain production in maize are severe when the crop is under water stress condition, which is one of the main limiting factors. Maize is particularly sensitive to water stress during the reproductive phase. National and international maize breeding programs, have considered the simultaneous study of (i) biometric analysis of traits related to drought and their correlation with grain yield and (ii) the use of

molecular markers technology for detection of QTLs, which are the identification of genomic regions responsible for inducing tolerance to drought. Both studies make it possible for geneticists understand the inheritance of the tolerance to drought. The genetic investigations indicate that most of the traits related to abiotic stress have complex inheritance, controlled by several genes and highly influenced by environmental variation. This study aimed to address these two types of analysis for the study of an $F_{2:3}$ maize population developed by Embrapa / Maize and Sorghum. The experiments conducted during 2006 and 2007 allowed us to estimate accurate inferences for both improvement and QTL mapping. Both approaches showed genetic variability for characteristics of interest, predicting the success of future studies and possible use in breeding programs. The genotype x environment interaction was predominantly complex, showed the need for the conduct and evaluation of segregating populations in different maize seasons (years) and in the water stress environment. The major gains with indirect selection for grain production are achieved in the prolificacy trait. However, the largest direct gains for grain production, in the water stress environment, are achieved based on the average performance of the genotypes. The QTL detection analysis allowed the generation of a linkage map with 82 microsatellite markers, covering 825.03 cM of the maize genome, with an average of one marker every 20 cM. Forty and five QTLs were mapped by the simple interval methodology: anthesis silking interval (six), plant height (thirteen), yield (six), leaf senescence (ten), prolificacy (five), and relative production (five).

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, com participação média de 6% na oferta mundial. A cultura do milho é extremamente importante para a agricultura brasileira do ponto de vista social e econômico, uma vez que se destaca como produto de subsistência e suporte às cadeias produtivas industriais do leite e da carne de aves e suínos (CONAB, 2009).

A estimativa da safra de milho em dezembro de 2008 foi de 52,17 milhões de toneladas, mas, de acordo com a AgraFNP, devido às altas temperaturas ambientais a previsão caiu para 48,4 milhões de toneladas (CONAB, 2009). Na maioria das áreas cultivadas com milho no mundo, a ocorrência de seca ou períodos de estresse hídrico é fator causador de substanciais perdas na produtividade da cultura.

O déficit hídrico em algumas regiões tropicais é responsável pela redução da produtividade da cultura que pode resultar em perdas de 10 a 50% (EDMEADES et al., 1999). A seca é o estresse abiótico que mais afeta a produtividade de culturas, por limitar o crescimento de plantas e a produtividade das lavouras. O sucesso para o aumento da produtividade agrícola em ambientes estressantes depende do melhoramento genético e de práticas culturais, que devem ser empregados simultaneamente. O progresso do melhoramento para a tolerância ao estresse hídrico depende do entendimento das bases genéticas para o caráter (WAHID et al. 2007).

Os esforços com o melhoramento de estresses abióticos, como a seca, sempre foram amplos, porém, dificultados devido à característica ser de herança quantitativa e ao conhecimento, restrito das regiões genômicas e/ou genes que controlam a tolerância à seca. A produção de grãos é o caráter de maior importância nos programas de melhoramento de milho. Os melhoristas atribuem certa atenção para a seleção visando ao aumento na produção de grãos, sob estresse hídrico, devido à existência de alta proporção da variância ambiental em relação à variância genética (RIBAUT et al. 2002; TUBEROSA & SALVI, 2006).

Relatos apontam que os principais caracteres a serem considerados em programas de melhoramento visando tolerância à seca são: prolificidade (número de espigas por planta), intervalo entre florescimentos masculino e feminino, número de ramificações do pendão e senescência retardada das folhas e colmos ("stay-green"). Esses caracteres são de herdabilidade elevada, correlacionados com a produção de grãos e passíveis de serem avaliados fenotipicamente em larga escala (RIBAUT et al., 1996; AGRAMA & MOUSSA, 1996; BÄNZINGER et al., 2000; KAMARA et al., 2003).

Considerando o fato de a característica tolerância à seca ser de herança complexa, é de grande importância a utilização de estratégias moleculares para a identificação de regiões genômicas associadas a este caráter. Uma estratégia para buscar regiões genômicas que contenham genes envolvidos no controle de caracteres é o mapeamento genético. O mapeamento de QTLs é a identificação de regiões genômicas responsáveis pela expressão de caracteres quantitativos. Os marcadores ligados aos QTLs podem ser utilizados em seleção genômica ou como guias visando à clonagem posicional dos genes. O mapeamento de QTLs para produção de grãos e seus componentes em milho tem grande importância para o esclarecimento da herança desses caracteres (AGRAMA & MOUSSA, 1996; AUSTIN et al., 2001).

A seleção de genótipos que apresentam bons desempenhos em vários ambientes, podendo ser estes em condições de estresse ou em condições favoráveis é prática dos programas de melhoramento. Desta

forma, a identificação de QTLs que demonstram consistência na expressão ao longo de vários ambientes, mesmo em ambientes adversos tem sido de grande interesse para os melhoristas, a fim de praticar a seleção assistida por marcadores.

Nos últimos anos, análises QTL contribuíram significativamente com a identificação de regiões, no cromossomo, controladoras de alterações fisiológicas e morfológicas dos vegetais, observadas quando estes estão sob condições limitadas de água (Cattivelli et al., 2008).

Baseado no exposto, os objetivos deste trabalho foram avaliar o potencial e a variabilidade genética de uma população $F_{2:3}$ de milho sob estresse hídrico, estimar os parâmetros genéticos, identificar a natureza da interação genótipo x ambiente e prever os ganhos genéticos com a seleção para o caráter produção de grãos e detectar QTLs responsáveis para os caracteres intervalo entre florescimentos, produção de grãos, folhas mortas, altura de plantas, prolificidade e produção relativa.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Centro de origem e classificação botânica

O milho é uma gramínea, taxonomicamente classificada como *Zea mays* L. spp. *mays*. Família Poaceae, tribo Maydeae, gênero *Zea* e espécie *mays* (*Zea mays* L.). A tribo Maydeae caracteriza-se por monoecismo, isto é, as flores são unissexuadas, geralmente em inflorescências masculinas e femininas, separadas na mesma planta. O gênero americano *Zea* compreende o milho e o teosinto, ambos com $2n = 2x = 20$ cromossomos.

Milho (*Zea mays*), teosinto (*Euchlaena mexicana*, *Zea mexicana* ou *Zea mays* spp. Mexicana) e tripsacum (*Tripsacum* spp.) são os três membros da tribo Maydeae do Novo Mundo. Três hipóteses correntes têm sido discutidas sobre a origem dos membros americanos de Maydeae. Uma delas, proposta por Weatherwax, em 1954, é que milho, teosinto e *Tripsacum* são descendentes de um ancestral comum, hoje extinto. A segunda hipótese defendida por Longley (BEADLE, 1977, 1978) e Galinat (1973, 1977) é que o milho é derivado do teosinto. Em contrapartida, a terceira hipótese defendida por Mangelsdorf, em 1974, sugere que o teosinto é originário do cruzamento entre milho e *Tripsacum*. As evidências indicam que a segunda hipótese é a mais plausível, pois, tanto o milho como o teosinto possuem $n=10$ cromossomos, são homólogos, cruzando-se facilmente e resultando descendentes férteis, os quais, nas gerações seguintes, geram filhos semelhantes ao milho e teosinto com

diferenças gênicas relativamente pequenas (PATERNIANI e CAMPOS, 1999).

O conhecimento acerca da evolução e domesticação do milho, entretanto, é maior em relação aos outros dois membros da tribo Maydeae. Amostras de pólen identificadas como sendo de milho, teosinto ou seu ancestral comum datam de 60.000 a 80.000 anos e foram coletadas no México em meados de 1950 (GOODMAN, 1986).

Na América do Sul, evidências arqueológicas sobre domesticação são relativamente mais escassas e limitadas às áreas frias do Peru. Os materiais primitivos datam de 1000 a.C. (GOODMAN, 1986).

2.2. Aspectos gerais do caráter tolerância à seca

A seca pode ser definida como a ausência de chuvas ou de irrigação por um período de tempo suficiente para esgotar a umidade do solo, e prejudicar as plantas (WAHID et al., 2007).

O estresse hídrico ocorre quando a perda de água pela planta excede a capacidade de raízes absorverem água do solo, por tempo suficiente para causar danos irreversíveis à planta, quando o conteúdo de água do solo é insuficiente para suprir o seu crescimento, desenvolvimento e atividade fotossintética. Ocorre quando a disponibilidade de água no solo é reduzida e as condições atmosféricas causam contínua perda de água por evaporação ou transpiração. Este tipo de estresse é acentuado por sua duração e pela baixa disponibilidade de água no solo (JALEEL et al., 2007).

A tolerância à seca é geralmente definida como a habilidade do vegetal de crescer e se reproduzir sob condições limitadas de água, à altas temperaturas (PEET & WILLITS, 1998; WAHID et al., 2007).

As respostas das plantas ao déficit hídrico variam dependendo da espécie e genótipo estudado, da duração e intensidade do estresse. Estas respostas incluem alterações no crescimento da planta, acúmulo de solutos, mudanças no metabolismo de carbono e nitrogênio e alterações na expressão gênica (MULLET & WHITSITT, 1996).

As plantas que crescem em solos arenosos com baixa capacidade de retenção de água são mais suscetíveis a estresse hídrico do que plantas que crescem em solos argilosos. Um sistema radicular limitado irá acelerar o estresse. Sistema radicular limitado é aquele que cresce em ambientes concorrentes ou em solos compactados. Plantas com uma grande massa de folhas em relação ao sistema radicular são propensas ao estresse hídrico, pois as folhas podem perder água mais rapidamente do que o fornecimento radicular.

A seca é um estresse ambiental de forte impacto na agricultura mundial, e o aumento da produção de grãos sob estresse hídrico é um dos principais objetivos do melhoramento de plantas. Embora pesquisas tenham fornecido algum entendimento das respostas fisiológicas e moleculares das plantas ao déficit hídrico, existe ainda uma grande lacuna entre a produção ótima e as condições de estresse (VINOCUR & ALTMAN, 2005; WAHID et al., 2007).

Grant et al. (1989) e Bolaños & Edmeades (1993a,b) mostraram que, quando o período de veranico ocorre durante o florescimento, as perdas na produção de grãos podem ultrapassar 50%. As perdas resultam na redução do número de sementes por plantas, devido à inibição do florescimento, falhas na fertilização e o aborto de embriões (HALL et al., 1982; WESTGATE & BOYER, 1986).

A tolerância ao estresse hídrico tem sido avaliada por meio de diversos fatores, como profundidade e volume de raízes, espessura da cutícula, precocidade e sincronismo no intervalo entre o florescimento masculino e feminino (IFMF), enrolamento e senescência foliar (BÄNZIGER et al., 2000).

O florescimento do milho é inibido pelo déficit hídrico, causando falhas na fertilização e aborto de embriões (HALL et al., 1982; WESTGATE & BOYER, 1986). Nesta cultura, o período compreendido entre a emergência dos estilos-estigmas e a extrusão de anteras com a consequente liberação de grãos de pólen é denominado IFMF – intervalo entre florescimentos masculino e feminino (DUPLISS & DIJKHUIS, 1967; BOLAÑOS & EDMEADES, 1996). O IFMF é considerado um eficaz

indicador fenotípico de tolerância ao déficit hídrico, e vem sendo utilizado em programas de melhoramento, que visam a aumentar a estabilidade na produção de grãos sob condições de seca (DURÃES et al., 1997). Baixo valor de IFMF indica sincronismo no florescimento, que traduz uma adaptação ao estresse e está associado ao rendimento de grãos sob condições adversas. Reduzido IFMF é consequência de maior potencial hídrico da planta durante o florescimento. Neste contexto, o IFMF pode ser considerado uma característica de diagnóstico no processo de desenvolvimento de cultivares (BOLAÑOS & EDMEADES, 1993a).

O progresso para o aumento na produção e a estabilidade da cultura sob as condições de estresse hídrico através da seleção direta têm sido dificultados pela ampla interação genótipo x ambiente (BLUM, 1988; CECCARELLI & GRANDO, 1996). Como alternativa à seleção direta para produção de grãos sob condições de seca, a utilização de características morfo-fisiológicas que apresentam alta correlação genética com a produção tem sido exploradas nos programas de seleção que levam em consideração o trabalho de fisiologistas e melhorista (BLUM, 1988).

2.3. Aspectos celulares e moleculares relacionados ao estresse hídrico

Consideráveis esforços foram feitos para investigar a relação entre a variação genética nas características morfo-fisiológicas e a adaptação de culturas às condições de seca (BLUM, 1988; LUDLOW & MUCHOW, 1990). Mais recentemente, este grande desafio tem sido enfatizado, nos estudos, pelos efeitos da seca em nível celular e molecular.

Enquanto mecanismos naturais têm favorecido a adaptação e a sobrevivência de alguns tipos de plantas, estudos têm fornecido significativo ganho no entendimento de respostas fisiológicas e moleculares de plantas a déficit hídrico, mas uma melhor compreensão destas respostas ainda é necessária para o aumento na produtividade (CATTIVELLI et al., 2008). As plantas mostram diferenças na sensibilidade ao estresse hídrico nos diferentes estádios do seu

desenvolvimento. A complexidade dos mecanismos de tolerância à seca explica o lento progresso no aumento da produtividade em ambientes propensos a essa condição (TUBEROSA & SALVI, 2006).

Estudos fisiológicos têm identificado características associadas à adaptabilidade do vegetal a ambientes de seca que desencadeiam redução no rendimento em produção. Entre essas características, podem ser citadas: pequeno porte da planta, redução da área foliar, maturidade precoce, redução nas taxas de assimilação de CO₂ e prolongado fechamento do estômato (KARAMANOS & PAPATHEOHARI, 1999). Devido às variações no conteúdo de água dos tecidos, algumas vias de sinalização fisiológica são ativadas em decorrência das alterações ambientais. Outras vias são ativadas por hormônios das plantas que sinalizam alterações hídricas (CHAVES et al., 2003).

A primeira resposta fisiológica das plantas aos estresses ambientais é o ajuste osmótico que contribui para a tolerância ao estresse. O ajuste osmótico é um mecanismo que possibilita às plantas manter a absorção de água e a pressão de turgor, contribuindo para sustentar alta taxa fotossintética e expansão do crescimento. O mecanismo de ajuste osmótico é importante para evitar a diminuição do potencial hídrico celular, mediante a biossíntese de solutos intracelulares, que possuem baixo peso molecular, se acumulam em altas quantidades no vacúolo ou no citosol e mantêm a turgidez e o volume celular para preservar a integridade de compostos e estruturas celulares fundamentais para o adequado metabolismo vegetal (ABDUL JALEEL et al., 2007). Um exemplo é o aminoácido prolina que se acumula nas células e tem função osmoprotetora (GIANNAKOULA et al., 2008). Isto previne a desnaturação de proteínas, preserva a estrutura de enzimas e protege as membranas dos efeitos deletérios causados pelas espécies reativas de oxigênio (SHARMA & DUBLEY, 2005) e age como tampão para regular o potencial redox celular (ASHRAF & FOOLAD, 2007). O acúmulo de prolina é considerado importante parâmetro de seleção de plantas tolerantes aos estresses (MANIVANNAN et al., 2007).

Uma análise comparativa de muitos estudos dedicados ao ajuste osmótico tem sugerido que o ajuste não pode ser considerado igualmente útil em todas as culturas e/ou condições de seca, mas que uma associação positiva entre produtividade e ajuste osmótico pode ser encontrada sob estresse severo em que a produtividade tende a ser baixa (SERRAJ & SINCLAIR, 2002). Também alterações na estrutura da membrana celular promovem mudanças em canais de transporte ativados por pressão, modifica a conformação ou a justaposição de proteínas sensoriais, integrais das membranas celulares e altera a continuidade entre a parede e a membrana celular (SHINOZAKI & YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2000). Mudanças no potencial osmótico podem ser uma resposta ao estresse hídrico em nível molecular (BRAY, 1993). A percepção do déficit hídrico celular precisa ser traduzida em compostos bioquímicos e metabólitos, gerando uma consequente resposta fisiológica ao estresse (INGRAM & BARTELS, 1996).

Embora sejam razoavelmente bem conhecidos os efeitos gerais da seca no crescimento das plantas, os efeitos primários do déficit hídrico em níveis bioquímicos e moleculares precisam ser mais bem entendidos (ZHU, 2002; CHAVES et al., 2003; YAMAGUCHI-SHINOZAKI & SHINOZAKI, 2005). O déficit hídrico em plantas inicia-se a partir de uma complexa via de respostas, começando com a percepção do estresse, o que desencadeia uma cascata de eventos moleculares, sendo finalizada em vários níveis de respostas fisiológicas, metabólicas e de desenvolvimento, que auxiliam os vegetais a se adaptar às condições adversas (BRAY, 1993). O conhecimento dessas respostas é essencial para elucidar os mecanismos de resistência nas plantas cujas respostas variam com a severidade e duração do estresse (REDDY et al., 2004; JALEEL et al., 2006). Os produtos gênicos induzidos por estresse podem ser classificados como: (i) aqueles que protegem diretamente contra estresses, (ii) aqueles que regulam a expressão de genes e a transdução de sinais em resposta ao estresse, (iii) os que são espessos em função do estresse e (iv) os que têm a sua expressão aumentada devido ao estresse. O primeiro grupo inclui proteínas como chaperonas e proteínas

detoxificadoras, que provavelmente funcionam como protetores celulares contra desidratação. O segundo grupo é constituído de proteínas regulatórias, como fatores transcricionais que regulam a expressão de genes responsivos a estresses, além de proteínas quinases e fosfatases que regulam transdução de sinais (HASEGAWA et al., 2000; SHINOZAKI & YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2000).

Análises genômicas e moleculares têm facilitado a detecção e posicionamento de genes e capacitado a engenharia genética a usar vários genes regulatórios ou funcionais para investigar vias relacionadas à tolerância à seca em plantas (UMEZAWA et al., 2006).

2.4. Mapeamento genético

O mapeamento de QTL (“Quantitative Trait Loci”) é uma estratégia que torna possível a dissecção genética de características complexas, tal como a tolerância ao estresse hídrico. O termo QTL foi criado por GELDERMANN (1975) e se baseia no princípio da existência de locos de maior importância relacionados com a expressão de determinada característica métrica. Estratégias utilizadas para detecção e caracterização dos QTLs dependem principalmente: da população avaliada, do número de indivíduos genotipados e da técnica de marcador molecular empregada. Além destas três características, destacam-se também as características do próprio QTL, tais como: seu efeito na expressão da característica, a precisão experimental para a sua avaliação, a herdabilidade da característica avaliada e os efeitos de dominância.

A maioria das características de importância agronômica, tais como a produção de grãos e a tolerância aos estresses abióticos, são de herança complexa e regulada por vários genes. O mapeamento genético tem fornecido novas oportunidades e estratégias para a dissecção de genes de efeito maior e características controladas por locos quantitativos. Dekkers & Hospital (2002) relatam que o uso da informação molecular para o melhoramento genético será mais efetivo quando o

esboço gênico da característica quantitativa for completamente claro. Os locos de características quantitativas, em geral, têm baixa herdabilidade e pequeno efeito individual. Desta forma, os experimentos de campo apresentam várias repetições a fim de caracterizar com acurácia os efeitos dos QTLs e avaliar sua estabilidade ao longo dos ambientes.

2.4.1. Detecção de QTLs relacionados ao florescimento

Estudos sobre a natureza genética e o número de genes afetando caracteres relacionados ao florescimento em milho têm sido frequentemente reportados na literatura.

Ragot et al. (1995), utilizando mapeamento por intervalo, mapearam dois QTLs para o florescimento feminino (FF) nos cromossomos 1 e 9, explicando respectivamente, 4,5 e 11,2% da variação fenotípica para o caráter. Rebaï et al. (1997) mapearam progênies F_3 e de testcross. Nas progênies F_3 foram detectados seis QTLs nos cromossomos 1, 3, 4, 7, 8 e 10. Nos testcrosses foram mapeados 10 QTLs, dois no cromossomo 3 e um em cada um dos cromossomos 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9 e 10. Individualmente, cada QTL explicou entre 2,6 e 12,3% da variação fenotípica total. Cinco dos 10 QTLs mostraram interação QTL x Ambientes significativa. A ação gênica aditiva predominou na maioria dos QTLs.

Ribaut et al. (1996) se propuseram a identificar regiões cromossômicas responsáveis por caracteres morfológicos em milho sob condições de estresse hídrico. Os experimentos foram conduzidos em diferentes regimes de água: irrigado, estresse intermediário e estresse severo. Para os caracteres relacionados ao florescimento, foram mapeados QTLs em todos os cromossomos, exceto no cromossomo 7. A variação fenotípica explicada por cada QTL individualmente variou de 5 a 13%, 4,6 a 15,1% e de 4,4 a 15,2% para o intervalo entre florescimentos (IFMF), nas três condições impostas, respectivamente. QTLs estáveis para diferentes condições de umidade foram detectados nos cromossomos 1, 4 e 9 para o florescimento masculino (FM); para o florescimento feminino (FF), foram detectados QTLs no cromossomo um

(2 QTLs); um QTL no cromossomo 9. Estes autores detectaram QTLs para o caráter intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF) nos cromossomos 1, 2 e 6. Os IFMF e FF apresentaram QTLs comuns nos cromossomos 1, 2, 5 e 8. Os caracteres IFMF e FM pouco correlacionados só apresentaram um QTL comum no cromossomo 2, e sob SS dois QTLs ligados no cromossomo 8 foram detectados. Segundo estes autores, foram detectados, em seus trabalhos anteriores, QTLs responsáveis por FF e FM em todos os 10 cromossomos do milho com maior consistência para os cromossomos 1, 3, 4, 8 e 9 (FM) e 1, 8 e 9 (FF).

Khairallah et al. (1998) utilizaram mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes e uma população com 472 progênies $F_{2:3}$ para mapear QTLs relacionados ao florescimento. Para FF, foram mapeados dois QTLs em cada um dos cromossomos 1, 2, 5 e 9, e um QTL em cada um dos cromossomos 3, 4, 6, 7 e 10. A variância fenotípica explicada por cada QTL variou de 0,9 a 7,9%. No total, os QTLs explicaram 49,6% dessa variação. Apenas três QTLs não apresentaram interação significativa com o ambiente. QTLs para IFMF foram mapeados nos cromossomos 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10. A ação gênica foi principalmente de dominância parcial, sendo observada em 7 dos nove QTLs mapeados. A variância fenotípica explicada por cada QTL individualmente variou de 3,1% a 12,4%. No total, os QTLs explicaram 30% da variação fenotípica. Apenas três QTLs apresentaram interação significativa com o ambiente, o que reforça os resultados obtidos por Ribaut et al. (1996), que também observaram menor número de QTLs com interação QTL x Ambientes significativa para IFMF em comparação com outros caracteres. O QTL para IFMF no cromossomo 6 foi correspondente ao detectado por RIBAUT et al. (1996). A análise de QTLs para os dados de florescimento masculino mostrou que a maioria dos QTLs se encontra em comum com os detectados para o florescimento feminino. Três QTLs para FF e IFMF foram mapeados nos mesmos bins.

Jiang et al. (1999), avaliando 307 progênies F_2 mapearam QTLs pela metodologia de intervalo composto para os caracteres relacionados à

produção em milho tropical. Foram observados QTLs relacionados ao florescimento em quase todos os cromossomos. Foram mapeados QTLs relacionados ao florescimento nos cromossomos 1 (FM, FF e IFMF), 2 (IF), 4 (FM e IF), 5 (FM e FF), 7 (FM, FF e IFMF), 8 (dois para FM e um para FF e IF), 9 (FM, FF e IFM) e 10 (FM, FF e IF). A proporção da variância fenotípica explicada por cada QTL individualmente variou, em média, de 1,5% a 12,4%, 2,6% a 9,6% e 2,0% a 9,4% para FM, FF e IFMF, respectivamente. No total, os QTLs explicaram 45,3; 38 e 35% da variância fenotípica para os caracteres FM, FF e IFMF, respectivamente.

Sari-gorla et al. (1999) mapearam QTLs para os caracteres FF, FM e IFMF de experimento conduzido sob duas condições: irrigado e não irrigado. Os autores avaliaram 142 progênies de linhagens endogâmicas recombinantes (RIL) derivadas das linhagens B73 e H99. Neste trabalho, foram analisados 153 locos por marcadores microssatélites e RFLP. Sob condições ideais, foram mapeados cinco QTLs para FM nos cromossomos 1 (1 QTL), 2 (2 QTLs), 7 (1 QTL) e 8 (1 QTL). Todos os QTLs foram expressos sob estresse à exceção de um QTL no cromossomo 2. Sob a condição de estresse hídrico, os QTLs explicaram 4,7% (cromossomo 1), 9,1% (cromossomo 2), 13% (cromossomo 7) e 5,4% (cromossomo 8) da variação fenotípica. Para o florescimento feminino, dois QTLs foram mapeados nos cromossomos 7 e 9, apenas na condição de estresse explicando 7,5 e 6,2%, da variação fenotípica. Para IFMF, houve grande diferença no mapeamento de QTLs entre os dois níveis de umidade. Em condições ideais, foram mapeados QTLs nos cromossomos 1 (1 QTL), 5,1%; 2 (1 QTL), 6,1%; 7 (2 QTLs, 5,8 e 7,8%), 8 (2 QTLs, 4,4 e 5,9%) e 9 (1 QTL, 4,9%). Sob estresse, um QTL foi mapeado em cada um dos cromossomos: 5 (9,4%), 7 (7,6%) e 9 (6,4%), nenhum deles apresentando posição coincidente com aqueles mapeados em condição irrigada.

Tuberosa et al. (2002), em sua revisão, relataram resultados de mapeamento de QTLs para IFMF proveniente de sete estudos distintos. Os trabalhos mostraram que QTLs para IFMF têm sido mapeados em todos os cromossomos do milho.

Li et al. (2003) detectaram sob condições de irrigação três QTLs para IFMF nos cromossomos 1, 2 e 3, explicando 12,9%, 11,4% e 6%, respectivamente, da variância fenotípica do caráter e com efeitos de sobredominância para os dois primeiros e aditividade para o terceiro. Sob estresse, foram mapeados 2 QTLs nos cromossomos 2 e 5, explicando 6,4 e 7,2%, respectivamente, da variância fenotípica, ambos apresentando efeitos de dominância completa.

Zhang et al. (2005) utilizaram 189 marcadores microssatélites para mapear QTLs relacionados ao florescimento masculino. Foram mapeados oito QTLs, distribuídos nos cromossomos 1, 4, 5 (dois QTLs), 8 e 9, sendo que as posições dos QTLs foram a 55,8 cM, 142 cM, 140,9 cM, 175,9 cM, 86,8 cM e 122,9 cM, respectivamente. Dois QTLs foram mapeados próximos às marcas M097 e M028, não ligadas a nenhum grupo de ligação. Dentre todos os QTLs detectados, eles explicaram entre 1% (QTL ligado à marca M097) a 54% (QTL ligado ao cromossomo 4) da variação fenotípica.

Chardon et al. (2005) mapearam QTLs em duas populações usando o mapeamento por intervalo composto. O mapeamento de QTLs para a população $F_2 \times F_7$ detectou QTLs para FM e FF nos cromossomos 1, 3, 8 e 10. Esses QTLs explicaram entre 7,1% e 14,2% da variação fenotípica para o caráter, à exceção daquele mapeado no cromossomo 8 que explicou 54,6% e 45,2% da variação fenotípica para os caracteres FM e FF, respectivamente.

Vargas et al. (2006) objetivaram detectar QTLs em população $F_{2:3}$ de milho tropical. O experimento foi conduzido em oito ambientes sob diferentes condições de estresse hídrico e conteúdo de nitrogênio no solo. O trabalho consistiu na fenotipagem de 211 famílias $F_{2:3}$ derivadas das linhagens Ac7643S₅, tolerantes à seca (pequeno intervalo entre florescimentos) e Ac7729/TZSRWS₅. Foram mapeados 6 QTLs para o caráter intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF). QTLs com efeitos aditivos foram detectados nos cromossomos 1, 2, 6, 8 e 10, explicando 6,27%, 4,35%, 6,37%, 3,73%, 5,10% da variação fenotípica,

respectivamente. Apenas um QTL, no cromossomo 1, apresentou efeito de dominância e explicou 3,45%.

Guo et al. (2008) analisaram QTLs para o tempo de florescimento, em uma população de linhagens endogâmicas recombinantes (RIL) derivadas do cruzamento entre as linhagens 5003 x p138 sob o regime de estresse hídrico e condição irrigada, durante dois anos (2004 e 2005). Para o caráter, estes autores detectaram um QTL próximo ao marcador phi053 bin 3.05, que explica 3,02%. Estes autores também detectaram outros QTLs para esta característica nos cromossomos 2, 5, 6 e 7, nos locos marcadores bnlg2248 bin 2.03, bnlg1346 bin 5.07, bnlg1136 bin 6.07-6.08 e umc1016 bin 7.02.

2.4.2. Detecção de QTLs relacionados à senescência foliar e “stay-green”

A senescência é o estágio final do crescimento e desenvolvimento da planta. A senescência foliar, fase inerente ao ciclo de vida dos vegetais, é caracterizada pela mudança de coloração das folhas, que passam do verde para o amarelo (BUCHANAN-WOLLASTON et al. 2003). Isto ocorre devido à degradação da clorofila, que é o principal marcador bioquímico para a identificação da senescência em plantas. Este processo de degradação da clorofila está altamente correlacionado com a idade das folhas e é visualmente avaliado pelo escore de folhas mortas (JIANG et al., 2004). Outra forma de mensuração do conteúdo de clorofila é através de aparelhos de inferência de sua concentração (PENG et al., 1995; TOOJINDA et al., 2003).

O estado de senescência antes da maturidade da cultura resulta em declínio da capacidade fotossintética e do potencial de produção. Mae (1997) reportou que 80% do nitrogênio são absorvidos antes do estágio de florescimento e translocado para órgãos vegetativos. A reciclagem de N_2 é considerado fator chave na determinação da taxa de senescência e, conseqüentemente, na produtividade (YAMAYA et al., 2002).

Poucos trabalhos têm sido conduzidos em milho visando mapear QTLs para o caráter senescência foliar. Em arroz, Toojinda et al. (2003) utilizaram três populações: uma com 65 linhagens di-haploides (DH), outra com 172 linhagens endogâmicas recombinantes e uma terceira com 188 progênies F₂. A senescência foliar foi avaliada em escala de nota variando de 1 (folhas verdes) a 5 (folhas amarelas ou degradada) ou pela quantidade de clorofila presente nas folhas. A depender do método de mapeamento, do método de avaliação da senescência foliar, do tipo de população e do ano de avaliação, a proporção da variação fenotípica explicada por um QTL variou de 1,7 a 72%.

Abdelkhalik et al. (2005) objetivaram detectar QTLs para o caráter senescência foliar em duas populações de retrocruzamento em arroz. A senescência foliar foi caracterizada pelo conteúdo de clorofila. Utilizando o mapeamento por intervalo, mapearam quatro QTLs para senescência foliar. Foram identificados 2 QTLs no cromossomo 9, que explicaram 13,7 e 8,7% da variação fenotípica, 5 QTLs no cromossomo 6, que explicaram de 8 a 10% da variação fenotípica e 1 QTL no cromossomo 2, que explicou 9,5% da variação fenotípica.

O termo “stay-green” é aplicado como variante da senescência, em que a senescência é atrasada, comparada a um genótipo padrão de referência (THOMAS & HOWARTH, 2000).

Em programas de melhoramento genético de cereais, os genótipos são considerados “stay-green” quando as folhas e colmos permanecem verdes após o enchimento dos grãos. A fotossíntese se prolonga fornecendo carboidratos para colmos, folhas e raízes e, consequentemente, as plantas apresentam maior tolerância aos estresses bióticos e abióticos. Portanto, o caráter “stay-green” é considerado um caráter desejável para a produção de culturas (TOLLENAR & WU, 1999; THOMAS & HOWARTH, 2000; HAUSSMANN et al. 2002).

O caráter “stay-green” está relacionado à retenção da capacidade fotossintética e, como consequência, ao aumento da produção após o florescimento (GENTINETTA et al. 1986; THOMAS & HORWARTH, 2000). Além disso, esta característica tem demonstrado manutenção do

aumento da resistência a pesticidas (XU et al., 2000). Os genótipos que manifestam “stay-green” apresentam maior resistência ao acamamento, pois os carboidratos do colmo extraídos para o enchimento dos grãos são repostos, o que reduz o quebramento de colmos e aumenta a resistência às doenças das raízes (DUVICK & CASSMAN, 1999). O caráter “stay-green” é muito considerado em forrageiras por ser associado ao alto conteúdo nutritivo na alimentação de ruminantes (DUNCAN, 1984). Desta forma, o caráter “stay-green” é também importante para o melhoramento com propósitos na alimentação animal e na mecanização agrícola (SUBUDHI et al., 2000).

Thomas & Howarth (2000) discutem que embora o grau de atraso na senescência, expressão “stay-green”, varie amplamente devido às condições ambientais, cinco classes deste caráter podem ser distinguidos: (A) a senescência do vegetal é iniciada tardiamente, mas posteriormente segue taxa normal; (B) a planta inicia uma senescência normal, como o esperado, mas posteriormente a senescência se torna lenta; (C) a planta apresenta uma retenção de clorofila mais ou menos indefinida, mas a senescência ocorre normalmente, mostrada pela capacidade fotossintética; (D) a planta apresenta uma ilimitada retenção da cor mesmo quando da morte celular via congelamento, aquecimento ou seca; e (E) a planta permanece com a capacidade fotossintética característica do genótipo que não está em senescência e segue um padrão ontogenético normal, com seu absoluto conteúdo de pigmentação. As duas primeiras classes são as classes “stay-green” propriamente ditas e podem ser originárias de alterações dos genes envolvidos na regulação e iniciação da senescência. Estes tipos de “stay-green” são caracterizados por manter a taxa fotossintética por um período mais extenso, proporcionando, por consequência, certa taxa de produção da cultura.

Jiang et al. (2004) utilizaram 190 linhagens DH de arroz e duas metodologias para medir o caráter “stay-green” nessas linhagens: uma com base na concentração de clorofila das folhas e outra com base em escala de notas variando entre 1 e 5, em que 1 correspondia às plantas

com folhas secas e 5 com folhas verdes. Considerando dois períodos de avaliação, o número de QTLs mapeados variou de 4 a 11, e a proporção da variância fenotípica total explicada pelos QTLs variou de 8,9 a 21,5%.

Zheng et al. (2009) mapearam uma população $F_{2:3}$ derivada das linhagens endogâmicas Q319 (manifestava caráter “stay-green”) e Mo17 (não manifestava o caráter). O mapa foi resolvido em 10 grupos de ligação com cobertura de 1431.0 cM em distância média de 12,44 cM entre loci vizinhos. Um total de 14 QTLs foi detectado para a característica “stay-green” sob diferentes intervalos de observações após o florescimento (% de área verde na folha em 20, 40, 50 e 60 dias após o florescimento). A identificação dos QTLs foi pela metodologia de intervalo composto. A contribuição dos QTLs para a variação fenotípica variou de 5,40% a 11,49%. Apenas na observação aos 40 dias após o florescimento, foram detectados 6 QTLs para o “stay-green” nos cromossomos 1, 2, 3, 5 e 8, sendo 2 QTLs no cromossomo 1 explicando 7,64 e 10,27% da variação fenotípica. Nos cromossomos 2, 3, 5 e 8 foi detectado um QTL em cada um, explicando 10,67, 9,67, 5,40 e 7,42% da variação fenotípica, respectivamente.

Beavis et al. (1994) reportaram o mapeamento de QTLs para o caráter em progênies F_4 e testcross. A metodologia empregada para mapeamento foi o mapeamento por intervalo. Nas progênies F_4 foram mapeados três QTLs nos cromossomos 2, 6 e 9. Nos testcrosses foram mapeados cinco QTLs, dois no cromossomo 1 e um em cada um dos cromossomos 6, 8 e 9. A proporção da variação fenotípica explicada pelos QTLs variou de 6 a 25%.

Em outras culturas, o mapeamento de QTLs para o caráter “stay-green” tem sido reportado. Subudhi, Rosenow & Nguyen (2000) utilizaram linhagens endogâmicas recombinantes em sorgo. Considerando médias de sete ambientes, foram mapeados 4 QTLs com pronunciado efeito aditivo, explicando individualmente entre 9,4 e 29,2% da variação fenotípica. Kebede et al. (2001) mapearam nove QTLs influenciando o caráter em população de 125 linhagens endogâmicas recombinantes de sorgo. A proporção da variância fenotípica explicada por um QTL variou

de 9,9 a 22,6%, sendo que a maioria dos QTLs explicou entre 10% e 15% da variação fenotípica total. Em apenas um ambiente, um dos QTLs explicou 22,6% da variância fenotípica. Este QTL foi consistente, sendo identificado em quatro dos cinco ambientes em que o caráter foi avaliado. Em média, para cada ambiente, os QTLs explicaram juntos cerca de 25% da variância fenotípica total. Haussman et al. (2002) analisaram o caráter “stay-green” como a porcentagem de área foliar verde aos 15, 30 e 45 dias após o florescimento em duas populações de sorgo. O número de QTLs mapeado variou de 5 a 8. A proporção da variância genética total variou de 31,4 a 42,4%. A variância fenotípica explicada por um QTL individualmente variou de 4,9 a 26,3%.

2.4.3. Detecção de QTLs relacionados à produção de grãos e prolificidade

O caráter produção de grãos (PG) é o principal objetivo dos trabalhos de melhoramento na cultura do milho e, por isso, estudos referentes ao mapeamento de QTLs para esse caráter e para os componentes de produção são relatados com frequência na literatura. Stuber et al. (1992) mapearam QTLs para produção de grãos e prolificidade em duas populações, utilizando mapeamento por intervalo. Foram mapeados 6 e 8 QTLs para produção e dois QTLs para prolificidade em cada uma das populações. A variação fenotípica explicada para produção foi de, aproximadamente, 60% nas duas populações.

Ragot et al. (1995) avaliaram cinco populações derivadas do cruzamento entre material tropical e temperado. Utilizando mapeamento por intervalo e considerando valores fenotípicos médios, mapearam dois QTLs para produção de grãos no cromossomo 3 e um QTL em cada um dos cromossomos 2, 5 e 6. Para prolificidade, foram mapeados QTLs nos cromossomos 3 (dois QTLs) e 6. Um QTL para produção de grãos e outro para prolificidade explicaram 27,4% e 35,3% da variação fenotípica,

respectivamente. Contudo, os autores ressaltaram que estes valores estariam superestimados.

Ribaut et al. (1997) avaliaram os caracteres produção, prolificidade e número de grãos por parcela sob condições normais e de estresse hídrico. Para análise de QTLs, foi utilizado o mapeamento por intervalo composto (CIM) por ambiente e também o CIM estendido para vários ambientes (mCIM). Os QTLs mapeados distribuíram-se na maioria dos cromossomos para todos os caracteres. O mCIM confirmou a presença de alguns QTLs identificados pelo CIM, detectando ainda outros QTLs de menor efeito. A variância fenotípica explicada pelos QTLs individualmente variou de 16,3% a 26,3% para PG, e de 5,8% a 39,8% para prolificidade. Nas análises por ambiente, foram mapeados diversos QTLs para ambos os caracteres. Em destaque, foram detectados QTLs para produção de grãos, sob condição de estresse severo (estresse durante o florescimento) nos cromossomos 1, 4, 6 e 10, estes QTLs explicaram 5%, 5,1%, 8,9 e 10,1% da variação fenotípica, respectivamente. Para o caráter prolificidade, foi detectado um QTL sob a condição de estresse severo no cromossomo 1, que explicou 5,8% da variação fenotípica.

Ajmone-Marsan et al. (1996) mapearam QTLs para PG com base no mapeamento por intervalo, utilizando dois conjuntos de 55 progênies de testcross proveniente de dois testadores. Dois QTLs foram identificados com o testador Mo17, no cromossomo 3, e outro no cromossomo 6. Para o testador A1, as mesmas regiões mapeadas para Mo17 mostraram efeitos significativos, com um QTL adicional no cromossomo 10. Os QTLs por eles detectados explicaram entre 31,5 e 37,8% da variação fenotípica.

Jiang et al. (1999) utilizaram mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes visando a mapear regiões genômicas responsáveis pela adaptação a amplas condições de clima. Avaliaram 196 progênies $F_{3:4}$ provenientes do cruzamento entre linhagens selecionadas para alto desempenho em altas ou baixas altitudes. Em relação à produção de grãos, foram mapeados nos cromossomos 1 (um QTL), 2 (dois QTLs), 7 (um QTL) e 10 (um QTL). A proporção da variância fenotípica explicada por cada QTL individualmente variou entre 3,8 e

8,8%. Os efeitos dos QTLs variaram entre dominância parcial e sobredominância. No total, os QTLs explicaram 24,3% da variância fenotípica para o caráter.

Ajmone-Marsan et al. (2001), utilizando o CIM, mapearam 4 e 5 QTLs para PG em duas populações, explicando, respectivamente, 27,2% e 30,1% da variação fenotípica. Em uma das populações, um dos QTLs mapeados, localizado no intervalo entre 20 e 40 cM no cromossomo 6, explicou cerca de 12% da variação do caráter. Tuberosa et al. (2002) apresentaram uma revisão com dados referentes ao mapeamento de QTLs para PG em oito trabalhos distintos. De maneira geral, os dados mostraram QTLs sendo mapeados em todos os cromossomos do milho, principalmente no cromossomo 1. Inúmeras regiões genômicas apresentaram QTLs para produção de grãos, sendo mapeados tanto em condições normais, quanto sob estresse hídrico.

Sibov et al. (2003) mapearam quatro QTLs para PG que explicaram individualmente entre 5,22% e 11,18% da variância fenotípica do caráter e no total 32,73%: dois QTLs apresentaram dominância parcial, um QTL apresentou dominância completa e outro, ação gênica aditiva.

Lee et al. (2005) avaliaram 184 progênies F_3 sob condição sem estresse e sob déficit hídrico. Para o mapeamento de QTLs, foi empregado o mapeamento por intervalo composto. Sob condição sem estresse, foram mapeados quatro QTLs para PG nos cromossomos 3 (2 QTLs), 6 e 7, explicando entre 7,3 e 15,2% da variação fenotípica e com efeitos variando de aditivo até a dominância completa. Sob condições de estresse, foram mapeados cinco QTLs nos cromossomos 1, 2, 4 e 8 (2 QTLs) explicando entre 9 a 22% da variação fenotípica e com efeitos variando de aditivo à dominância parcial.

Para prolificidade e sob condição de estresse, dois QTLs foram mapeados, um em cada um dos cromossomos 3 e 6, explicando juntos 19,9% da variação fenotípica total com efeito aditivo e de dominância parcial, respectivamente. Sob condição de estresse, foram mapeados quatro QTLs nos cromossomos 3 (2 QTLs), 7 e 10, responsáveis por

cerca de 60,4% da variação fenotípica total. O QTL do cromossomo 10 apresentou dominância completa, e dos demais, dominância parcial.

Vargas et al. (2006) detectaram 7 QTLs para o caráter produção de grãos. QTLs com efeitos aditivos foram detectados nos cromossomos 1, 3, 4, 8, 9 e 10, explicando 7,02%, 3,10%, 3,65%, 1,91%, 3,79% e 4,26% da variação fenotípica, respectivamente. Um QTL no cromossomo 4 apresentou efeito de dominância e explicou 2,92%.

No entanto, um dos principais entraves no uso das informações advindas dos estudos de QTLs está na inconsistência e “instabilidade” desses QTLs nos diferentes estudos, para diferentes populações e ambientes de avaliação. A partir do entendimento da complexidade genética de um caráter alvo, o principal foco da análise de QTLs é a identificação de regiões genômicas apropriadas para serem incluídas em programas de seleção assistida por marcadores (SAM). Corriqueiramente, a maior limitação dos programas de SAM é a “instabilidade” da expressão dos QTLs entre diferentes ambientes e “background” genético (RIBAUT & HOISINGTON, 1998). Segundo Vargas et al. (2006), o desafio para programas de SAM é prever qual genótipo tem alelos que possam ser selecionados como elite e trazer vantagens dessa informação genética existente, a partir de diferentes procedimentos sem a necessidade do mapeamento de QTLs em novos cruzamentos (atividade que consome muito tempo e dinheiro). Esse tipo de SAM, baseada em regiões consenso, vem sendo testada no CIMMYT (RIBAUT et al., 2004).

O estudo de caracteres consiste não apenas na identificação de um loco gênico, mas também das interações interlocos e das interações gene x ambiente. Várias evidências indicam que a complexidade do contexto genético possa ser atribuída às epistasias que têm função significativa para a heterose, para a depressão por endogamia, adaptação, isolamento reprodutivo e especiação. Biólogos evolutivos argumentam que o acúmulo e a manutenção das combinações epistáticas favoráveis, que conferem valor adaptativo ao genoma em ambientes específicos, são os principais mecanismos de adaptação e evolução de várias espécies vegetais (ALLARD, 1988).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELKHALIK, A.F.; SHISHIDO, R.; NOMURA, K.; IKEHASHI QTL-based analysis of leaf senescence in an *indica/japonica* hybrid in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 110, p. 1226-1235, 2005.

ABDUL JALEEL, C.; MANIVANNAN, P.; KISHOREKUMAR, A.; SANKAR, B.; GOPI, R.; SOMASUNDARAM, R.; PANEERSELVAM, R. Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 59, p. 150-157, 2007.

AGRAMA, H.A.; MOUSSA, M.E. Mapping QTLs in breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) **Euphytica**, Wageningen, v. 91, n. 1, p. 89-97, 1996.

AJMONE-MARSAN, P.; MONFREDINI, G.; BRANDOLINI, A.; MELCHINGER, A.E.; GARAY, G.; MOTTO, M. Identification of QTL for grain yield in an elite hybrid of maize: repeatability of map position and effects in independent samples derived from the same population. **Maydica**, Bergamo, v. 41, n. 1, p. 49-57, 1996.

AJMONE-MARSAN, P.; GORNI, C.; CHITTÒ, A.; REDAELLI, R.; VAN VIJIK, R.; STAM, P.; MOTTO, M. Identification of QTLs for grain yield and grain-related traits of maize (*Zea mays* L.) using an AFLP map, different testers and cofactor analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 102, p. 230-243, 2001.

ALLARD, R.W. **Future directions in plant population genetics, evolution and breeding**. In: Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS (eds) Plant population genetics and germplasm resources. Sinauer Associates Inc, Sunderland, Massachusetts, p. 1-19, 1988.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 206-216, 2007.

AUSTIN, D.F.; LEE, M.; VELDBOOM, L.R. Genetic mapping in maize with hybrid progeny across testers and generations: plant height and flowering. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 102, n. 1, p. 163-176, 2001.

BÄNZINGER, M.; EDMÉADES, G.O.; BECK, D.; BELLON, M. **Breeding for drought and nitrogen stress tolerance in maize: from theory to practice**. Mexico, D.F.: CIMMYT, 2000. p.68.

BEADLE, G.W. The origin of *Zea mays*, pp. 615-635 In: **Origins of Agriculture**, edited by C. E. REED. Mouton, The Hague. 1977.

BEADLE, G.W. Teosinte and the origin of maize, pp. 113-128 In: **Maize Breeding and Genetics**, edited by D.B. Walden. Wiley, New York. 1978.

BEAVIS, W.D.; SMITH, O.S.; GRANT, D.; FINCHER, R. Identification of quantitative trait loci using a small sample of topcrossed and F₄ progeny from maize. **Crop Science**, Madison, v. 34, p. 882-896, 1994.

BLUM, A. **Plant Breeding for Stress Environments**. CRC Press, Boca Raton, FL. 1988.

BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G.O. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. I. Responses in grain yield, biomass, and radiation utilization. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 31, p. 233-252, 1993a.

BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G.O. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. II. Responses in reproductive behavior. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 31, p. 253-268, 1993b.

BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G.O. The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 48, p. 65-80, 1996.

BRAY, E.A.; MOSES, M.S.; IMAI, R.; COHEN, A.; PLANT ÁL. Regulation of gene expression by endogenous abscisic acid during drought stress. In: Close TJ and Bray EA (eds) **Plant Responses to Cellular Dehydration During Environmental Stress American Society of Plant Physiology**. pp. 167-176. 1993.

BUCHANAN-WOLLASTON, V.; EARL, S.; HARRISON, E.; MATHAS, E.; NAVABPOUR, S.; PAGE, T.; PINK, D. The molecular analysis of leaf senescence-a genomics approach. **Plant Biotechnology Journal**, v. 1, p. 3-22, 2003.

CATTIVELLI, L.; RIZZA, F.; BADECK, F-W.; MAZZUCOTELLI, E.; MASTRANGELO, A.M.; FRANZIA, E.; MARÈ, C.; TONDELLI, A.; STANCA, A.M. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 105, p. 1-14. 2008.

CECCARELLI, S.; GRANDO, S. Drought as a challenge for the plant breeder. **Plant Growth Regulation**, v. 20, p. 149-155, 1996.

CHAVES, M.M.; MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.S. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, v. 30, p. 239-264, 2003.

CHARDON, F.; HOURCADE, D.; COMBES, V.; CHARCOSSET, A. Mapping of a spontaneous mutation for early flowering time in maize highlights contrasting allelic series at two-linked QTL on chromosome 8. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 112, n. 1, p. 1-11, 2005.

CONAB. 2009. <http://www.conab.gov.br/>

DEKKERS, J.C.M.; HOSPITAL, F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, New York, v. 3, n. 1, p. 43-52, 2002.

DUNCAN, R.R. The association of plant senescence with root and stalk diseases in sorghum. In: L.K. Mughogho (ed.), **Sorghum Root and Stalk Rots, A Critical Review**, 99-110. ICRISAT, Patancheru, AP, India. 1984.

DURÃES, F.O.M.; PAIVA, E.; MAGALHÃES, P.C.; SANTOS, M.X. dos; PEREIRA, J.J.; LABORY, C.R.G. Critérios morfo-fisiológicos utilizados para seleção de genótipos de milho visando tolerância à seca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISIOLOGIA VEGETAL, 6., 1997, Belém. **Resumos...** Belém: SBFV, 1997. p. 291.

DUVICK, D.N; CASSMAN, K.G. Post-green revolution trends in yield potential of temperate maize in the North-Central United States. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1622-1630, 1999.

EDMEADES, G.O.; BOLAÑOS, J.; CHAPMAN, S.C.; LAFITTE, H.R.; BÄNZIGER, M. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: I. Gains in biomass, grain yield, and harvest index. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1306-1315, 1999.

GALINAT, W.C. Intergenomic mapping of maize, teosinte and *Tripsacum*. **Evolution**, v. 27, p. 644-655, 1973.

GALINAT, W.C. The origin of corn. In: Sprague, G.F. (ed.) **Corn and corn improvement**. Madison: American Society of Agronomy. 1., 1977.

GELDERMANN, H. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers. I. Methodes. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 46, p. 319-330, 1975.

GENTINETTA, E.; CEPPI, D.; LEPORI, C.; PERICO, G.; MOTTO, M.; SALAMINI, F. A major gene for delayed senescence in maize. Pattern of photosynthates accumulation and inheritance. **Plant Breeding**, Berlin, v. 97, p. 193-203, 1986.

GIANNAKOULA, A.; MOUSTAKAS, M.; MYLONA, P.; PAPADAKIS, I.; YUPSANIS, T. Aluminium tolerance in maize is correlated with increased levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of lipid peroxidation and Al accumulation. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 385-396, 2008.

GOODMAN, M.M. Maize. In: Simmonds, N. W. (Ed.) **Evolution of crop plants**. Scotland: LST. p. 128-136, 1986.

GRANT, R.F.; JACKSON, B.S.; KINIRY, J.R.; ARKIN, G.F. Water deficit timing effects on yield components in maize. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 61-65, 1989.

GUO, J.; SU, G.; ZHANG, J.; WANG, G. Genetic analysis and QTL mapping of maize yield and associate agronomic traits under semi-arid land condition. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, p. 1829-1838, 2008.

HALL, A.J.; VILELLA, F.; TRAPANI, N.; CHIMENTI, C. The effects of water stress and genotype on the dynamics of pollen shedding and silking in maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 5, p. 349-363, 1982

HASEGAWA , P.M.; BRESSAN, R.A.; ZHU, J.K.; BOHNERT, G.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 463-499, 2000.

HAUSSMANN, B.I.G.; MAHALAKSHMI, V.; REDDY, B.V.S.; SEETHARAMA, N.; HASH, C.T.; GEIGER, H.H. QTL mapping of stay-green in two sorghum recombinant inbred populations. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 106, p. 133-142, 2002.

INGRAM, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 47, p. 377-403, 1996.

JALEEL, C.A.; GOPI, R.; ALAGU LAKSHMANAN, G.M.; PANNEERSELVAM, R. Triadimefon induced changes in the antioxidant metabolism and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **Plant Science**, v. 171, p. 271-276, 2006.

JALEEL CA, GOPI R, MANIVANNAN P, PANNEERSELVAM R. Responses of antioxidant defense system of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. to paclobutrazol treatment under salinity. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 29, p. 205-209, 2007.

JIANG, C.; EDMEADES, G.O.; ARMSTEAD, I.; LAFITTE, H.R.; HAYWARD, M.D.; HOISINGTON, D. Genetic analysis of adaptation differences between highland and lowland tropical maize using molecular markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 99, p. 1106-1119, 1999.

JIANG, G.H.; HE, Y.Q.; XU, C.G.; LI, X.H.; ZHANG, Q. The genetic basis of stay-green in rice analyzed in a population of doubled haploid lines derived from an *indica* by *japonica* cross. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 108, p. 688-698, 2004.

KAMARA, A.Y.; MENKIR, A.; BADU-APRAKU, B.; IBIKUNLE, O. Reproductive and stay-green trait responses of maize hybrids, improved open-pollinated varieties and farmers' local varieties to terminal drought stress. **Maydica**, Bergamo, v. 48, n. 1, p. 29-37, 2003.

KARAMANOS, A.J.; PAPATHEOHARI, A.Y. Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of the Water Potential Index. **Crop Science**, Madison, v. 39, p.1792-1797, 1999.

KEBEDE, H.; SUBUDHI, P.K.; ROSENOW, D.T.; NGUYEN, H.T. Quantitative trait loci influencing drought tolerance in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 103, p. 266-276, 2001.

KHAIRALLAH, M.M.; BOHN, M.; JIANG, C.; DEUTSCH, J.A.; JEWELL, D.C.; MIHM, J.A.; MELCHINGER, A.E.; GONZALEZ-DE-LEON, D.; HOISINGTON, D.A. Molecular mapping of QTL for southwestern corn borer resistance, plant height and flowering in tropical maize. **Plant Breeding**, Berlin, v. 117, n. 4, p. 309-318, 1998.

LI, X.H.; LIU, X.D.; LI, M.S.; ZHANG, S.H. Identification of quantitative trait loci for anthesis-silking interval and yield components under drought stress in maize. **Acta Botanica Sinica**, Beijing, v. 45, n. 7, p. 852-857, 2003.

LEE, E.A.; AHMADZADEH, A.; TOLLENAAR, M. Quantitative genetic analysis of the physiological processes underlying maize grain yield. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 3, p. 981-987, 2005.

LUDLOW, MM.; MUCHOW, R.C. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. **Advances in Agronomy**, v. 43, p. 107-153, 1990.

MAE, T. Physiological nitrogen efficiency in rice: nitrogen utilization, photosynthesis, and yield potencial. **Plant Soil**, v. 196, p. 201-210, 1997.

MANGESLDORF, P.C. **Corn its origin, evolution and improvement**. Cambridge, Mass, USA. 1974.

MANIVANNAN, P.; ABDUL JALEEL, C.; SANKAR, B.; KISHOREKUMAR, A.; SOMASUNDARAM, R.; LAKSHMANAN, G.M.A.; PANNEERSELVAM, R. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annus* L. as induced by drought stress. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 59, p. 141-149, 2007.

MULLET, J.E.; WHITSITT, M.S. Plant cellular responses to water deficit. **Plant Growth Regulation**, v. 20, p. 119-124, 1996.

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

PEET, M.M.; WILLITS, D.H. The effect of night temperature on greenhouse grown tomato yields in warm climate. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 92, p. 191-202, 1998.

PENG, S.; LAZA, R.C.; GARCIA, F.C.; CASSMAN, K.G. Chlorophyll meter estimates leaf area-based N concentration of rice. **Commun Soil Science Plant Anal.**, v. 26, p. 927-935, 1995.

RAGOT, M.; SISCO, P.H.; HOISINGTON, D.A.; STUBER, C.W. Molecular-marker-mediated characterization of favorable exotic alleles at quantitative trait loci in maize. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 5, p. 1306-1315, 1995.

REBAÏ, A.; BLANCHARD, P.; PERRET, D.; VINCOURT, P. Mapping quantitative trait loci controlling silking date in a diallel cross among four lines of maize. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 95, n. 3, p. 451-459, 1997.

REDDY, A.R.; CHAITANYA, K.V.; VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, p. 1189-1202, 2004.

RIBAUT, J.M.; HOISINGTON, D.A.; DEUTSCH, J.A.; JIANG, C.; GONZALEZ-DE-LEON, D. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 1. Flowering parameters and the anthesis-silking interval. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 92, n. 7, p. 905-914, 1996.

RIBAUT, J.M.; JIANG, C.; GONZALEZ-DE-LEON, D.; EDMAN, G.O.; HOISINGTON, D.A. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 94, n. 6-7, p. 887-896, 1997.

RIBAUT, J.M.; HOISINGTON, D.A. Marker-assisted selection: new tools and strategies. **Trends in Plant Science**, Oxford, n. 6, v. 3: 236-239, 1998.

RIBAUT, J.M.; BÄNZINGER, M.; HOISINGTON, D. Genetic dissection and plant improvement under abiotic stress conditions: drought tolerance in maize as an example. **JIRCAS Working Report**, p. 85-92, 2002.

RIBAUT, J.M.; BÄNZIGER, M.; SETTER, T.; EDMEADES, G.; HOISINGTON, D. Genetic dissection of drought tolerance in maize: a case study. In: Nguyen, H.; Blum, A. (Ed.). **Physiology and biotechnology integration for plant breeding**. New York, Marcel Dekker Inc., 2004. p. 571-611.

SARI-GORLA, M. KRAJEWSKI, P.; FONZO, N. Di; VILLA, M.; FROVA, C. Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. II. Plant height and flowering. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 99, n. 1-2, p. 289-295, 1999.

SERRAJ, R.; SINCLAIR, T.R. Osmolyte accumulation: can it really increase crop yield under drought conditions? **Plant Cell Environment**, v. 25, p. 333-341, 2002.

SIBOV, S.T.; SOUZA, Jr., C.L.; GARCIA, A.A.F.; GARCIA, A.F.; SILVA, A.R.; MANGOLIN, C.A.; BENCHIMOL, L.L.; SOUZA, A.P. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 1. Map construction and localization of loci showing distorted segregation. **Hereditas**, Lund, v. 139, n. 2, p. 96-106, 2003.

SHARMA, P.; DUBLEY, R.S. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 854-864, 2005.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. **Current Opinion Plant Biology**, v. 3, n. 3, p. 217-223, 2000.

STUBER, C.W.; LINCOLN, S.E.; WOLFF, D.W.; HELENTJARIS, T.; LANDER, E.S. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. **Genetics**, Baltimore, v. 132, n. 3, p. 823-839, 1992.

SUBUCHI, P.K.; ROSENOW, D.T.; NGUYEN, H.T. Quantitative trait loci for the stay-green trait in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench): consistency across genetic backgrounds and environments. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 101, p. 733-741, 2000.

THOMAS, H., e HOWARTH, C.J. Five ways to stay green. **Journal Experimental Botany**, v. 51, p. 329-337, 2000.

TOLLENAAR, M. e WU, J. Yield improvement in temperate maize is attributable to greater stress tolerance. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1597-1604, 1999.

TOOJINDA, T.; SIANGLIW, M.; TRAGOONRUNG, S.; VANAVICHIT, A. Molecular genetics of submergence tolerance in rice: QTL analysis of key traits. **Annals of Botany**, Oxford, v. 91, p. 243-253, 2003.

TUBEROSA, R.; SALVI, S.; SANGUINETI, M. C.; LANDI, P.; MACCAFERRI, M.; CONTI, S. Mapping QTLs regulating morpho-physiological traits and yield: Case studies, shortcomings and perspectives in drought-stressed maize. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 941-963, 2002.

TUBEROSA, R. and SALVI, S. Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. **Trends in Plant Science**, n. 8, v.11, p. 405-412, 2006.

UMEZAWA, T.; FUJITA, M.; FUJITA, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes unlock the future. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 17, p. 113-122, 2006.

VARGAS, M; EEUWIJK van, F.A.; CROSSA, J.; RIBAUT, J-M. Mapping QTLs and QTL x environment interaction for CIMMYT maize drought stress program using factorial regression and partial least squares methods. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 112, p. 1009-1023, 2006.

VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16, p. 123-132, 2005.

WAHID, A.; GELANI, S.; ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Heat tolerance in plants: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, v. 61, p. 199-223, 2007.

WEATHERWAX, P. **Indian corn in old America**. New York, USA: The Mac Millan Co. 253p. (1954).

WESTGATE, M.E.; BOYER, J.S. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. **Crop Science**, Madison, v. 26, p.951-956, 1986.

XU, W.W.; ROSENOW, D.T.; NGUYEN, H.T. Stay-green trait in grain sorghum: relationship between visual rating and leaf chlorophyll concentration. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, p. 365-367, 2000.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Organization of *cis*-acting regulatory elements in osmotic and cold-stress-responsive promoters. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 88-94, 2005.

YAMAYA, T.; OBARA, M.; NAKAJIMA, H.; SASAKI, S.; HAYAKAWA, T.; SATO, T. Genetic manipulation and quantitative-trait loci mapping for nitrogen recycling in rice. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 917-925, 2002.

ZHANG, Y.M.; MAO, Y.C.; XIE, C.Q.; SMITH, H.; LUO, L.; XU, S.Z. Mapping quantitative trait loci using naturally occurring genetic variance among commercial inbred lines of maize (*Zea mays* L.). **Genetics**, Baltimore, v. 169, n. 4, p. 2267-2275, 2005.

ZHENG, H.J.; WU, A.Z.; ZHENG, C.C.; WANG, Y.F.; CAI, R.; SHEN, X.F.; XU, R.R.; LIU, P.; KONG, L.J.; DONG, S.T. QTL mapping of maize (*Zea mays*) stay-green traits and their relationship to yield. **Plant Breeding**, Berlin, v. 128, p. 54-62, 2009.

ZHU, J.K. Drought and salt stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 247-273, 2002.

CAPÍTULO I

VARIABILIDADE GENÉTICA, INTERAÇÃO GENÓTIPO X AMBIENTE E GANHOS POR SELEÇÃO

RESUMO

TOMÉ, Livia Gracielle Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009. **Análises biométricas e mapeamento de QTLs para tolerância à seca em milho.** Orientador: Cosme Damião Cruz. Coorientadores: Cláudia Teixeira Guimarães e Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

O aumento da produtividade agrícola é uma das metas do melhoramento genético. A maioria das espécies apresenta grande diversidade genética, sendo possível selecionar e recombinar formas genéticas mais adaptadas, de melhor qualidade e mais eficientes. O estudo do potencial genético das populações contribui para que os melhoristas possam trabalhar na variabilidade genética existente, nestas populações, visando o aumento da produção. Neste trabalho, foram avaliados o potencial e a variabilidade genética de uma população $F_{2:3}$ de milho sob estresse hídrico. Objetivou-se estimar os parâmetros genéticos, identificar a natureza da interação genótipo x ambiente e prever os ganhos genéticos com a seleção para o caráter produção de grãos. Os ensaios foram instalados nos anos agrícolas de 2006 e 2007, na Estação Experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Janaúba, MG. Avaliaram-se 98 progênies $F_{2:3}$, extraídas do cruzamento entre as linhagens endogâmicas L31.2.1.2 (tolerante à seca) e L2.3.2.1 (sensível à seca), no delineamento em blocos ao acaso, com três repetições, no ano de 2006, e quatro ensaios no delineamento em Látice Triplo, 10x10, ano de 2007. Observou-se existência de variabilidade genética para todas as

características avaliadas. O potencial de produção de grãos, com base na média, foi de 3,8 ton/ha, no ambiente sem estresse e 2,0 ton/ha, no ambiente com estresse. As correlações fenotípicas, genotípicas e ambientais apresentaram concordância de sinais para prolificidade, folhas mortas, altura de espigas, exceto para intervalo entre florescimentos. A interação genótipos x ambientes foi predominantemente complexa, mostrou a necessidade da condução e avaliação das populações segregantes nos diferentes anos de cultivo do milho, bem como no ambiente com estresse hídrico. Os mais elevados ganhos para produção de grãos, no ambiente de seca, foram aqueles realizados com base no desempenho médio dos genótipos nos dois locais, com e sem estresse e também e a seleção com base na família de desempenho máximo. A seleção com base na média de cada família é uma estratégia interessante quando há preocupação em garantir o melhoramento de cultivares de adaptabilidade ampla. Já a seleção com base na família de desempenho máximo para cada ambiente oferece vantagens em relação ao valor da média geral da família, por permitir avaliar, simultaneamente, a estabilidade, a adaptabilidade e a capacidade produtiva das famílias sob seleção.

ABSTRACT

TOMÉ, Livia Gracielle Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, july, 2009. **Biometric analysis and mapping of QTLs for drought tolerance in maize.** Advisor: Cosme Damião Cruz. Coadvisors: Cláudia Teixeira Guimarães and Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

The increasing of agricultural yield is one of the genetic improvement goals. Most species have high genetic diversity, being possible selecting and recombining genetic forms well adapted, with better quality, and more efficient. The study of genetic potential of populations contributes for plant breeders working focused on the existing genetic variability in these populations, in order to increase the production. In this study, it was evaluated the potential and the genetic variability of a $F_{2:3}$ maize population under water stress. The goal of this work was to evaluate genetic parameters, to identify the nature of genotype x environment interactions, and to predict the genetic gains along the selection for grain yield. The experiments were conducted during the 2006 and 2007, the Experimental Station of Embrapa Maize and Sorghum in Janaúba, MG. It was evaluated 98 progenies $F_{2:3}$, extracted from the cross between the inbred L31.2.1.2 (drought tolerant) and L2.3.2.1 (sensitive to drought) in a randomized block design with three replications in 2006, and four trials in a randomized triple lattice, 10x10, in 2007. It was observed evidence of genetic variability for all traits evaluated. The potential yield, based on the average, was 3.8 ton/ha in the non-stress environment, and 2.0 ton/ha in

the stress environment. The phenotypic, genetic and environmental correlations showed agreement in signs for prolificacy, leaf senescence, ear height, except for the anthesis silking interval. The genotype x environment interaction was predominantly complex, showed the need for the conduction and evaluation of maize segregating populations in different years of cultivation, as well as in the environment with water stress. The highest indirect gains for grain yield in the stress environment are those made based on the average performance of the genotypes in both locations (stress and non-stress) and selection based on the family of best performance. The selection based on the average of each family is an interesting strategy when there is concern to ensure the improvement of cultivars of broad adaptability. Whereas the selection based on best performance family for each environment offers advantages compared to the family overall average value, allowing assess simultaneously the stability, adaptability and capacity of families under selection.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais importantes do Brasil, estando amplamente distribuído em todo o mundo. É empregado diretamente na alimentação animal, humana e também na indústria. Entretanto, estima-se que de 40 a 70% de sua produção seja reduzida devido ao estresse hídrico (CONAB, 2009). Por isso, a busca por genótipos mais tolerantes ao déficit hídrico tem sido um dos principais objetivos dos programas nacionais e internacionais de seleção e melhoramento, visando ao aumento de produtividade sob estas condições (HEISEY & EDMEADES, 1999; MONNEVEUX et al., 2006).

Fatores ambientais têm forte influência sobre a produção de espécies cultivadas. A seca é um dos principais fatores limitantes para a produção de grãos e biomassa na cultura do milho (BOLAÑOS & EDMEADES, 1993; TOLLENAAR et al., 1992; LIZASO et al., 2003; BORRÁS et al., 2007). Durante os últimos 60 anos, consideráveis esforços têm sido feitos na tentativa de melhorar o desempenho de materiais cultivados para tolerância a estresses abióticos como a seca (JENSEN, 1971; EDMEADES et al., 1992). A seca tem sido particularmente crítica em países pobres ou em desenvolvimento, onde a tecnologia na irrigação muitas vezes é limitada associada aos baixos índices pluviométricos (EDMEADES et al., 1997).

O estresse hídrico promove alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas nas plantas, afetando o seu crescimento e desenvolvimento

podendo conduzir a uma drástica redução nos ganhos em produção (WAHID et al., 2007). A evolução de espécies cultivadas, desde a sua domesticação, tem sido conduzida pela seleção de características desejáveis, com o objetivo de aumento na produtividade. A seleção direta para a produtividade de grãos em culturas sob condições de estresse hídrico tem sido dificultada pelo decréscimo da variância genética e pela baixa herdabilidade da característica que é de controle poligênico, e da expressiva interação genótipo x ambiente (BLUM, 1988; PIEPHO, 2000).

O milho é particularmente sensível à seca durante o florescimento (HERRERO & JOHNSON, 1981; WESTGATE & BASSETTI, 1990). É de grande interesse dos melhoristas de milho o entendimento de características cuja expressão está associada com a adaptabilidade do vegetal ao ambiente de seca. Entre estas características, podem ser citadas: baixa arquitetura da planta, “stay-green”, florescimento precoce, prolongado fechamento estomatal, proporcionando uma redução na evapotranspiração, profundidade e volume de raízes e enrolamento foliar. Estas características podem influenciar direta ou indiretamente no ganho em produtividade segundo karamanos & Papatheohari (1999), citados por CATTIVELLI et al. (2008).

As perdas na produção de grãos são severas quando o estresse hídrico ocorre durante o estágio de florescimento (CLAASSEN & SHAW, 1970; GRANT et al., 1989). O florescimento do milho é inibido pelo déficit hídrico, causando falhas na fertilização e aborto de embriões (ZINSELMEIER et al., 1995). O período compreendido entre a emergência dos estilos-estigmas e a extrusão de anteras com a consequente liberação de grãos de pólen é denominado de intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF). Um atraso no florescimento feminino em relação ao florescimento masculino, ou seja, um prolongamento no IFMF ocorre quando a cultura está sob condições de estresse hídrico (DUPLESSIS & DIJKHUIS, 1967; WESTGATE & BOYER, 1986; BOLAÑOS & EDMÉADES, 1993). O IFMF é um indicador fenotípico eficaz de tolerância ao déficit hídrico e é utilizado em programas de

melhoramento que têm como objetivo aumentar a estabilidade na produção de grãos sobre condições de seca (DURÃES et al., 1997).

Claassen & Shaw, em 1970, reportaram que o estabelecimento final do número de grãos ocorre na segunda semana seguinte ao florescimento. A característica intervalo entre florescimentos masculino e feminino está fortemente correlacionada com a produção de grãos (BOLAÑOS & EDMEADES et al., 1996). Quanto ao tamanho da planta, Fischer et al. (1983) relatam que o milho tolerante ao estresse hídrico tem porte pequeno em relação ao não tolerante. Outros estudos sugerem que a competição por assimilados durante o enchimento de grãos afeta o crescimento de espigas e o número de grãos na cultura do milho (SCHUSSLER & WESTGATE, 1995; ZINSELMEIER et al., 1995). O caráter senescência foliar também tem influência sobre a produção de grãos já que contribui para a redução da assimilação dos nutrientes provenientes da fotossíntese. Portanto, a redução da senescência foliar é uma característica de interesse para o melhoramento de tolerância à seca.

A seleção de cultivares com considerável tolerância ao estresse hídrico associada a práticas de manejo apropriadas tem sido estratégia econômica e eficiente para contornar o problema da condição de seca (TURNER, 1991). Por esta razão, um dos objetivos em programas de melhoramento de plantas para culturas vegetais nestas regiões é a melhoria de genótipos tolerantes ou adaptados a certa condição adversa, à limitação de água, em fases críticas do ciclo da cultura.

Para se obter ganho de produção, em condições subótimas ou adversas à produtividade das plantas, os programas de melhoramento devem assegurar alta correlação genética entre a característica no ambiente de seleção e nas áreas de produção. Geralmente, associações positivas com a produtividade em ambientes com e sem estresse indicam que foi possível a combinação da tolerância aos estresses e da responsividade em condições favoráveis (ATLIN, 2001).

Para que uma característica possa ser utilizada na seleção indireta para tolerância à seca, é necessário que ela seja correlacionada

geneticamente com a resposta da planta ao estresse e que esteja associada com a produção. Para a cultura do milho, características como o número de espigas por planta ou a prolificidade (BÄNZIGER et al., 2000), a taxa de alongação foliar (REYMOND et al., 2003) e o intervalo de florescimento masculino e feminino (BOLAÑOS & EDMEADES, 1993) têm sido utilizadas para seleção indireta objetivando o aumento da produção de grãos sob condições de seca.

Devido à importância desses caracteres no desenvolvimento de cultivares tolerantes ao estresse hídrico e da importância em investigar sua herança, o presente trabalho teve por objetivos: i) avaliar o potencial e a variabilidade genética de uma população $F_{2:3}$ milho sob estresse hídrico; ii) estimar os parâmetros genéticos; iii) identificar a natureza da interação G x A; e iv) prever os ganhos genéticos com a seleção para o caráter produção de grãos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios em campo para estudo de tolerância à seca foram instalados nos anos agrícolas de 2006 e 2007, na Estação Experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Janaúba, MG, altitude de 516 m, latitude de 15°47' S e longitude 43°18' W. No ano de 2006, foram instalados dois ensaios: um conduzido com irrigação normal e outro sob déficit hídrico. Foram avaliadas 98 progênies $F_{2:3}$, derivadas do cruzamento entre as linhagens endogâmicas L31.2.1.2 (tolerante à seca) e L2.3.2.1 (sensível ao estresse hídrico), incluindo os parentais, no delineamento em blocos ao acaso, com três repetições. No ano agrícola de 2007, foram instalados quatro ensaios, com três repetições, no delineamento em Látice Triplo. Os quatro ensaios foram organizados da seguinte forma: dois ensaios (irrigação plena e déficit hídrico) com as mesmas 98 progênies do ano anterior (Grupo 1) e dois ensaios (irrigação plena e déficit hídrico) com outras 98 progênies $F_{2:3}$ (Grupo 2), oriundas do mesmo cruzamento.

O plantio dos ensaios foi no mês de junho e a condução do experimento até setembro, época em que a probabilidade de chuvas na região é mínima. As parcelas consistiram de uma fileira de 4 m de comprimento, espaçadas em 80 cm entre linhas e 20 cm entre plantas, onde foram semeadas vinte sementes por fileira. A irrigação foi feita utilizando o sistema de gotejamento, e a umidade do solo foi monitorada pelo método gravimétrico, medida em três profundidades: 0-10 cm, 10-30 cm e 30-50 cm. A adubação foi baseada na análise de solos, e os tratos

culturais e fitossanitários foram feitos de acordo com a necessidade da cultura. Procurou-se manter os ensaios livres de pragas e da competição com invasoras.

Nos ensaios com estresse, a irrigação foi interrompida no 15º dia antes do florescimento (emborrachamento do pendão). Durante a aplicação do estresse, 35 dias, a irrigação foi monitorada e mantida ao nível da capacidade de campo do solo.

2.1. Características avaliadas

Foram obtidos dados referentes à altura da planta (AP, cm), altura de espiga (AE, cm), percentual de folhas mortas (FM) 15 dias após o florescimento, ao intervalo entre florescimentos (IFMF), umidade (%), estande (plantas/parcela), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG).

Para determinação da altura de plantas, elegeu-se uma planta representativa da parcela e mediu-se a distância em centímetros do nível do solo até a inserção da folha bandeira.

Para determinação da altura de espiga, elegeu-se uma planta representativa da parcela e mediu-se a distância em centímetros do nível do solo até a primeira espiga.

Para determinação do percentual de folhas mortas, dividiu-se visualmente a planta em quatro partes e estabeleceram-se notas de 0 a 10, de acordo com o escore visual em que se encontravam as folhas secas, segundo a metodologia descrita por Bolaños & Edmeades (1993).

O intervalo entre o florescimento masculino e feminino (IFMF, em dias) foi calculado como a diferença, em dias, entre a antese e o florescimento feminino avaliado quando 50% das plantas da parcela apresentavam deiscência das anteras e extrusão dos estilos-estigmas.

Para determinação da prolificidade calculou-se a razão do número de espigas por estande (plantas sobreviventes da parcela).

Para determinação da produção, pesaram-se os grãos de todas as espigas, de cada planta, da parcela.

A produção de grãos em ton. ha⁻¹ (PG) foi corrigida para 14,5% de umidade e para estande ideal de 20 plantas por parcela, pelo método proposto por Vencovsky & Cruz (1991).

Para a correção para teor de umidade constante, utilizou-se a fórmula:

$$Y_c = \frac{Y_o}{U}$$

em que:

Y_c = valor corrigido;

Y_o = valor original da variável; e

U = umidade original (expressa em decimais).

2.2. Análise de variância conjunta

As análises estatísticas foram inicialmente realizadas para cada caráter em cada ambiente e, posteriormente, feita a análise conjunta, considerando como ambientes: sem estresse x com estresse (progênies do grupo 1 e 2); ano 2006 x 2007 (apenas progênies do grupo 1); e outras análises conjuntas considerando ano como sendo o ambiente. As análises estatísticas foram feitas no programa GENES (CRUZ, 2006). Na análise conjunta, foi considerado o modelo estatístico dado por:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + A_j + GA_{ij} + B/A_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

em que:

μ : média geral;

G_i : efeito aleatório do i-ésimo genótipo ($i=1, 2, \dots, g$);

A_j : efeito fixo do j-ésimo ambiente ($j=1, 2, \dots, a$);

GA_{ij} : efeito da interação do i-ésimo genótipo com o j-ésimo ambiente;

B/A_{jk} : efeito aleatório do k-ésimo bloco dentro do j-ésimo ambiente ($k=1, 2, \dots, r$); e

ε_{ijk} : erro aleatório.

Quadro 1. Análise de variância conjunta.

FV	GL	QM	E(QM)
Blocos/Ambientes	$a(r-1)$	QMB	$\sigma^2 + g\sigma_b^2$
Ambientes (A)	$a-1$	QMA	$\sigma^2 + r\ell\sigma_{ga}^2 + g\sigma_b^2 + gr\phi_a$
Genótipos (G)	$g-1$	QMG	$\sigma^2 + ar\sigma_g^2$
G x A	$(a-1)(g-1)$	QMGA	$\sigma^2 + r\ell\sigma_{ga}^2$
Resíduo	$a(r-1)(g-1)$	QMR	σ^2
Total	$agr-1$		

$\ell = a / (a-1)$

Estimativas de herdabilidade, no sentido amplo, ao nível de média (h^2) para cada característica, em cada ambiente, foram obtidas pela fórmula:

$$h^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}^2 / r}$$

em que:

$\hat{\sigma}_g^2$ = estimador da variância genotípica, em um dado ambiente;

$\hat{\sigma}^2$ = estimador da variância residual; e

r = número de repetições, no ambiente.

Os coeficientes de variação genética (CV_g) e experimental (CV) e o índice de variação (θ =razão CV_g/CV) foram obtidos de acordo com Vencovsky (1987).

Seus estimadores são:

$$CV_g\% = \frac{\hat{\sigma}_g \cdot 100}{\bar{X}}$$

$$CV\% = \frac{\hat{\sigma} \cdot 100}{\bar{X}}$$

$$\hat{\theta} = \frac{CVg\%}{CV\%}$$

sendo $\bar{X}$ a média da característica.

Os coeficientes de correlação fenotípica, ambiente e genotípica entre dois caracteres X e Y foram estimados por meio das expressões:

$$\text{Correlação fenotípica: } r_f = \frac{PMT_{XY}}{\sqrt{QMT_x \cdot QMT_y}}$$

$$\text{Correlação ambiental: } r_a = \frac{PMR_{XY}}{\sqrt{QMR_x \cdot QMR_y}}$$

em que:

$$PMT_{xy} = (QMT_{x+y} - QMT_x - QMT_y)/2$$

$$PMR_{xy} = (QMR_{x+y} - QMR_x - QMR_y)/2$$

$$\text{Correlação genotípica: } r_g = \frac{\hat{\sigma}_{gxy}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{gx}^2 \cdot \hat{\sigma}_{gy}^2}}$$

em que:

$\hat{\sigma}_{gxy}$ = estimador da covariância genotípica entre os caracteres X e Y; e

$\hat{\sigma}_{gx}^2$ e $\hat{\sigma}_{gy}^2$ = estimadores das variâncias genotípicas dos caracteres X e Y, respectivamente.

2.3. Ganhos esperados por seleção

Se os genótipos são avaliados em um conjunto de ambientes, pode-se estimar a resposta indireta da seleção ($GS_{ji'}$) em um ambiente quando

esta é praticada em outro qualquer do conjunto (CRUZ et al., 2004). O ganho de seleção foi dado por:

$$GS_{jj'} = DS_{j'} r_g h_{j'} \frac{\hat{\sigma}_{gj}}{\hat{\sigma}_{gj'}}$$

em que:

j' é o ambiente em que a seleção é praticada;

j é o ambiente para o qual se avalia a resposta indireta;

$DS_{j'}$ é o diferencial de seleção praticado no ambiente j' ;

r_g é a correlação genética entre as médias dos genótipos nos ambientes j e j' ;

$h_{j'}$ é a acurácia, ou seja, a raiz quadrada da herdabilidade no ambiente j' ;

$\hat{\sigma}_{gj}$ é o desvio padrão genético estimado no j -ésimo ambiente; e

$\hat{\sigma}_{gj'}$ é o desvio padrão fenotípico estimado no j' -ésimo ambiente.

A correlação genética entre uma característica avaliada em dois ambientes distintos, considerando a medida da eficiência da resposta indireta uma função da magnitude da interação entre genótipos e ambientes, foi estimada por meio de:

$$r_g = \frac{\hat{\sigma}_{g(jj')}}{\hat{\sigma}_{g(jj')} + \hat{\sigma}_{ga(jj')}}^2$$

Em que $\hat{\sigma}_{g(jj')}$ e $\hat{\sigma}_{ga(jj')}$ são os estimadores dos componentes de variância genética e da interação genótipos x ambientes, obtidos pela análise conjunta envolvendo os ambientes j e j' .

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Variabilidade genética, potencial da população e qualidade do experimento

A quantificação da magnitude e da natureza da variabilidade genética disponível na população segregante e a avaliação da importância relativa dos efeitos gênicos que constituem as médias da população estudada são linhas básicas adotadas nos estudos genéticos de gerações (CRUZ et al., 2004).

As análises de variância dos anos de 2006 e 2007 apresentaram efeito significativo para todas as características avaliadas nos ambientes com e sem estresse (Tabelas 1, 2 e 3), indicando a existência de variabilidade genética para todas as características avaliadas.

É possível afirmar, baseado nas estimativas de médias gerais, que a população $F_{2:3}$, proveniente do cruzamento entre as linhagens L31.2.1.2 e L2.3.2.1 apresenta potencial de produção, tanto no ambiente irrigado, quanto no ambiente sob estresse hídrico. Esta afirmativa é plenamente visível pelo resultado da análise de variância realizado com as 20 progênies de melhor desempenho e 20 progênies de baixo desempenho (Tabelas 4 e 5).

Tabela 1. Análise de variância modelo de blocos casualizados para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF) em dias, altura da planta (AP) em cm, altura da espiga (AE) em cm, porcentagem de folhas mortas (FM) após 15 dias do florescimento, prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG) em kg/ha, nos ambientes com e sem estresse de 98 progênies $F_{2:3}$, ano de 2006, acrescidas dos parentais

FV	GL	QM											
		IFMF		AP		AE		FM		PROL		PG	
		Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Blocos	2	1,00	2,73	1890,08	792,58	1023,25	717,58	0,11	0,06	0,30	0,19	2689674,35	1097833,90
Genótipos	99	1,28**	1,64*	293,33**	312,93**	179,37**	192,30**	0,00 ^{ns}	0,07**	0,11**	0,12**	3720343**	2648589,98**
Resíduo	198	0,73	1,22	137,22	65,73	83,69	54,45	0,0008	0,03	0,04	0,03	562810,70	360599,61
Média		-0,45	-0,69	138,63	129,37	67,45	66,47	0,19	0,41	1,09	0,80	3820,29	2102,40
L31.2.1.2 (tolerante)		-1,33	-1,33	112	103	40	38	0,18	0,33	0,65	0,39	788,39	245,99
L2.3.2.1 (sensível)		-0,33	0,33	150	137	73	70	0,20	0,30	1,24	1,07	5167,32	4963
CV (%)		-189,51	-160,40	8,45	6,27	13,56	11,10	15,09	45,86	19,38	22,75	19,64	28,56

** e * efeitos significativos pelos teste F a 1% e 5% respectivamente, ns = não significativo

Tabela 2. Análise de variância modelo látice Grupo 1 para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF em dias), altura da planta (AP) em cm, altura da espiga (AE) em cm, porcentagem de folhas mortas (FM) após 15 dias o florescimento, prolificidade (PROL), e produção de grãos (PG) em kg/ha, nos ambientes com e sem estresse de 98 progênies $F_{2:3}$, ano de 2007, acrescidas dos parentais

FV	GL	QM											
		IFMF		AP		AE		FM		PROL		PG	
		Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Blocos	2	1,37	6,74	235,29	196,03	187,87	151,62	0,005	0,02	1,12	0,03	2637380	1576817
Genótipos	99	3,99**	10,87**	400,4**	396,45**	232,96**	283,05**	0,004**	0,10**	0,02**	0,11**	2152338**	2413139**
Resíduo	198	1,09	2,42	64,14	62,39	58,74	61,58	0,001	0,01	0,01	0,02	459932	362405
Eficiência Látice		100,88	117	128,34	121,6	122,3	113,15	122,99	114,37	97,90	105,95	155,65	137
Média		-0,15	-1,40	143,02	133,7	65,2	65,2	0,14	0,39	0,99	0,76	3743,09	2017
L31.2.1.2 (tolerante)		-1,73	-4,04	113	106	33	33	0,12	0,32	0,74	0,44	1346,98	231,6
L2.3.2.1 (sensível)		-0,37	-2,58	169	148	87	75	0,21	0,35	0,98	0,88	5832,22	2977
CV (%)		-697,93	-110,80	5,60	5,91	11,76	12,04	27,9	20,14	11,66	17,93	18,12	29,84

** efeitos significativos pelos teste F a 1% de probabilidade.

Tabela 3. Análise de variância modelo látice Grupo 2 para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF em dias), altura da planta (AP) em cm, altura da espiga (AE) em cm, porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL), produção de espiga (PE) e produção de grãos (PG) em kg/ha, nos ambientes com e sem estresse de 98 progênies $F_{2:3}$, ano de 2007, acrescidas dos parentais

FV	GL	QM											
		IFMF		AP		AE		FM		PROL		PG	
		Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Blocos	2	1,98	1,83	238,38	227,06	98,02	203,75	0,006	0,009	0,03	0,02	2653179	813332
Genótipos	99	2,36**	7,23**	509,96**	497,56**	320,92**	249,54**	0,003**	0,06**	0,04**	0,06**	1940975**	1423116**
Resíduo	198	0,98	1,59	59,92	61,12	44,04	62,37	0,002	0,004	0,02	0,02	534011	258121
Eficiência Látice		108,07	100,32	132,39	128,95	110,34	123,18	125,15	109,66	106,88	101,69	145,44	121,7
Média		-0,01	-1,16	143,05	130,35	66,88	65,93	0,13	0,36	1,01	0,77	3855	1891
L31.2.1.2 (tolerante)		-0,89	-3,70	112	101	38,74	35	0,16	0,33	0,95	0,59	1778,13	632,26
L2.3.2.1 (sensível)		0,33	-1,07	140	122	73	67	0,14	0,32	1,09	0,86	3870,56	2025
CV (%)		-14819,9-108,94		5,41	5,99	9,92	11,98	30,67	17,35	12,38	16,6	18,96	26,87

** efeitos significativos pelos teste F a 1% de probabilidade

Tabela 4. Análise de variância, com base nas 20 progênes mais elevados desempenhos, modelo de blocos casualizados para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF) em dias, altura da planta (AP) em cm, altura da espiga (AE) em cm, porcentagem de folhas mortas (FM) após 15 dias do florescimento, prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG) em kg/ha, nos ambientes com e sem estresse de 98 progênes $F_{2:3}$, acrescidas dos parentais

FV	GL	QM											
		IFMF		AP		AE		FM		PROL		PG	
		Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Blocos	2	1,95	4,55	807,92	140,42	503,75	61,67	0,01	0,04	0,08	0,02	3402127,9	602117,2
Genótipos	19	1,94*	4,56**	326,73**	297,61**	222,46**	292,90**	0,01**	0,05*	0,07 ^{ns}	0,06*	2517330*	2040630,83**
Resíduo	38	1,06	1,27	109,23	111,03	54,63	97,63	0,00	0,02	0,04	0,03	1111420,1	768091,3
Média		-0,05	-1,00	149,92	138,08	73,00	69,83	0,145	0,36	1,16	0,94	5332,32	3149,05
L31.2.1.2 (tolerante)		-1,33	-1,33	112	103	40	38	0,18	0,33	0,65	0,39	788,39	245,99
L2.3.2.1 (sensível)		-0,33	0,33	150	137	73	70	0,20	0,30	1,24	1,07	5167,32	4963
CV (%)		-1085,8	-104,76	5,68	5,71	10,25	11,55	31,9	27,01	7,83	10,73	12,8	20,68

** e * efeitos significativos pelos teste F a 1% e 5% respectivamente, ns = não significativo

Tabela 5. Análise de variância, com base nas 20 progênes de baixo desempenho, modelo de blocos casualizados para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF) em dias, altura da planta (AP) em cm, altura da espiga (AE) em cm, porcentagem de folhas mortas (FM) após 15 dias do florescimento, prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG) em kg/ha, nos ambientes com e sem estresse de 98 progênes $F_{2:3}$, acrescidas dos parentais

FV	GL	QM											
		IFMF		AP		AE		FM		PROL		PG	
		Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
Blocos	2	1,72	2,47	455,0	281,67	121,67	278,75	0,01	0,11	0,03	0,05	930529,12	110378,15
Genótipos	19	1,96**	5,97*	446,14**	412,28**	212,81**	158,31 ^{ns}	0,01**	0,23**	0,06 ^{ns}	0,17**	2239248,28**	1008059,03**
Resíduo	38	0,79	2,57	103,25	136,49	65,96	108,57	0,00	0,02	0,04	0,04	456706,26	175934,24
Média		-0,58	-1,38	133,00	121,67	60,33	60,75	0,17	0,52	0,91	0,54	2560,70	935,52
L31.2.1.2 (tolerante)		-1,33	-1,33	112	103	40	38	0,18	0,33	0,65	0,39	788,39	245,99
L2.3.2.1 (sensível)		-0,33	0,33	150	137	73	70	0,20	0,30	1,24	1,07	5167,32	4963
CV (%)		-107,23	-76,99	8,04	7,88	11,60	6,70	20,50	50,19	7,63	37,32	30,10	56,29

** e * efeitos significativos pelos teste F a 1% e 5% respectivamente, ns = não significativo

O potencial de produção de grãos, com base na média, no ano de 2006, do ensaio sem estresse, foi de 3,8 ton/ha e sob estresse hídrico foi de 2,1 ton/ha. Para os ensaios, em látice, do Grupo 1, no ano de 2007, o potencial de produção foi de 3,7 ton/ha, no ambiente sem estresse e de 2,0 ton/ha no ambiente de seca. Nos ensaios, em látice, do Grupo 2, ano de 2007, o potencial de produção foi de 3,8 e 1,9 ton/ha sem e com estresse, respectivamente (Tabelas 1, 2 e 3). Câmara et al. (2007), em experimento sob estresse hídrico de população segregante, encontrou estimativas de médias para produção de grãos de 2,6 ton/ha, para prolificidade estimativas variando de 0,55 até 0,88 para o intervalo entre florescimentos de -0,22 até 2,93.

Houve redução na produção de grãos de 44,7%, do ambiente com estresse em relação ao sem estresse, no ano de 2006. A imposição do estresse, no ano de 2007, causou uma redução de 46,1 e 50,9% na produtividade dos Grupos 1 e 2, respectivamente. Entretanto, essa redução em torno de 50% da produção quando da imposição do estresse, será útil como comparação fenotípica já que estes dados serão utilizados nos estudos de mapeamento genético e detecção de QTLs. Bolaños & Edmeades (1996), analisando o desempenho de progênies S₁, obtiveram médias de 2,49; 0,95 e 0,35 ton/ha sob as condições sem estresse, estresse intermediário e estresse severo, respectivamente. Segundo estes autores, a seca imposta reduziu a produção de grãos de 14 a 38% em relação ao tratamento controle.

O aumento da intensidade do déficit hídrico proporcionou aumento no intervalo entre florescimentos e redução da prolificidade (Tabelas 1, 2 e 3), observados pelas estimativas de médias. Betrán et al. (2003) ressaltaram observações similares em seus experimentos.

Segundo Federer (1955), quando a eficiência do látice for superior a 110%, é justificável a análise dos dados, considerando esse delineamento. Pode-se observar alta eficiência do látice, em relação a blocos completos, para os caracteres IFMF, AP, AE, FM e PG, indicando ser este delineamento adequado para se obter melhor controle local, sendo possível isolar o efeito da variação de blocos dentro de repetição.

Embora a eficiência do látice com base na classificação de Federer (1955) tenha sido considerada baixa para prolificidade, por efeito de padronização, todos os caracteres foram analisados, considerando-se o delineamento látice.

Experimentos com coeficientes de variação baixos, ou de alta precisão, são almejados pelos melhoristas, visto que proporcionam a obtenção de estimativas de parâmetros genéticos mais fidedignas, ou acuradas, importantes nas tomadas de decisões no decurso do programa de melhoramento.

De modo geral, os experimentos apresentam de boa a razoável precisão avaliada pelo coeficiente de variação ambiental (CV%), com valores de 19 e 28% (ano de 2006); de 18 e 29% (ano de 2007, G1); e de 18 e 26% (ano de 2007, G2), para a produção de grãos, nos ambientes sem e com estresse, o que seria esperado para as condições de estresse (Tabelas 1, 2 e 3).

Segundo a classificação determinada por Scapim et al. (1995), os coeficientes de variação dos ensaios de tolerância, nos anos de 2006 e 2007, são de classificação mediana nos ambientes sem estresse, e alta, nos ambientes sob estresse hídrico. Porém, considerados normais ou dentro do esperado, para as condições de estresse. Os coeficientes de variação experimental encontrados para as características PG e PROL, no ambiente com estresse foram 1,45 e 1,17, respectivamente, vezes mais elevados em relação ao ambiente sem estresse, no ano de 2006. Nos ensaios de 2007, esta relação foi de 1,06 (AP); 1,02 (AE); 1,65 (PG) e 1,54 (PROL) para progênies G1 e de 1,11 (AP); 1,21 (AE); 1,42 (PG) e 1,34 (PROL) nas progênies G2. Em condições de estresse, valores dessa natureza ou mais elevados têm sido relatados na literatura (CHAPMAN et al., 1997) e em condições sem estresse, esses valores se enquadram na classificação, mediana, proposta por Scapim et al. (1995). Scapim et al. (1995) relatam que sob normalidade, tem-se a expectativa de que a maioria dos experimentos tenha coeficientes de variação próximos da média, coeficientes de variação muito baixos ou muito altos ocorrem, porém, com baixa frequência. Costa et al. (2008), avaliando as cultivares

de milho M-21 e BR-106, sob diferentes níveis de estresse hídrico, obtiveram CV de 26,07% e uma produção média de grãos de 4,09 ton/ha.

3.2. Parâmetros Genéticos

As estimativas de parâmetros genéticos são fundamentais no melhoramento de plantas, uma vez que permitem identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle dos caracteres quantitativos e avaliar a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para a obtenção de ganhos genéticos e manutenção de uma base genética adequada nas populações (CRUZ et al., 2004).

Estimativas da variância genética, da herdabilidade, dos coeficientes de variação genotípicos, da relação entre os coeficientes de variação genotípico e ambiental, para as condições com e sem estresse hídrico de sete características, são apresentadas na Tabela 6.

O componente de variância genotípica é causado pelas diferenças genéticas entre os indivíduos. Um valor elevado deste componente é indicativo de uma ampla variabilidade genética para o caráter, o que é interessante para identificação de genótipos superiores no programa de melhoramento. A redução da variabilidade genética traz como consequência um aumento da uniformidade genética e a redução de ganhos em processos seletivos.

No ambiente com estresse hídrico, os valores da variância genotípica foram, em geral, superiores aos valores nos ambientes sem estresse, indicando que a população $F_{2:3}$ apresentou resposta sob influência do estresse hídrico, que seria o mais esperado em uma população focalizada na seleção para características de tolerância à seca.

Tabela 6. Estimativas dos parâmetros genéticos e ambientais para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), percentual de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG) em milho

Ano	Característica			h ² (%)		CV _g (%)		CV _g /CV	
		Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
2006	IFMF	0,18	0,14	42,97	25,22	-94,9	-53,8	0,50	0,34
	AP	52,04	82,40	53,22	78,99	5,20	7,02	0,62	1,12
	AE	31,89	45,95	53,34	71,68	8,37	10,20	0,62	0,92
	FM	0,00	0,01	13,07	53,46	3,38	28,38	0,22	0,62
	PROL	0,02	0,03	57,64	73,08	13,05	21,65	0,67	0,95
	PG	1052511	762663	84,87	86,38	26,85	41,54	1,37	1,45
Ano	Característica			h ² (%)		CV _g (%)		CV _g /CV	
		Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
2007 G1	IFMF	0,97	2,82	72,58	77,74	-655	-119	0,94	1,08
	AP	112,08	111,35	83,97	84,26	7,40	7,89	1,32	1,34
	AE	58,07	73,82	74,78	78,25	11,69	13,18	0,99	1,09
	FM	0,001	0,03	62,49	94,23	20,81	46,97	0,75	2,33
	PROL	0,004	0,03	46,39	83,21	6,26	23,04	0,54	1,28
	PG	564135	683578	78,63	84,98	20,06	40,99	1,11	1,37
Ano	Característica			h ² (%)		CV _g (%)		CV _g /CV	
		Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
2007 G2	IFMF	0,46	1,88	58,72	77,92	-10204	-118	0,69	1,08
	AP	150,02	145,48	88,25	87,72	8,56	9,25	1,58	1,54
	AE	92,29	62,39	86,27	75,00	14,36	11,98	1,45	1,00
	FM	0,001	0,02	51,16	93,12	18,13	36,85	0,59	2,12
	PROL	0,009	0,02	62,99	73,87	9,32	16,11	0,75	0,97
	PG	468987	388331	72,49	81,86	17,76	32,95	0,94	1,23

Quanto às estimativas de herdabilidade, destacam-se as características altura de plantas, folhas mortas e produção de grãos, principalmente no ambiente sob estresse hídrico. Os dados obtidos no presente estudo confirmam a confiança dos valores fenotípicos dos experimentos de 2006 (86,38%) e 2007 (84,98% G1 e 81,86% G2) como guias para seleção do valor genotípico.

As estimativas de herdabilidade aqui obtidas, de 84,87 e 86,38%, sem e com estresse 2006; de 78,63 e 84,98%, sem e com estresse 2007 (G1); e de 72,49 e 81,86%, sem e com estresse 2007 (G2) são superiores aos obtidos por Ribaut et al. (1997), de 61 a 74% para produção de grãos em experimento sob condições de estresse intermediário e severo estresse, respectivamente. Superiores às obtidas por Edmeades et al. (1996), em estudo de seleção recorrente de progênies S_1 do CIMMYT, 57% no ambiente sem estresse e 43% no ambiente com estresse.

Para as demais características, as estimativas de herdabilidade também aumentaram com o aumento do estresse imposto (Tabela 6). Por exemplo, para o intervalo entre florescimentos, as estimativas foram de 58,72 e 77,92%, sem e com estresse, respectivamente; e para prolificidade, foram de 62,99 e 73,87%, sem e com estresse, respectivamente. Tal aumento da estimativa de herdabilidade no ambiente com estresse em relação ao sem estresse foi relatado por Edmeades et al. (1996). Segundo eles, o intervalo entre florescimentos foi de 60 e 51% sem e com estresse, respectivamente, e a prolificidade, de 45 e 54% sem e com estresse, respectivamente.

Além da herdabilidade, o coeficiente de variação genético (CV_g) e a relação CV_g/CV também são parâmetros utilizados na quantificação da variabilidade genética disponível na população, quando se deseja determinar seu potencial para fins de melhoramento (SANTOS, 1985). O CV_g dá uma ideia sobre a proporcionalidade do ganho em relação à média no caso de seleção, e a relação CV_g/CV quando maior que 1 indica situação favorável à prática de seleção (VENCOVSKY & BARRIGA, 1992). Foi possível detectar aumento significativo do valor do CV_g para todas as características avaliadas do ambiente com estresse em relação

ao ambiente sem estresse. Neste experimento, a relação CV_g/CV para produção de grãos foi superior a 1, indicando a possibilidade de prática da seleção no ambiente com estresse hídrico (Tabela 6).

3.3. Coeficientes de correlações entre caracteres

As estimativas dos coeficientes de correlação genotípica (r_g) e fenotípica (r_f) são apresentadas nas Tabelas 7, 8 e 9.

A partir de simulação bootstrap, foram constatadas estimativas significativas ($P < 0,01$) do coeficiente de correlação genética (r_g) entre produção de grãos (PG) e prolificidade (PROL), no ambiente com estresse, de $r_g = 0,77$ (2006), $r_g = 0,77$ (2007 G1) e $r_g = 0,82$ (2007 G2) (Tabelas 5, 6 e 7). Neste experimento, houve aumento da correlação entre estes caracteres sob a condição de estresse severo, imposição do estresse durante o florescimento. Esta relação também foi detectada por Câmara et al. (2007), Betrán et al. (2003) e Bolaños & Edmeades (1996) e suporta evidências de correlações positivas e elevadas entre estas características sob condição de estresse hídrico.

Câmara et al. (2007) obtiveram correlação genética entre produção e prolificidade de 0,88 e 0,79 para duas populações segregantes, respectivamente. Betrán et al. (2003) obtiveram correlação entre produção e prolificidade (0,76). Bolaños & Edmeades (1996) obtiveram correlação genética entre PG e PROL de $r_g = 0,82$ em ensaios envolvendo 3509 linhagens endogâmicas avaliadas sob estresse intermediário. E, sob condição de estresse severo, esta correlação foi de $r_g = 0,90$.

Tabela 7. Correlação genotípica (acima da diagonal) e fenotípica (abaixo da diagonal), nos ambientes sem e com estresse, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG), no ano de 2006

Sem Estresse						
	IFMF	AP	AE	PG	FM	PROL
IFMF	-	0,25	0,22	0,33	0,47	0,44
AP	0,17	-	0,91	0,76	-0,88	0,29
AE	0,17	0,83**	-	0,81	-0,54	0,48
PG	0,18	0,56**	0,58**	-	-0,71	0,53
FM	0,09	-0,25*	-0,17	-0,24*	-	-0,10
PROL	0,19	0,18	0,28**	0,52**	-0,02	-
Com Estresse						
	IFMF	AP	AE	PG	FM	PROL
IFMF	-	-0,31	-0,03	0,39	-0,05	0,59
AP	-0,08	-	0,89	0,50	0,02	0,19
AE	0,03	0,77**	-	0,44	0,03	0,16
PG	0,20	0,45**	0,36**	-	-0,45	0,77
FM	-0,05	0,02	0,02	-0,34**	-	-0,46
PROL	0,29**	0,16	0,10	0,72**	-0,33**	-

**, *: significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t, para testar as correlações fenotípicas e simulação bootstrap, para as correlações genéticas

Tabela 8. Correlação genotípica (acima da diagonal) e fenotípica (abaixo da diagonal), nos ambientes sem estresse e com estresse, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG), no ano de 2007 G1

Sem Estresse						
	IFMF	AP	AE	PG	FM	PROL
IFMF	-	-0,02	0,02	0,01	-0,31	0,29
AP	0,003	-	0,86	0,56	0,51*	-0,12
AE	0,05	0,79**	-	0,56	0,61**	-0,11
PG	0,05	0,51**	0,47**	-	0,28**	0,18
FM	-0,29	0,32**	0,38**	0,11	-	0,01
PROL	0,21*	-0,04	-0,02	0,24*	-0,12	-
Com Estresse						
	IFMF	AP	AE	PG	FM	PROL
IFMF	-	0,14	0,18	0,33	-0,15	0,41
AP	0,12	-	0,91	0,57	-0,18	0,20
AE	0,16	0,83**	-	0,55	-0,13	0,21
PG	0,32**	0,52**	0,51**	-	-0,65	0,77
FM	-0,16	-0,16	-0,19	-0,62**	-	-0,84
PROL	0,39**	0,19*	0,19*	0,72**	-0,79**	-

**, *: significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t, para testar as correlações fenotípicas e simulação bootstrap, para as correlações genéticas

Tabela 9. Correlação genotípica (acima da diagonal) e fenotípica (abaixo da diagonal), nos ambientes com estresse, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG), no ano de 2007 G2

Sem Estresse						
	IFMF	AP	AE	PG	FM	PROL
IFMF	-	0,04	0,23	0,09	0,08**	0,08**
AP	0,02	-	0,84	0,45	0,16**	0,19
AE	0,16	0,78**	-	0,45	0,33**	0,12
PG	0,13	0,40**	0,40**	-	0,09**	0,17
FM	-0,09	0,09	0,18	-0,10	-	-0,46
PROL	0,15	0,15	0,13	0,24*	-0,42**	-
Com Estresse						
	IFMF	AP	AE	PG	FM	PROL
IFMF	-	-0,03	0,09	0,23	0,09	0,33
AP	0,01	-	0,78	0,36	-0,10	0,13
AE	0,10	0,73**	-	0,16	0,11	0,06
PG	0,27**	0,37**	0,18	-	-0,62	0,82
FM	0,04	-0,12	0,05	-0,58**	-	-0,61
PROL	0,35**	0,15	0,10	0,76**	-0,56**	-

**, *: significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t, para testar as correlações fenotípicas e simulação bootstrap, para as correlações genéticas

As estimativas de correlação genética entre IFMF e PG foram baixas e na mesma direção: $r = 0,39$ e $r = 0,33$ para o Grupo 1, 2006 e 2007; e $r = 0,23$ para o Grupo 2 no ambiente com estresse. Estes resultados não estão bons, eles estão contrários em relação aos encontrados na literatura. Bolaños & Edmeades (1996) obtiveram uma correlação moderada e negativa entre IFMF e PG $r = -0,60$; Betrán et al. (2003) obtiveram $r = -0,45$; Cámara et al. (2007) obtiveram $r = -0,31$; e Ribaut et al. (1997) encontraram correlação de $r = -0,39$ sob condição de severo estresse.

Bolaños & Edmeades (1996) sugerem que uma correlação moderada e negativa entre IFMF e PG seja inerente à cultura do milho. O fato de a correlação ser negativa indica que quanto maior for o intervalo entre florescimentos, menor será a produção de grãos. O atraso no florescimento feminino tem estado associado com a esterilidade (HERRERO & JOHNSON, 1981) e parece refletir na redução da distribuição de fotoassimilados para o desenvolvimento de espigas durante o florescimento. De fato, a seleção para o melhor desempenho de progênies sob as condições de estresse em populações de milho tropical tem sido acompanhada pela redução do intervalo entre os florescimentos masculino e feminino (MONNEVEUX et al., 2006).

Os resultados aqui encontrados para correlações entre produção de grãos e folhas mortas, em ambos os anos de plantio, no ambiente com estresse hídrico, apresentam correlações de magnitude mediana e negativas: $-0,45$; $-0,65$ e $-0,62$. Betrán et al. (2003), em seus estudos, obtiveram estimativas da correlação entre produção de grãos e senescência foliar de $-0,26$. Estes autores argumentam que um atraso na senescência foliar se reflete na maior habilidade de o vegetal captar energia solar por maior período durante o enchimento de grãos.

As correlações aqui observadas entre os caracteres altura de planta e produção de grãos foram de $r = 0,50$, $r = 0,57$ e $r = 0,36$ para os experimentos de 2006, 2007 G1 e G2, respectivamente. Bolaños & Edmeades (1996) obtiveram associação $r = 0,28$ entre altura de plantas e

produção de grãos, sob condições de estresse. Segundo estes autores, a seleção para o melhor desempenho sob condições de seca na população Tuxpeño Sequía resultou em uma leve redução no tamanho do genótipo tolerante. Esta relação pode sinalizar a condição de estresse. Eles argumentam que o fato de o milho mais tolerante à seca apresentar um porte baixo seja decorrência de uma estratégia de sobrevivência do vegetal em reter as reservas de fotoassimilados para o enchimento de grãos, sendo, posteriormente, os assimilados aproveitados para desenvolvimento da planta. Betrán et al. (2003) relataram $r = 0,49$ entre PG e AP, sob condição de estresse para linhagens endogâmicas.

O caráter altura de espiga foi positivamente correlacionado com a produção de grãos: $r = 0,44$, $r = 0,55$ e $r = 0,16$ para os experimentos de 2006, 2007 G1 e G2, respectivamente, embora seja uma correlação moderada. Betrán et al. (2003) obtiveram resultado de $r = 0,48$.

Em relação às estimativas de correlação genética entre caracteres aqui obtidos, espera-se obter ganhos por meio da seleção indireta, com base na resposta correlacionada com a produção de grãos por meio das características prolificidade, percentual de folhas mortas, altura de planta e altura de espiga.

O melhoramento para produção de grãos sob estresse hídrico está associado à maior número de espigas, número de grãos por planta, manutenção de maior área fotossinteticamente ativa da planta sob condições de estresse, através de um atraso na senescência foliar e aumento da taxa de clorofila na planta. Portanto, espera-se que correlações, de mediana a alta, sejam encontradas entre o caráter produção de grãos e as características secundárias (BOLAÑOS & EDMEADES, 1996).

3.4. Interação Genótipo x Ambiente

Neste experimento, para a amplitude dos quadrados médios dos resíduos das análises individuais para cada característica, foram verificados valores menores que 7 para a relação entre o maior e o menor

quadrado médio do resíduo (informação não mostrada), o que demonstra homogeneidade entre as variâncias residuais, podendo ser realizadas as análises conjuntas para os ambientes com e sem estresse hídrico.

As análises de variância conjunta revelaram a existência de significância para a variância genética entre as progênies, entre os ambientes, irrigado e o não irrigado, e significância para interação G x A ($P < 0,01$) (Tabelas 10, 11, 12).

A análise de variância individual é útil, pois evidencia a existência de variabilidade genética entre as médias das famílias testadas em cada ambiente, bem como o conhecimento da magnitude dos parâmetros genéticos nestes ambientes. Entretanto, a avaliação da interação genótipo x ambiente torna-se de grande importância, considerando que o melhor genótipo em um ambiente pode não o ser em outro. Este fato influencia o ganho de seleção e dificulta a recomendação de cultivares em ampla região. Portanto, cabe ao melhorista avaliar sua magnitude e significância e fornecer subsídios que possibilitem adotar procedimentos para sua minimização e, ou, seu aproveitamento (CRUZ et al., 2004).

Foram detectadas interações significativas entre genótipo x ambiente para produção e prolificidade (Sem x Com, G1, 2006; Tabela 8). Do experimento instalado no ano de 2007, houve interação significativa para todos os caracteres, exceto para altura de espigas nas progênies dos Grupos 1 e 2 (Tabelas 11 e 12). Das análises conjuntas temporais, houve interações significativas para todos os caracteres, exceto para altura de plantas e altura de espigas, no ambiente sem estresse e folhas mortas no ambiente com estresse (Tabelas 13 e 14).

Tabela 10. Análise de variância conjunta entre os ambientes sem e com estresse hídrico, no ano de 2006, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG)

FV	GL	QM					
		IFMF	AP	AE	FM	PROL	PG
Blocos/Amb	4	1,87	1341,33	870,42	0,08	0,25	1893754
Genótipos (G)	99	2,00**	537,54**	314,85**	0,04 ^{ns}	0,16**	5267204**
Ambientes (A)	1	8,64 ^{ns}	12881*	145,04 ^{ns}	7,64**	12,73**	442670614**
G X A	99	0,91 ^{ns}	68,71 ^{ns}	56,83 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,07**	1101729**
Resíduo	396	0,98	101,47	69,07	0,03	0,04	461705
Média		-0,57	134	66,96	0,30	0,95	2961
C.V. (%)		-173,33	7,52	12,41	61,24	20,87	22,94
h ² (%)		51,29	81,12	78,06	11,77	75,28	91,23
σ_g^2		0,17	72,68	40,96	0,00	0,02	800916
σ_{ga}^2		-0,01	-5,46	-2,04	0,00	0,00	106670
CVg (%)		-72,61	6,36	9,56	9,13	14,87	30,22
CVg/CV		0,42	0,85	0,77	0,15	0,71	1,32

** e * efeitos significativos pelo teste F a 1% e 5% respectivamente, ns = não significativo

Tabela 11. Análise de variância conjunta entre os ambientes sem e com estresse hídrico, no ano de 2007, Grupo 1, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG)

FV	GL	QM					
		IFMF	AP	AE	FM	PROL	PG
Blocos/Amb	4	29,25	1207,42	369,79	0,03	0,27	15171845
Genótipos (G)	99	11,79**	717,04**	447,94**	0,06**	0,09**	3880307**
Ambientes (A)	1	235,63*	13020,04*	0,17 ^{ns}	9,35**	7,81**	446786995**
G X A	99	2,99**	123,75**	82,15 ^{ns}	0,05**	0,05**	1074637**
Resíduo	396	1,97	79,09	70,76	0,004	0,16	606677
Média		-0,78	138,36	65,18	0,26	0,87	2880
C.V. (%)		-180,67	6,43	12,90	25,24	14,62	27,04
h ² (%)		83,31	88,97	84,20	92,80	82,41	84,36
σ^2_{μ}		1,64	106,32	62,86	0,009	0,01	545605
$\sigma^2_{\mu\alpha}$		0,17	7,44	1,89	0,007	0,005	77993
CVg (%)		-164,77	7,45	12,16	36,98	12,49	25,65
CVg/CV		0,91	1,16	0,94	1,47	0,85	0,95

** e * efeitos significativos pelo teste F a 1% e 5% respectivamente, ns = não significativo

Tabela 12. Análise de variância conjunta entre os ambientes sem e com estresse hídrico, no ano de 2007, Grupo 2, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG)

FV	GL	QM					
		IFMF	AP	AE	FM	PROL	PG
Blocos/Amb	4	11,81	1876,62	1128,83	0,02	0,07	5868167
Genótipos (G)	99	7,44**	921,46**	512,77**	0,03**	0,07**	2979947**
Ambientes (A)	1	199,53**	24193,5**	135,38 ^{ns}	7,97**	8,56**	578748093**
G X A	99	2,14**	106,38*	75,11 ^{ns}	0,03**	0,03**	705551*
Resíduo	396	1,33	79,07	62,71	0,00	0,02	545398
Média		-0,58	136,7	66,41	0,25	0,89	2873,01
C.V. (%)		-197,59	6,50	11,93	22,87	14,50	25,70
h ² (%)		82,15	91,42	87,77	90,79	78,00	81,69
σ_g^2		1,02	140,40	75,00	0,00	0,01	405758
σ_{ga}^2		0,14	4,55	2,07	0,00	0,00	26692
CVg (%)		-173,05	8,67	13,04	29,31	11,15	22,17
CVg/CV		0,88	1,33	1,09	1,28	0,77	0,86

** e * efeitos significativos pelo teste F a 1% e 5% respectivamente, ns = não significativo

Tabela 13. Análise de variância conjunta entre os ambientes sem estresse hídrico, nos anos de 2006 e 2007, Progenies do Grupo 1, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL), número de espigas (NE) e produção de grãos (PG)

FV	GL	QM					
		IFMF	AP	AE	FM	PROL	PG
Blocos/Amb	4	1,45	1903,33	855,25	0,07	0,24	12193561
Genótipos (G)	99	3,55**	581,35**	320,97**	0,00**	0,09**	5062401**
Ambientes (A)	1	13,5 ^{ns}	2882,04 ^{ns}	759,38 ^{ns}	0,39*	1,75*	894076 ^{ns}
G X A	99	1,76**	127,24 ^{ns}	85,55 ^{ns}	0,00**	0,04**	1076497**
Resíduo	396	0,92	109,77	77,77	0,00	0,03	639343
Média		-0,3	140,83	66,33	0,16	1,04	3781,69
C.V. (%)		-319,09	7,44	13,29	22,21	16,36	21,14
h ² (%)		74,18	81,12	75,77	49,86	67,74	87,37
σ_g^2		0,44	78,59	40,53	0,00	0,01	737176
σ_{ga}^2		0,14	2,91	1,30	0,00	0,00	72858
CVg (%)		-220,79	6,29	9,60	9,04	9,68	22,70
CVg/CV		0,69	0,85	0,72	0,41	0,59	1,07

** e * efeitos significativos pelo teste F a 1% e 5% respectivamente, ns = não significativo

Tabela 14. Análise de variância conjunta entre os ambientes com estresse hídrico, nos anos de 2006 e 2007, Progenies do Grupo 1, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL), número de espigas (NE) e produção de grãos (PG)

FV	GL	QM					
		IFMF	AP	AE	FM	PROL	PG
Blocos/Amb	4	29,67	645,42	384,96	0,04	0,28	4872038
Genótipos (G)	99	7,65**	625,82**	414,14**	0,16**	0,19**	4487950**
Ambientes (A)	1	76,33 ^{ns}	2816,67 ^{ns}	253,50 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,30 ^{ns}	1088169 ^{ns}
G X A	99	4,73**	112,63**	81,11*	0,02 ^{ns}	0,04**	697030**
Resíduo	396	2,03	70,79	62,06	0,02	0,03	429039
Média		-1,05	131,53	65,82	0,40	0,78	2059,82
C.V. (%)		-136,08	6,39	11,97	36,04	20,85	31,80
h ² (%)		73,49	88,69	85,01	86,92	86,46	90,44
σ_g^2		0,94	92,50	58,68	0,02	0,03	676485
σ_{ga}^2		0,45	6,97	3,17	-0,00	0,00	44665
CVg (%)		-92,51	7,31	11,64	37,92	21,51	39,93
CVg/CV		0,68	1,14	0,97	1,05	1,03	1,26

**e*efeitos significativos pelo teste F a 1% e 5% respectivamente, ns = não significativo

As estimativas de herdabilidade para maioria dos os caracteres foram de elevada magnitude, isto pelo fato de as variâncias genéticas terem sido altas. Para o caráter produção de grãos, as estimativas de herdabilidade no sentido amplo de médias de progênies $F_{2:3}$ ($\hat{h}_p^2$) variaram entre 81,69 e 91,23% para os anos de 2006 e 2007 (G1 e G2). Para os caracteres prolificidade e folhas mortas, as estimativas de $\hat{h}_p^2$ variaram de 67,74 a 86,46% (PROL) e de 11,44 a 92,80% (FM).

Aliada às estimativas de herdabilidade de alta magnitude, que podem ser indicativo de que pouco da variação do caráter é devido ao ambiente ou erro experimental (FLINT-GARCIA et al., 2005), pode-se dizer que grande parte da interação G x A resultou de alterações na ordem de mérito dos genótipos, de um ambiente para outro. Observa-se que a variância genotípica (σ_g^2) foi de magnitude de 7 a 15 vezes mais elevada do que o componente de variância da interação (σ_{ga}^2) constatado por $\sigma_g^2 = 800,92$ e $\sigma_{ga}^2 = 106,67$ (Tabelas 10 a 14). Isto indica que a interação G x A não absorveu muito do desempenho das progênies, embora os fenótipos tenham sido influenciados pelas condições ambientais. Por este motivo, é possível, portanto, selecionar os genótipos com base nas médias das progênies.

Das análises de variâncias conjuntas temporais, anos 2006 e 2007, no ambiente sem estresse, as características IFMF, FM, PROL e PG foram altamente significativas ($p < 0,01$), e no ambiente com estresse, todas as características foram significativas para o Grupo 1, exceto FM (Tabelas 13 e 14). As estimativas aqui obtidas para a condição de estresse hídrico estão em concordância com as relatadas na literatura: Chapman e Edmeades (1999) obtiveram médias de 2,35 ton/ha para produção de grãos de milho tropical sob condição de estresse hídrico e Monneveux et al. (2006) obtiveram médias de 1,2 a 2,65 ton/ha, para duas populações de milho tropical, provenientes do CIMMYT, em experimento para seleção em ambiente de estresse hídrico.

A relação CV_g/CV no ambiente com estresse foi superior a 1 para a maioria dos caracteres. Estas relações indicam alterações no

comportamento das progênies nas duas épocas de plantio, nos ambientes de seca, e a possibilidade de obter ganhos com sua seleção.

Frova et al. (1999), utilizando linhagens endogâmicas recombinantes avaliadas em ambientes, com e sem estresse hídrico, com duas repetições por ambiente, reportaram estimativas de herdabilidade no sentido amplo para produção de grãos variando de 86 a 94%. Câmara et al. (2007) obtiveram estimativas de herdabilidade de 86,79 e 94,84% (PG), 73,52% (PROL) e 94,12% (FM), em duas populações F_{2:3} milho tropical, sob estresse hídrico.

As estimativas de herdabilidade aqui obtidas foram elevadas, portanto, sob essa perspectiva é possível obter ganhos com a seleção para produção de grãos nos ambientes sem e com estresse. Smalley et al. (2004) citam que as estimativas de h^2 auxiliam no programa de melhoramento para determinar a alocação de recursos necessários para selecionar um caráter de interesse e adquirir máximo ganho genético utilizando menos tempo e recursos.

Byrne et al. (1995) avaliaram ciclos de seleção de uma das populações do CIMMYT (Tuxpeño Sequía) em múltiplos ambientes, incluindo o efeito de seca, e observaram que enquanto o efeito de genótipos e o efeito de ambientes eram significativos, o efeito da interação genótipo x ambiente também era significativo. Observou-se que se a resposta total do genótipo ao longo dos ambientes for considerada uma combinação dos efeitos de genótipo e dos efeitos da interação G x A, o acúmulo da interação G x A explica o aumento da variância de genótipos, relação esta comumente encontrada em experimentos de múltiplos ambientes.

A interação entre genótipos e ambientes é considerada um dos principais e persistentes problemas no melhoramento de plantas. Para Van Eeuwijk (2003), entre os melhoristas de plantas é mais fácil encontrar concordâncias nas consequências da interação G x A que o entendimento do seu mecanismo. Uma das maiores consequências da interação G x A pode ser constatada na avaliação de um conjunto de genótipos em um particular conjunto de ambientes. Nesse caso, o desempenho dos

genótipos é, na melhor das hipóteses, um preditivo parcial do valor dos mesmos genótipos em outras condições ambientais. Este fato influencia os ganhos com a seleção e dificulta a recomendação de cultivares com ampla adaptação. A seleção indireta para produção de grãos com base em caracteres pouco influenciados pelo ambiente e que apresentem correlação alta e significativa com PG poderia proporcionar maiores ganhos que a seleção direta para o caráter.

3.5. Natureza da Interação G x A

Neste trabalho, a interação genótipos x ambientes foi decomposta nas partes simples e complexa, utilizando a expressão de Cruz e Castoldi (1991).

No presente experimento, houve predominância da interação complexa (Tabelas 15, 16, 17). A predominância da interação complexa é indicativo da inversão do comportamento dos tratamentos frente às variações de um ambiente para outro ou entre os anos.

Edmeades et al. (1995) ressaltam que a similaridade entre ambientes e seus efeitos na expressão do potencial genético ainda não estão muito claros. Estes autores questionam se a condução de experimentos, em ambientes de estresse hídrico, causa padrões similares de discriminação entre genótipos adaptados e não adaptados.

Tabela 15. Análise de dissimilaridade entre os ambientes sem e com estresse hídrico, no ano de 2006 e 2007, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), percentual de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG)

Ano	Características	r	QMGA	Cruz e Castoldi % Complexa
2006 Grupo1	PROL	0,3782	0,07**	78,4751
	PG	0,6635	1101729**	55,6182
2007 Grupo1	IFMF	0,6684	2,99**	42,0657
	AP	0,7057	123,75**	54,2360
	FM	0,2988	0,05**	25,5856
	PROL	0,4014	0,05**	52,2411
	PG	0,5664	1074637**	65,8056

r = correlação de Pearson; QMGA = quadrado médio da interação genótipo x ambiente.

Tabela 16. Análise de dissimilaridade entre os ambientes sem e com estresse hídrico, no ano de 2007, Progenies do Grupo 2, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG)

Características	r	QMGA	Cruz e Castoldi % Complexa
IFMF	0,6477	2,14**	39,9189
AP	0,7935	106,38*	45,3208
FM	0,3517	0,03**	29,0366
PROL	0,4596	0,03**	70,7411
PG	0,6308	705551*	57,3047

r = correlação de Pearson; QMGA = quadrado médio da interação genótipo x ambiente.

Tabela 17. Análise de dissimilaridade entre os ambientes, nos anos de 2006 e 2007, Progenies do Grupo 1, para as características intervalo entre florescimento masculino e feminino (IFMF), altura da planta (AP), altura da espiga (AE), porcentagem de folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção de grãos (PG)

Tratamento	Características	r	QMGA	Cruz e Castoldi % Complexa
Sem Estresse S2006xS2007	IFMF	0,3937	1,76**	60,7722
	FM	0,0156	0,00**	76,0053
	PROL	0,4758	0,04**	47,2736
	PG	0,6644	1076497**	54,1747
Com Estresse C2006xC2007	IFMF	0,3479	4,73**	46,6809
	AP	0,7032	112,63**	52,3924
	AE	0,6899	81,11*	51,3907
	PROL	0,6819	0,04**	56,0109
	PG	0,7313	697030**	51,7906

r = correlação de Pearson; QMGA = quadrado médio da interação genótipo x ambiente.

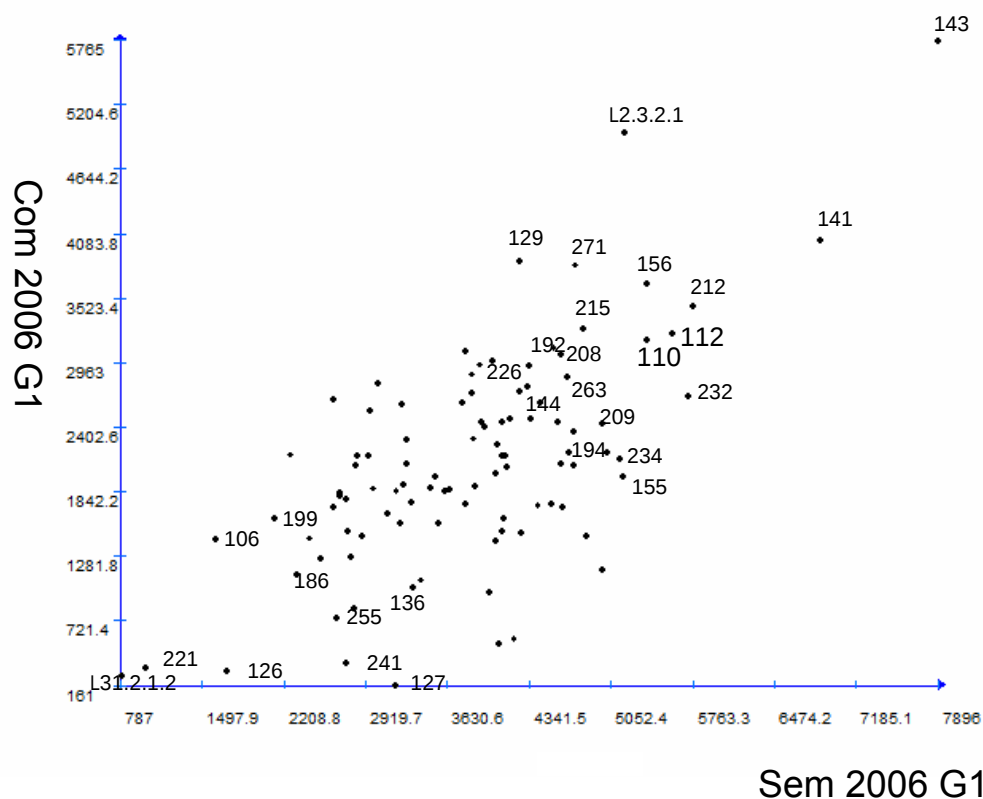


Figura 1. Dispersão gráfica dos genótipos, entre os ambiente com e sem estresse, progênies do Grupo 1, ano de plantio 2006, para a característica produção de grãos.

É válido ressaltar a superioridade da família 143 em relação às demais progênies e aos genótipos parentais que apresentaram médias inferiores. Esta família pode ser considerada um segregante transgressivo (Figuras 1, 2, 4 e 5).

De modo geral, para todas as interações visualizadas pelas representações gráficas, houve inversão no desempenho dos genótipos parentais. A linhagem tolerante L31.2.1.2 demonstra baixa produção em ambos os ambientes com e sem estresse, e a linhagem sensível L2.3.2.1 apresentou alta produção nos dois ambientes. Esta relação é perceptível apenas para as progênies do grupo 1 (Figuras 1, 2, 4 e 5).

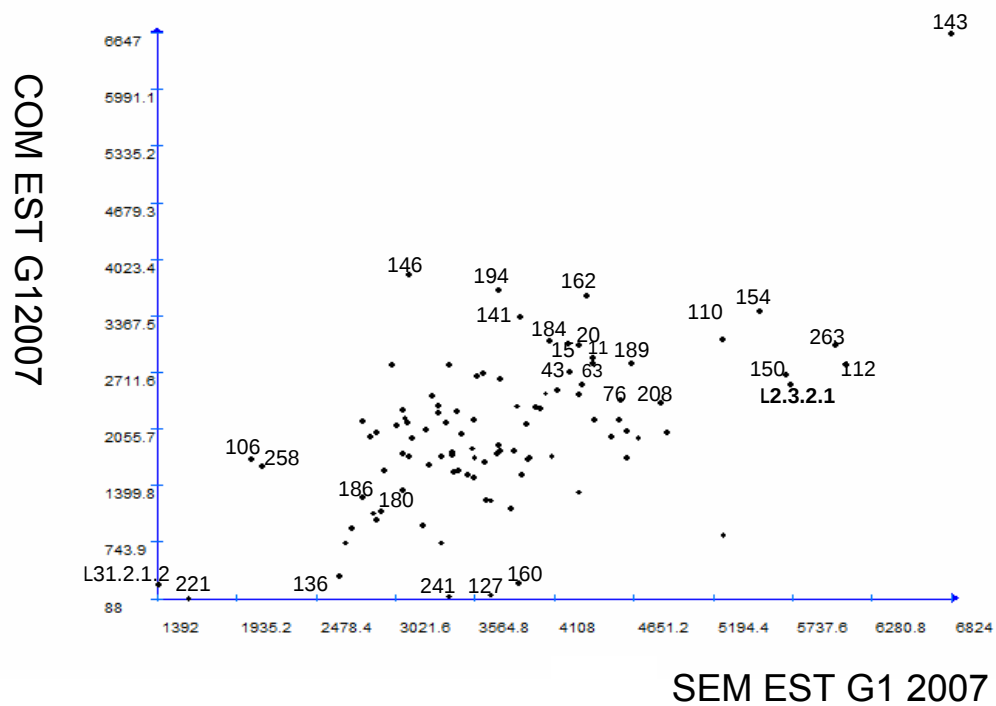


Figura 2. Dispersão gráfica dos genótipos entre os ambiente com e sem estresse, progênies do Grupo 1, ano de plantio 2007, para a característica produção de grãos.

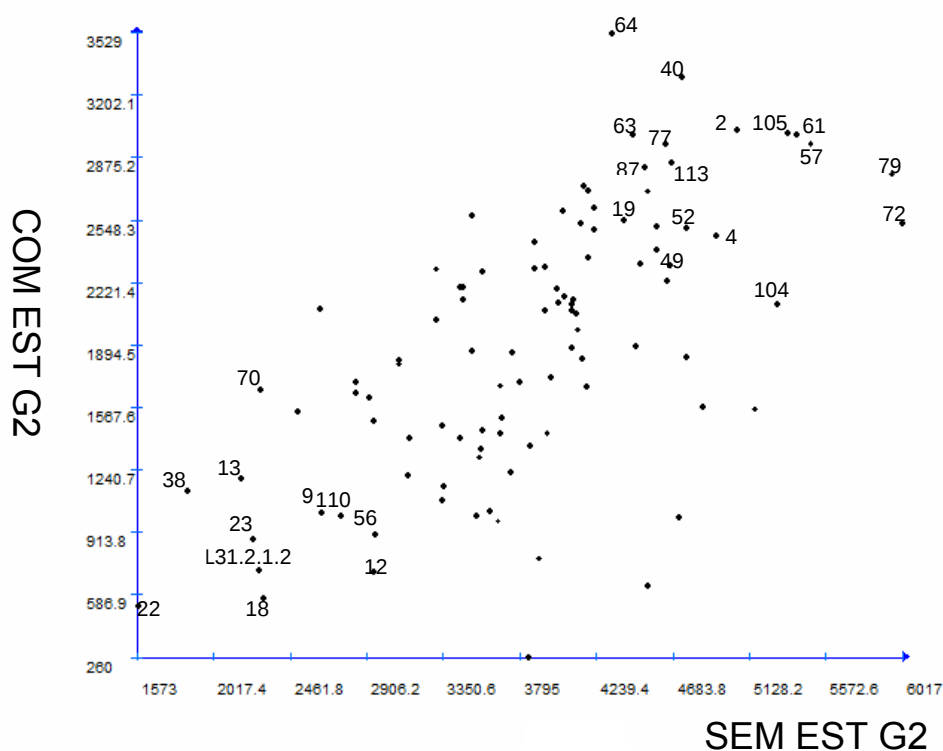


Figura 3. Dispersão gráfica dos genótipos entre os ambiente com e sem estresse, progênies do Grupo 2, ano de plantio 2007, para a característica produção de grãos.

Dentre as progênies do grupo 2, não houve segregantes transgressivos. Entretanto, a linhagem tolerante continua apresentando baixo desempenho em ambos os ambientes.

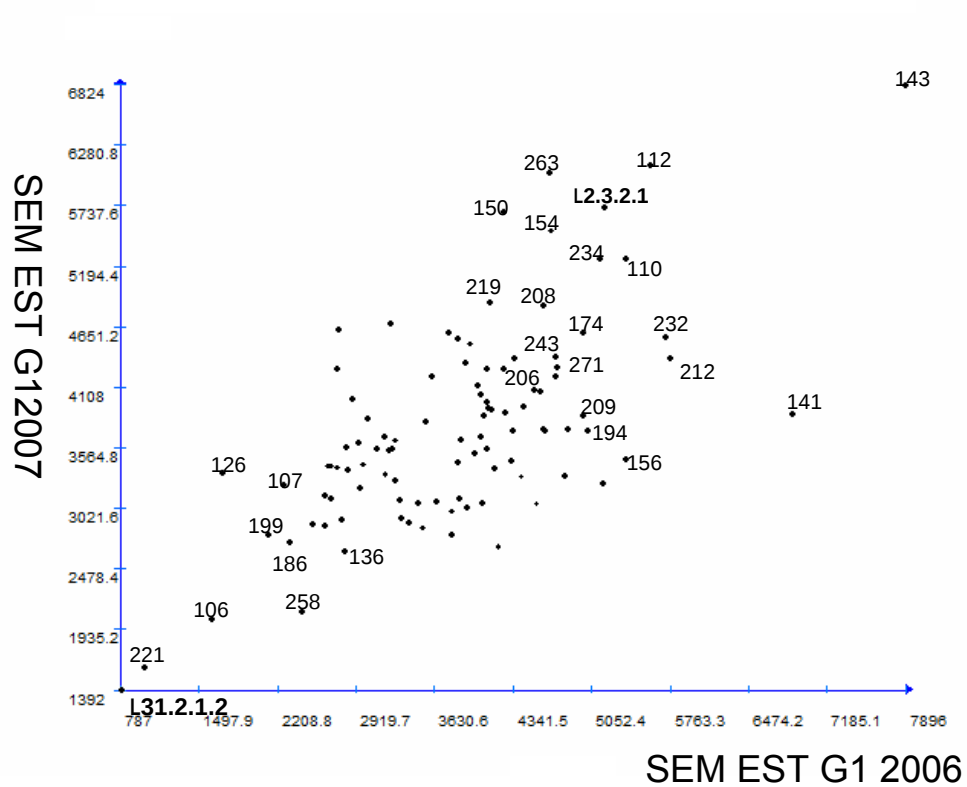


Figura 4. Dispersão gráfica dos genótipos no ambiente sem estresse, progênies do Grupo 1, entre os anos 2006 e 2007, para a característica produção de grãos.

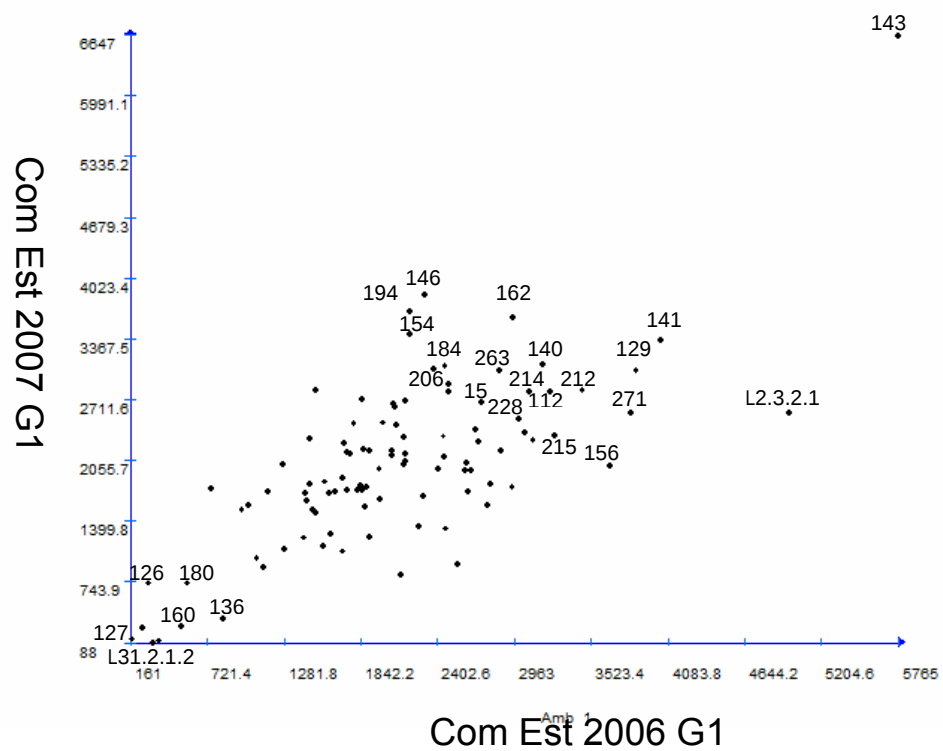


Figura 5. Dispersão gráfica dos genótipos no ambiente com estresse, progênies do Grupo 1, entre os anos 2006 e 2007, para a característica produção de grãos.

3.6. Ganhos por seleção

Na Tabela 16, são apresentadas as estimativas de herdabilidade e ganhos por seleção direta para o caráter produção de grãos, nos pares de ambientes, nos anos de 2006 e 2007.

Tabela 18. Estimativas de herdabilidade, ganho por seleção direta e percentual de ganho entre os ambientes

Ambiente	Produção					
	H ² (%)		GS		GS%	
	1	2	1	2	1	2
S1C1 2006	85,87	86,39	1262	1142	33,05	54,34
S1C1 2007	71,40	80,39	932	985	24,89	48,82
S2C2 2007	65,10	78,49	755	742	19,58	39,23
S1S1	84,87	70,40	1262	931	33,05	24,89
C1C1	86,39	80,39	1142	984	54,34	48,82

S1C1 2006 = genótipos do Grupo 1 ano 2006; S1C1 2007 = genótipos do Grupo 1 ano 2007; S2C2 2007 = genótipos do Grupo 2 ano 2007; S1S1 = genótipos do Grupo 1 anos 2006 e 2007, no ambiente sem estresse; e C1C1 = genótipos do Grupo 1 anos 2006 e 2007, no ambiente com estresse.

A intensidade de seleção entre progênieis foi de 20%, ou seja, 20 progênieis foram selecionadas em cada local. Deste modo, espera-se evitar a redução drástica da variabilidade genética em curto prazo, aumentando as possibilidades de seleção em médio e longo prazo.

As estimativas de herdabilidade foram elevadas para ambos os ambientes sem e com estresse bem como o percentual de ganho (Tabela 18). Observa-se que o percentual de ganho no ambiente com estresse foi mais elevado em relação ao ambiente sem estresse, quando foram consideradas as análises conjuntas entre os ambientes sem e com estresse nos anos de 2006 e 2007.

O CIMMYT, desde 1975, tem realizado experimentos de seleção para tolerância à seca em milho tropical, baseada em vários caracteres altamente correlacionados com a produção de grãos (BOLAÑOS & EDMEADES, 1993). Dentre estes caracteres, foi observada redução no intervalo entre florescimentos masculino e feminino, aumento no número de espigas por plantas sob condições de seca, bem como e um aumento

na produção tanto em experimentos de seca quando sob irrigação (CHAPMAN et al., 1997).

Quando da análise conjunta para anos, os percentuais de herdabilidade no ano de 2006 foram mais elevados em relação aos do ano de 2007, bem como os percentuais dos ganhos com a seleção. Entretanto, os ganhos com a seleção no ambiente com estresse hídrico foram mais elevados em relação ao ambiente sem estresse, principalmente no ano de 2006 (Tabela 18).

Edmeades et al. (1999) obtiveram ganhos com a seleção direta para PG, nas populações La Posta Sequía, Pool 26 Sequía e Tuxpeño Sequía, do CIMMYT, de 12,4, 12,7 e 3,8%, respectivamente, no ambiente com estresse hídrico. No ambiente sem estresse hídrico, os percentuais de ganho foram de 0,6, 2,3 e 0,5%, respectivamente. Os resultados aqui obtidos corroboram os dados de Edmeades et al. (1999), cujos percentuais de ganho no ambiente de seca foram maiores em relação aos obtidos no ambiente irrigado.

Nestes experimentos, os maiores ganhos com a seleção indireta para produção de grãos são provenientes das características altura de plantas e prolificidade (Tabela 19).

Tabela 19. Ganhos indiretos com a seleção para produção de grãos, em milho, com base nos caracteres auxiliares

Característica auxiliar	SE G ₁ 2006	CE G ₁ 2006	SE G ₁ 2007	CE G ₁ 2007	SE G ₂ 2007	CE G ₂ 2007
IFMF	8,02	11,49	0,24	16,78	1,79	9,32
AP	20,84	25,67	14,35	30,08	10,76	15,72
AE	22,13	21,62	13,55	28,15	10,47	6,24
PROL	15,03	38,19	3,51	40,35	3,45	32,70

SE- sem estresse, CE- com estresse, G₁- progênies do grupo 1, G₂- progênies do grupo 2.

Monneveux et al. (2006) obtiveram ganhos com a seleção para produção de grãos em experimentos para resposta correlacionada à seleção recorrente em duas populações de milho do CIMMYT. Para tolerância à seca, com base na característica prolificidade, os ganhos foram de 5,7 e 1,3%; e os ganhos com a seleção direta para PG, foram de 14,3 e 4,0%, para as populações DTP1 e DTP2, respectivamente. Estes autores consideraram que os ganhos por eles obtidos foram significativos sob as condições de seca, estando a produção de grãos associada ao aumento da prolificidade, do número de grãos por espiga e à redução no intervalo entre florescimentos. Foi observado um decréscimo na altura de planta, altura do pendão, um aumento no peso de espigas e aumento do índice de coleta da população DTP1, na condição de seca. Este relato é consistente com os resultados obtidos por Bolaños & Edmeades (1993) e Chapman e Edmeades (1999). Nos experimentos aqui relatados, os percentuais de ganhos estão em concordância ou superiores aos da literatura.

Os maiores percentuais de ganho para PG, no ambiente de seca são aqueles realizados com base na média e na estatística P_i (Tabelas 20 e 21). A estatística P_i é dada pela distância apresentada por uma determinada família em relação à família de desempenho máximo para cada ambiente. Este critério de avaliação é vantajoso em relação à média geral das famílias, por permitir avaliar simultaneamente a estabilidade, a adaptabilidade e a capacidade produtiva das famílias sob seleção.

Tabela 20. Percentual de ganho na produção de grãos de milho, nos vários ambientes para as progênies do Grupo 1

Ambiente de Ganho	Ambiente de Seleção	GS (%) ano 2006	GS (%) ano 2007
Sem Estresse	Sem Estresse	20,15	16,40
Sem Estresse	Com Estresse	18,44	12,72
Com Estresse	Sem Estresse	28,69	27,64
Com Estresse	Com Estresse	30,79	29,46
Média	Sem Estresse	30,98	19,58
Média	Com Estresse	47,71	46,86
Pi	Sem Estresse	30,50	19,33
Pi	Com Estresse	48,50	47,22

Tabela 21. Percentual de ganho na produção de grãos de milho, nos ambientes sem e com estresse progênies do Grupo 2

Seleção	Ganho	GS (%)
Sem Estresse	Com Estresse	22,93
Com Estresse	Sem Estresse	14,12
Média	Sem Estresse	17,96
Média	Com Estresse	36,24
Pi	Sem Estresse	18,17
Pi	Com Estresse	35,58

Os genótipos selecionados, por apresentarem maiores ganhos com produção de grãos provenientes das análises conjuntas, estão listados na Tabela 22.

Tabela 22. Genótipos selecionados por apresentarem maiores ganhos com produção de grãos. S1C1 2006 = genótipos do Grupo 1 ano 2006; S1C1 2007 = genótipos do Grupo 1 ano 2007; S2C2 2007 = genótipos do Grupo 2 ano 2007; S1S1 = genótipos do Grupo 1, anos 2006 e 2007, no ambiente sem estresse; e C1C1 = genótipos do Grupo 1, anos 2006 e 2007, no ambiente com estresse

S1C1 2006	S1C1 2007	S2C2 2007	S1S1	C1C1
143	143	79	143	143
141	154	72	112	141
212	263	57	141	129
156	112	61	263	162
112	150	105	110	271
271	110	2	234	212
110	162	40	232	110
232	189	64	154	146
129	194	77	212	112
215	129	113	150	263
192	123	63	174	214
208	206	4	208	194
263	141	104	243	156
209	208	87	271	154
226	212	52	219	215
234	184	47	206	184
194	146	32	156	228
155	232	49	209	206
144	181	31	194	150

É válido ressaltar que tais genótipos selecionados estão em total concordância com os apresentados nas Figuras 1 a 5, como sendo aqueles genótipos que se destacaram por apresentarem bom desempenho tanto no ambiente irrigado como no ambiente de estresse hídrico.

Zaidi et al. (2004), em estudo do desempenho de progênies da população de tolerância à seca do CIMMYT (DTP c9), obtiveram ganhos com a seleção de 89,6% para produção de grãos sob condições de estresse hídrico. O melhoramento para o melhor desempenho desta população sob diferentes ambientes culminou com a redução no intervalo entre os florescimentos masculino e feminino, aumento na prolificidade e decréscimo da senescência foliar.

4.0. CONCLUSÕES

Os experimentos instalados nos anos de 2006 e 2007 permitiram realizar inferências precisas para fins de melhoramento e para o mapeamento de QTLs. Ambos apresentaram variabilidade genética para as características de interesse, predizendo o sucesso de futuros estudos e uma possível utilização em programas de melhoramento.

A interação genótipos x ambientes foi, predominantemente, complexa, mostrando a necessidade da condução e avaliação das populações segregantes nos diferentes anos da cultura do milho, bem como no ambiente com estresse hídrico.

Os maiores ganhos com a seleção indireta para produção de grãos é através da característica prolificidade. Entretanto, os maiores ganhos diretos para produção de grãos, no ambiente de seca são realizados com base no desempenho médio dos genótipos nos dois locais, com e sem estresse, e seleção com base na família de desempenho máximo. A seleção com base na média de cada família é uma estratégia interessante quando há preocupação em garantir o melhoramento de cultivares de adaptabilidade ampla. Já a seleção com base na família de desempenho máximo para cada ambiente oferece vantagens em relação ao valor da média geral da família, por permitir avaliar simultaneamente a estabilidade, a adaptabilidade e a capacidade produtiva das famílias sob seleção.

A tolerância à seca avaliada por meio da produtividade de grãos e características relacionadas apresentou variabilidade significativa para estudos de mapeamento genético.

5.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATLIN, G.N. Breeding for suboptimal environments. p. 245-251. In: Increased Lowland Rice Production in The Mekong Region, edited by Shu Fukai and Jaya Basnayake. ACIAR Proceedings 101. 2001.

BÄNZIGER, M.; EDMEADES, G.O.; BECK, D.; BELLON, M. **Breeding for drought and nitrogen stress tolerance in maize**: from theory to practice. Mexico D.F.: CIMMYT, 2000. 68p.

BETRÁN, F.J.; BECK, D.; BÄNZIGER, M.; EDMEADES, G.O. Secondary traits in parental inbreds and hybrids under stress and non-stress environments in tropical maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 83, p. 51-65, 2003.

BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G.O. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. I. Responses in grain yield, biomass, and radiation utilization. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 31, p. 233-252, 1993.

BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G.O. The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 48, p. 65-80, 1996.

BORRÁS, L.; WESTGATE, M.E.; ASTINI, J.P; ECHARTE, L. Coupling time to silking with plant growth rate in maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 102, p. 73-85, 2007.

BLUM, A. **Plant Breeding for Stress Environments**. CRC Press, Boca Raton, FL. 1988.

BYRNE, P.F.; BOLAÑOS, J.; EDMEADES G.O.; EATON, D.L. Gains from selection under drought versus multilocation testing in related tropical maize populations. **Crop Science**, Madison, v.35, p. 63-69, 1995.

CÂMARA, T.M.M.; BENTO, D.A.V.; ALVES, G.F.; SANTOS, M.F.; MOREIRA, J.U.V.; JÚNIOR SOUZA, C.L. de. Parâmetros genéticos de caracteres relacionados à tolerância à deficiência hídrica em milho tropical. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 595-603, 2007.

CATTIVELLI, L.; RIZZA, F.; BADECK, F-W.; MAZZUCOTELLI, E.; MASTRANGELO, A.M.; FRANCA, E.; MARÈ, C.; TONDELLI, A.; STANCA, A.M. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 105, p. 1-14. 2008.

CHAPMAN, S.C.; CROSSA, J.; EDMEADES, G.O. Genotype by environment effects and selection for drought tolerance in tropical maize. I. Two mode pattern analysis of yield. **Euphytica**, v. 95, p. 1-9, 1997.

CHAPMAN, S.C.; EDMEADES, G.O. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: II. Direct and correlated responses among secondary traits. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1315-1324, 1999.

CLASSEN, M.M.; SHAW, R.H. Water deficit effects on corn. II. Grain components. **Agronomy Journal**, Madison, v. 62, p. 652-655, 1970.

CONAB. 2009. <http://www.conab.gov.br/>

COSTA, J.R.; PINHO, J.L.N.; PARRY, M.M. Produção de matéria seca de cultivares de milho sob diferentes níveis de estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 5, p. 443-450, 2008.

CRUZ, C.D.; CASTOLDI, F. Decomposição da interação cultivar x ambientes em partes simples e complexa. **Ceres**, v. 38, p. 422-430, 1991.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa, Editora UFV, v. 1. 2004.

CRUZ, C.D. 2006. <http://www.ufv.br/dbg/genes/genes.htm>

DUPLESSIS, D.P., DIJKHUIS, F.J. The influence of time lag between pollen shedding and silking on the yield of maize. **South African Journal Agricultural Science**, v. 10, p. 667-674, 1967.

DURÃES, F.O.M.; PAIVA, E.; MAGALHÃES, P.C.; SANTOS, M.X. dos; PEREIRA, J.J.; LABORY, C.R.G. Critérios morfo-fisiológicos utilizados para seleção de genótipos de milho visando à tolerância à seca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 6., 1997, Belém. **Resumos...** Belém: SBFV, 1997. p. 291.

EDMEADES, G.O.; BOLAÑOS, J.; LAFITTE, H.R. Progress of breeding in drought tolerance in maize. In: Wilkinson, D. (Ed.), Proceedings of the 47th Annual Corn and Sorghum Ind. Res. Conf., ASTA, Washington, DC, 1992, pp. 93-111.

EDMEADES, G.O.; CHAPMAN, S.C.; BOLAÑOS, J.; BÄNZIGER, M.; LAFITTE, H.R. Recent evaluations of progress in selection for drought tolerance in tropical maize. Eastern and Southern Africa maize

Conference, Harare, March, 1994. CIMMYT, Mexico D.F., Mexico. pp. 94-100. 1995.

EDMEADES, G.O.; BOLAÑOS, J.; CHAPMAN, S.C. Value of secondary traits in selecting for drought tolerance in tropical maize. In: Edmeades, G.O., Bänziger, M., Mickelson, H.R., Peña-Valdivia, C.B. (Eds), Proceedings of the Symposium on Developing Drought and Low-N Tolerant Maize, 25-29 March 1996. CIMMYT, El Batán, México, pp. 222-234.

EDMEADES, G.O.; BOLAÑOS, J.; CHAPMAN, S.C. Value of secondary traits in selection for drought tolerance in tropical maize. In: G.O. Edmeades, M. BÄNZIGER, H.R. Mckelson, and Peña-Valdivia (eds), Developing Drought-and Low N-Tolerant Maize. Proceedings of a Symposium, March 25-29, 1997, CIMMYT, E. Batán, Mexico, D.F.:CIMMYT/UNDP.

EDMEADES, G.O.; BOLAÑOS, J.; CHAPMAN, S.C.; LAFITTE, H.R.; BÄNZIGER, M. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: I. Gains in biomass, grain yield and harvest index. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1306-1315, 1999.

FEDERER, W.T. **Experimental Design**. New York, Mac Millan, Company. 1955. 544p.

FISCHER, K.S.; JOHNSON, E.C.; EDMEADES, G.O. Breeding and selection for drought resistance in tropical maize. CIMMYT, El Batán, Mexico. 1983.

FLINT-GARCIA, S.A.; THUILLET, A-C.; YU, J.; PRESSOIR, G.; ROMERO, S. cultivar-specific expansion and senescence of maize leaves. **Field Crop M.**; MITCHELL, S.E.; DOEBLEY, J.; KRESOVICH, S.; GOODMAN, M.M.; BUCKLER, E.S. Maize association population: a high-resolution

platform for quantitative trait locus dissection. **The Plant Journal**, v. 44, p. 1054-1064, 2005.

FROVA, C.; KRAJEWSKI, P.; FONZO DI, N.; VILLA, M.; SARI-GORLA, M. Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. I. Yield components. **Theoretical and Applied Genetic**, v. 99, p. 280-288, 1999.

GRANT, R.F.; JACKSON, B.S.; KINIRY, J.R.; ARKIN, G.F. Water deficit timing effects on yield components in maize. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 61-65, 1989.

HEISEY, P.W.; EDMEADES, G.O. Maize production in drought-stressed environments: Technical Options and Research Resource Allocation. Part 1 of CIMMYT 1997/98 World Maize Facts and Trends, Maize Production in Drought-Stressed Environments Technical Options and Research Resource Allocation. Mexico, D.F. CIMMYT.1999.

HERRERO, M.P.; JOHNSON, R.R. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. **Crop Science**, Madison, v. 21, p. 105-110, 1981.

JENSEN, S.D. Breeding for drought and heat tolerance in corn. In: Sutherland JI, Falasca RJ (eds) Proc 26 th Ann Corn and Sorghum Res Conf, ASTA, Washington, pp. 198-208, 1971.

LIZASO, J.I.; BATCHELOR, W.D.; WESTGATE, M.E. A leaf area model to simulate **Research**, v. 80, p. 1-17, 2003.

MONNEVEUX, P.; SÁNCHEZ, C.; BECK, D.; EDMEADES, G.O. Drought tolerance improvement in tropical maize source populations: evidence of progress. **Crop Science**, Madison, v. 46, p. 180-191, 2006.

PIEPHO, H.P. A mixed-model approach to mapping quantitative trait loci in barley on the basis of multiple environment data. **Genetics**, Baltimore, v. 156, p. 2043-2050, 2000.

REYMOND, M.; MULLER, B.; LEOPARDI, A.; TARDIEU, F. Combining quantitative trait loci analysis and an ecophysiological model to analyze the genetic variability of the responses of maize leaf growth to temperature and water deficit. **Plant Physiology**, v. 131, p. 664-675, 2003.

RIBAUT, J-M.; JIANG, C.; LEON-DE-GONZALEZ, D.; EDMEADES, G.O.; HOISINGTON, D.A. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. **Theoretical and Applied Genetic**, New York, v. 94, p. 887-896, 1997.

SANTOS, M. X. **Estudo do potencial genético de duas raças brasileiras de milho (*Zea mays* L.), para fins de melhoramento**. Piracicaba: Esalq. 185p. 1985.

SCAPIM, C.A.; CARVALHO, C.G.P., CRUZ, C.D. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 5, p. 683-686, 1995.

SCHUSSLER, J.R.; WESTGATE, M.E. Assimilate flux determines kernel set at low water potential in maize. **Crop Science**, Madison, v. 35, 1074-1080, 1995.

SMALLEY, M.D.; DAUB, J.L.; HALLAUERS, A.R. Estimation of heritability in maize by parent-offspring regression. **Maydica**, Bergamo, v. 49, n. 3, p. 221-229, 2004.

TOLLENAAR, M.; DWYER, L.M.; STEWART, D.W. Ear and kernel formation in maize hybrids representing three decades of grain yield improvement in Ontario. **Crop Science**, Madison, v. 32, p. 432-438, 1992.

TURNER, L.B. The effect of water stress on the vegetative growth of white clover (*Trifolium repens* L.), comparative of long-term water deficit and short-term developing water stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, p. 311-316, 1991.

VAN EEUWIJK, F. Genotype by environment interaction: Basics and beyond. In: ARNEL R. HALLAUER INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT BREEDING, 2003, Mexico City. **Book of Abstracts...** Mexico City: CIMMYT, 2003. P. 28-29.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G.P. **Melhoramento e produção de milho**, 2. Ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987, p. 137-274.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética Biométrica no Fitomelhoramento**. Sociedade Brasileira de Genética. 1992. 496p.

VENCOVSKY, R.; CRUZ, C. D. Comparação de métodos de correção do rendimento de parcelas com estandes variados. I. Dados simulados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, n. 5, v. 26, p. 647-657. 1991.

WAHID, A.; GELANI, S.; ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Heat tolerance in plants: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, v. 61, p. 199-223, 2007.

WESTGATE, M.E.; BASSETTI, P. Heat and drought stress in corn: what really happens to the corn plant at pollination? In: Wilkinson D. (ed). Proc

45 th Ann Corn and Sorghum Research Conf, Chicago, 5-6, ASTA, Washington, pp. 12-28. 1990.

WESTGATE, M.E.; BOYER, J.S. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. **Crop Science**, Madison, v. 26, p.951-956, 1986.

ZAIDI, P.H.; SRINIVASAN, G.; CORDOVA, H.S.; SANCHEZ, C. Gains from improvement for mid-season drought tolerance in tropical maize (*Zea mays* L.). **Field Crop Research**, Amsterdam, v.89, p. 135-152, 2004.

ZINSELMEIER, C.; SCHUSSLER, J.R.; WESTGATE, M.E.; JONES, R.J. Low water potential disrupts carbohydrate metabolism in maize ovaries. **Plant Physiology**, v.107, p. 385-391. 1995.

CAPÍTULO II

MAPEAMENTO DE QTLs PARA CARACTERES AGRONÔMICOS RELACIONADOS À TOLERÂNCIA À SECA EM MILHO

RESUMO

TOMÉ, Livia Gracielle Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009. **Análises biométricas e mapeamento de QTLs para tolerância à seca em milho.** Orientador: Cosme Damião Cruz. Coorientadores: Cláudia Teixeira Guimarães e Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

QTLs (“Quantitative Trait Loci”) para a tolerância à seca em milho já foram identificados na maioria dos cromossomos a partir de caracteres relacionados à produção de grãos. Os objetivos deste trabalho foram: (i) identificar QTLs relevantes para as características intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF), altura de plantas (AP), produção de grãos (PG), folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção relativa (PREL), (ii) testar a segregação dos marcadores para fins de mapeamento, (iii) apresentar o mapa de ligação entre marcadores avaliados, (iv) identificar os QTLs pelo método da marca simples; (v) identificar as regiões genômicas de coincidência entre os diferentes caracteres avaliados e (vi) identificar os QTLs pelo método intervalo simples. O teste de segregação dos marcadores apresentou distorções para 17 marcas, que não foram devidas ao fato de marcadores estarem sob efeito de seleção, ou de duplicação da informação genética, mas devido ao pequeno tamanho da população e à proximidade genética das linhagens parentais, o que culminou com a baixa saturação do mapa. Foi gerado um mapa de ligação com 82 marcadores microssatélites, cobrindo 825,03 cM do genoma do milho, com um marcador em média a cada 20 cM. Foram mapeados 45 QTLs pela metodologia de intervalo simples: seis para intervalo entre florescimentos, treze para altura de plantas, seis

para produção de grãos, dez para folhas mortas, cinco para prolificidade e cinco para produção relativa.

ABSTRACT

TOMÉ, Livia Gracielle Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, july, 2009. **Biometric analysis and mapping of QTLs for drought tolerance in maize**. Advisor: Cosme Damião Cruz. Coadvisors: Cláudia Teixeira Guimarães and Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

QTL ("Quantitative Trait Loci") for drought tolerance in corn has been identified in most chromosomes from characters related to grain yield. The aim of this study were (i) to identify relevant QTLs for the follow characteristics: anthesis silking interval (ASI), plant height (PH), grain yield (GY), leaf senescence (LS), prolificacy (PROL), and relative production (RELP), (ii) to test the segregation of markers for mapping, (iii) to present the linkage map between markers evaluated, (iv) to identify QTLs for using the single-locus association, (v) to identify genomic regions of overlap between the different traits; (vi) to identify QTLs for using the simple interval mapping (SIM). The test of marker segregations showed segregation distortion for 17 markers, which were not due to the fact that markers are under selection effect or duplication of genetic information, but due to the small population size and genetic proximity of the parental lines which led to the low saturation map. It was generated a linkage map with 82 microsatellite markers, covering 825.03 cM of the maize genome, with, on average, one marker in every 20 cM. It was mapped 45 QTLs by the SIM methodology being six related to anthesis silking interval, thirteen to plant height, six to grain yield, ten to leaf senescence, five to prolificacy, and five to relative production.

1. INTRODUÇÃO

A construção de mapas genéticos é uma das aplicações de maior impacto da tecnologia de marcadores moleculares na análise genética de espécies e no melhoramento de plantas. Os mapas genéticos dão a localização de regiões genômicas e a análise completa de genomas que controlam caracteres de importância, a quantificação do efeito destas regiões, na característica estudada (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995; VINOCUR & ALTMAN, 2005).

A primeira metodologia de mapeamento desenvolvida foi o mapeamento de marcas simples, que consiste na associação da característica à presença de um marcador, sendo realizadas análises para cada marcador separadamente (SAX, 1923; SOLLER, 1976). A análise é feita verificando-se a diferença entre as médias fenotípicas do caráter para cada uma das classes genotípicas de um dado marcador, que devem possuir distribuição de frequência correspondente ao tipo de população utilizada como a 1:2:1, no caso de população F_2 . Se as diferenças entre as médias fenotípicas das classes forem estatisticamente significativas, pode-se inferir que existe um QTL ligado à marca sob análise (LYNCH & WALSH, 1998). Vários procedimentos estatísticos podem ser utilizados, como o teste t , análise de variância, regressão linear simples ou método da máxima verossimilhança (ZENG, 1994; DOERGE, 1996).

Lander & Botstein (1989) propuseram o mapeamento por intervalo que se baseia nas informações da segregação de pares de marcadores

adjacentes. O princípio deste método consiste na análise de marcas flanqueando um intervalo pelo cálculo estatístico de máxima verossimilhança ou regressão linear múltipla (HALEY & KNOTT, 1992).

O método da máxima verossimilhança é uma importante ferramenta para o mapeamento de QTL e obtenção de estimadores consistentes e assintóticos dos efeitos dos QTLs. O uso do mapeamento por intervalo com a análise de máxima verossimilhança (LANDER & BOTSTEIN, 1989) promoveu um poder extra para a detecção de QTL ligado a um marcador, além de ter proporcionado uma maior acurácia na estimação de parâmetros genéticos (HALEY & KNOTT, 1992).

Com o crescente interesse no uso das informações advindas do mapeamento de QTLs, estratégias de mapeamento mais robustas foram desenvolvidas como o mapeamento por múltiplos intervalos (KAO; ZENG; TEASDALE, 1999) que considera os efeitos epistáticos envolvidos na expressão do caráter, ou o mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos caracteres ou ambientes (JIANG & ZENG, 1995), que permitem analisar múltiplos caracteres correlacionados ou analisar um único caráter em múltiplos ambientes.

Com a utilização de marcadores moleculares de DNA, muitos QTLs ("Quantitative Trait Loci") têm sido identificados para o milho, para características agronômicas relacionadas à tolerância à seca (RIBAUT et al., 1997; SARI-GORLA et al., 1999; TUBEROSA et al., 2002; XIAO et al., 2005; VARGAS et al., 2006; GUO et al., 2008; ZHENG et al., 2009).

A expressão diferencial de uma característica fenotípica de genótipos em ambientes, sempre foi alvo de estudo na genética quantitativa. Os sucessos nos estudos de QTLs mudaram o foco da análise genótipo x ambiente, do genótipo ao nível de gene para reprodução e instabilidade ambiental. Muita importância tem sido dada à estabilidade dos QTLs nos diferentes ambientes, e os estudos da interação QTL x Ambiente têm sido uma nova visão dos melhoristas. Variações na expressão do QTL pelas interações QTL x Ambiente são uma grande limitação à detecção de QTLs consistentes em vários ambientes (FASOULA, 2004).

Devido à importância do mapeamento de QTL para a tolerância à seca a partir de características relacionadas com a produção de grãos, os objetivos deste estudo foram: (i) identificar QTLs relevantes para a característica intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF), altura de plantas (AP), produção de grãos (PG), folhas mortas (FM), prolificidade (PROL) e produção relativa (PREL); (ii) testar a segregação dos marcadores para fins de mapeamento; (iii) apresentar o mapa de ligação entre os marcadores avaliados; (iv) identificar os QTLs pelo método da marca simples; (v) identificar as regiões genômicas de coincidência entre os diferentes caracteres avaliados e (vi) identificar os QTLs pelo método intervalo simples.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Extração e quantificação de DNA genômico

O DNA genômico foi extraído a partir de folhas jovens de um “bulk” de dez plantas representando cada uma das 94 progênies $F_{2:3}$, do plantio de 2006 e dos parentais L31.2.1.2 (tolerante) e L2.3.2.1 (sensível). As folhas coletadas foram congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e armazenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a extração, de acordo com o método descrito por Saghai-Maroo et al. (1984).

Cerca de três gramas das folhas congeladas foram macerados com nitrogênio líquido e transferidos para tubo plástico de 50 mL, a que foram adicionados 10 mL de tampão CTAB (CTAB 2%; Tris-HCl 0,2 M; NaCl 1,4 M; EDTA 0,02 M; β -Mercaptoetanol 2%). Após leve agitação manual, a mistura foi mantida a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ em banho-maria por uma hora, com agitação a cada 15 minutos. Em seguida foi realizada lavagem com igual volume de clorofórmio-octanol (24:1) com homogeneização constante por 20 min. O material foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, e o sobrenadante foi transferido para novo tubo de 50 mL para nova lavagem com clorofórmio-octanol (24:1). O sobrenadante obtido nesta segunda lavagem foi transferido para tubo de vidro de 25 mL, ao qual foi adicionado igual volume de isopropanol a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após a agitação manual do tubo, o DNA precipitado foi transferido com auxílio de uma alça de vidro para microtubo de 1,5 mL e ressuspenso em 1 mL de tampão TE (Tris-HCl 10 mM; EDTA 1mM; pH 8,0) contendo RNase (0,1 mg/mL).

O DNA genômico obtido foi avaliado por eletroforese em gel de agarose 0,8% em tampão TAE (Tris-acetato 40 mM; EDTA 1 mM; pH 8,0) com o DNA, padrão Fago λ , de concentração, 10 ng/ μ L, para a quantificação e avaliação de sua integridade. Após uma hora de eletroforese a 100 V, o gel foi incubado por 15 min em solução de brometo de etídio (1 μ g/mL), visualizado sob luz ultravioleta e fotografado no equipamento Eagle Eye II (Stratagene®).

2.2. Marcadores Microsatélites

Um total de 568 marcadores microsatélites foi avaliado entre as linhagens parentais para a identificação de polimorfismos. Entretanto, 112 foram polimórficos (19%), 423 monomórficos (72%) e 51 falharam (8,7%). Dos 112 polimórficos, apenas 82 primers foram aplicados na população para tolerância à seca. E, suas sequências estão disponíveis no banco de dados da cultura do milho - *Maize Genetics and Genomics Database* (<http://www.maizegdb.org/ssr.php>).

As reações de amplificação utilizando iniciadores não fluorescentes consistiram de 30 ng de DNA genômico; Tris-HCl 10 μ M pH 8,0; HCl 50 μ M, MgCl₂ 2 μ M, 125 μ M de cada dos deoxinucleotídeos; e 0,4 μ M de cada um dos iniciadores e uma unidade (1U) da enzima *Taq* DNA polimerase em volume final de 10 μ L. Os ciclos de amplificação foram de uma desnaturação inicial a 95°C por 2 minutos; nove ciclos de 94 °C por 20 segundos; 68 °C por 20 segundos com a redução de 1 °C a cada ciclo de 72 °C por 20 segundos, seguidos de 25 ciclos de amplificação a 94 °C por 20 segundos; 60 °C por 20 segundos; e 72 °C por 20 segundos. A reação foi submetida a um período de extensão a 72 °C por cinco minutos.

Os fragmentos amplificados foram ressolvidos em géis de poliacrilamida 10% (29:1 acrilamida:bisacrilamida) em tampão TBE (Tris-HCl 0,89 M; ácido bórico 0,02M; EDTA 0,02 M; pH 8,0). Após 2 horas de eletroforese a 200 V, os géis foram incubados sob agitação constante por 15 minutos em solução fixadora (etanol 10%, ácido acético 0,5 %), 15

minutos em solução de nitrato de prata 0,2% e em solução reveladora (NaOH 3%; formaldeído 0,5%) até que as bandas aparecessem. A imagem do gel foi fotografada sob luz branca no equipamento Eagle Eye II (Stratagene®).

As reações de amplificação com iniciadores fluorescentes consistiram de 30 ng de DNA genômico; Tris-HCl 20 µM pH 8,0; KCl 50 µM; MgCl₂ 1,5 µM; 125 µM de cada um dos deoxinucleotídeos; 0,2 µM de cada um dos iniciadores; e uma unidade (1U) da enzima *Taq* DNA polimerase em volume final de 10 µL. Os ciclos de amplificação foram os mesmos realizados para os iniciadores não marcados. Os fragmentos amplificados foram diluídos de acordo com suas fluorescências nas proporções de 1:40, 1:16 e 1:13 para 6-FAM (azul), HEX (verde) e NED (amarelo), respectivamente. Dessa diluição, 3 µL foram misturados a 0,8 µL de formamida Hi-Di (Applied Biosystems®), 0,5 µL de corante (BigBlue, Applied Biosystems®) e 0,2 µL do padrão de peso molecular, GS-500 ROX (Applied Biosystems®). As amostras foram desnaturadas a 95°C por 5 minutos e imediatamente transferidas para o gelo até o momento da aplicação no gel de poliacrilamida 5%. Os alelos amplificados foram submetidos à eletroforese por um período de duas horas em uma voltagem de 3 kV, no sequenciador automático ABI377 (Applied Biosystems®). Após a eletroforese, os fragmentos amplificados foram analisados com os programas GeneScan e Genotyper (Applied Biosystems®) para a determinação do tamanho dos alelos de cada indivíduo.

2.3. Análise Estatística

As análises foram realizadas pelo programa Gqmol (CRUZ, 2008). As variáveis analisadas foram: 1- intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF); 2- altura de plantas (AP); 3- produção de grãos (PG); 4- folhas mortas (FM); 5- prolificidade (PROL) e 6- produção relativa (PREL) que é a razão da produção de grãos no ambiente com estresse e no sem estresse hídrico.

2.3.1. Teste de segregação

Realizou-se o teste qui-quadrado (χ^2) para verificar a razão de segregação esperada na população F_2 com nível de significância de 5%, segundo a fórmula.

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^n \left[\frac{(O_j - E_j)^2}{E_j} \right]$$

sendo:

n = número de classes genotípicas detectadas; e

O_j e E_j = valores observados e esperados na classe j.

Nesta população F_2 , espera-se que os dois alelos em cada loco SSR segreguem na proporção de 1:2:1 (1/4AA:1/2Aa:1/4aa).

Como será testado um grande número de marcadores moleculares, será utilizada a proteção de Bonferroni para reduzir a probabilidade de se cometer o erro tipo I, mantendo a significância total α_T , igual a 5%. A correção de Bonferroni é dada por:

$$\alpha = -\exp\left(\frac{\ln(1 - \alpha_T)}{N}\right) + 1$$

A proteção de Bonferroni pressupõe independência entre os testes. Para o caso de marcadores moleculares ligados, os testes não são independentes.

2.3.2. Mapeamento Genético

2.3.2.1. Estimação da porcentagem de recombinação

A estimação da porcentagem de recombinação foi feita pelo método da máxima verossimilhança. Os estimadores de máxima verossimilhança foram obtidos pelo método gráfico em que valores da razão de verossimilhança (LR) ou LOD são analisados graficamente,

representativos do eixo Y, associados a valores da porcentagem de recombinação, no eixo X.

O LOD é o logaritmo na base 10 (Log_{10}) da razão entre a verossimilhança, considerando o valor atual de r e a verossimilhança para $r=0,5$ (considerando ausência de ligação).

$$\text{LOD} = \text{Log}_{10} \frac{L(r;x)}{L(r=0,5;x)}$$

Adotou-se neste trabalho o LOD mínimo de 3, o que significa que a verossimilhança, considerando o valor atual de r , é 1000 vezes maior que a verossimilhança em caso de ausência de ligação.

A razão de verossimilhança (LR) constitui-se na estatística que possibilita avaliar a significância de determinada hipótese, considerando em uma função de verossimilhança o valor estimado e na outra o valor fixado do parâmetro.

$$\text{LR} = 2\ln \left(\frac{L(\Theta;x)}{L(\Theta_r;x)} \right) = -2\ln \left(\frac{L(\Theta_r;x)}{L(\Theta;x)} \right) = -2 [\ell(\Theta_r; x) - \ell(\Theta; x)]$$

A função de mapeamento utilizada para converter frequências de recombinação em unidades de mapa em centiMorgan (cM) foi a proposta por Kosambi (1944), que admite a interferência de permutas entre intervalos adjacentes.

2.3.2.2. Ordenamento de genes

O ordenamento dos genes foi feito pelo método da frequência de recombinação entre dois locos, calculando-se a soma das distâncias das regiões adjacentes. Neste método, o princípio básico é o de escolher a melhor ordem pela combinação que proporciona menor soma das frequências de recombinações adjacentes (ou método SARF – *Sum of Adjacent Recombination Frequency*).

2.3.3. Análise de associação entre marcador e QTL

2.3.3.1 Método da Marca Simples

Para a análise de regressão, os três genótipos A_1A_1 , A_1A_2 e A_2A_2 foram codificados como 1, 0 e -1 para quantificação do efeito aditivo e como 0, 1 e 0 para quantificação do efeito atribuído à dominância, respectivamente, utilizando o modelo:

$$Y_j = \beta_0 + \beta_1 X_{1j} + \beta_2 X_{2j} + \varepsilon_j$$

Y_j : valor da característica quantitativa avaliada no j -ésimo indivíduo da população F_2 ;

X_{1j} : código do marcador para o efeito aditivo ($A_1A_1=1$, $A_1A_2=0$ e $A_2A_2=-1$);

X_{2j} : código do marcador para o efeito dominante ($A_1A_1=0$, $A_1A_2=1$ e $A_2A_2=0$);

β_0 : intercepto da regressão (média da característica);

β_1 : inclinação da reta para o efeito aditivo;

β_2 : inclinação da reta para o efeito dominante; e

ε_j : erro aleatório manifestado na característica no j -ésimo indivíduo.

2.3.3.2 Método de Intervalo Simples

Foi utilizado o método desenvolvido por Lander & Botstein (1989) para testar a possibilidade de ocorrência do loco controlador da característica (QTL) em uma série de posições dentro de um intervalo flanqueado por dois marcadores, utilizando a máxima verossimilhança para a estimação dos parâmetros.

Assumiu-se o modelo com base em Haley & Knott (Tabela 1).

Tabela 1. Estimação dos efeitos médios genotípicos do QTL para todos os possíveis genótipos marcadores na população F_2

Genótipo Marcador	Estimativas em termos de:	
	a efeito aditivo	d efeito de dominância
$A_1A_1B_1B_1$	$[(1-r_A)^2(1-r_B)^2-r_A^2r_B^2]/(1-r)^2$	$[2r_A(1-r_A)r_B(1-r_B)]/(1-r)^2$
$A_1A_1B_1B_2$	$[(1-r_A)^2r_B(1-r_B)-r_A^2r_B(1-r_B)]/r(1-r)$	$[r_A(1-r_A)(1-r_B)^2+r_A(1-r_A)r_B^2]/r(1-r)$
$A_1A_1B_2B_2$	$[r_A(1-r_A)^2r_B^2-r_A^2(1-r_B)^2]/r^2$	$[2r_A(1-r_A)r_B(1-r_B)]/r^2$
$A_1A_2B_1B_1$	$[r_A(1-r_A)(1-r_B)^2-r_A(1-r_A)r_B^2]/r(1-r)$	$[(1-r_A)^2r_B(1-r_B)+r_A^2r_B(1-r_B)]/r(1-r)$
$A_1A_2B_1B_2$	0	$[r_A^2r_B^2+r_A^2(1-r_B)^2+(1-r_A)^2r_B^2+(1-r_A)^2(1-r_B)^2]/[r^2+(1-r)^2]$
$A_1A_2B_2B_2$	$[r_A(1-r_A)r_B^2-r_A(1-r_A)(1-r_B)^2]/r(1-r)$	$[(1-r_A)^2r_B(1-r_B)+r_A^2r_B(1-r_B)]/r(1-r)$
$A_2A_2B_1B_1$	$[r_A^2(1-r_B)^2-(1-r_A)^2r_B^2]/r^2$	$[2r_A(1-r_A)r_B(1-r_B)]/r^2$
$A_2A_2B_1B_2$	$[(1-r_B)-(1-r_A)^2r_B(1-r_B)]/r(1-r)$	$[r_A(1-r_A)(1-r_B)^2+r_A(1-r_A)r_B^2]/r(1-r)$
$A_2A_2B_2B_2$	$[r_A^2r_B^2-(1-r_A)^2(1-r_B)^2]/(1-r)^2$	$[2r_A(1-r_A)r_B(1-r_B)]/(1-r)^2$

Fonte: Haley & Knott (1992)

As funções densidades de probabilidade podem ser definidas para cada conjunto de dados estabelecidos por cada um dos nove genótipos dos marcadores, disponíveis na população. Assim, tem-se:

$$f(\mu_1, \mu_2, \mu_3, \sigma^2, r; y_i) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} (\alpha_{i1}f_{1i} + \alpha_{i2}f_{2i} + \alpha_{i3}f_{3i}) \text{ para } i = 1, 2, \dots, 9$$

Sendo:

$$f_{i1} = \frac{1}{\sqrt{(2\pi\sigma^2)}} e^{-\frac{(y_i - \mu_1)^2}{2\sigma^2}}, \quad f_{i2} = \frac{1}{\sqrt{(2\pi\sigma^2)}} e^{-\frac{(y_i - \mu_2)^2}{2\sigma^2}} \quad e$$

$$f_{i3} = \frac{1}{\sqrt{(2\pi\sigma^2)}} e^{-\frac{(y_i - \mu_3)^2}{2\sigma^2}}$$

A verossimilhança total para N indivíduos é o produto das funções densidades individuais:

$$L(y) = \prod_{i=1}^N f(Y_i/M_i)$$

$$L(\mu_1, \mu_2, \mu_3, \sigma^2, r; y_i) = \prod_{i=1}^N f(\mu_1, \mu_2, \mu_3, \sigma^2, r; y_i)$$

Para o mapeamento de intervalos em uma população F_2 , a função de verossimilhança é:

$$L(\mu_1, \mu_2, \mu_3, \sigma^2, r; y_i) = \prod_{i=1}^N \frac{1}{\sqrt{(2\pi\sigma^2)}} \sum_{k=1}^3 P(Q_k | M_i) e^{\left(-\frac{(y_i - \mu_k)^2}{2\sigma^2}\right)}$$

$$L(\mu_1, \mu_2, \mu_3, \sigma^2, r; y_i) = \prod_{i=1}^N \frac{1}{\sqrt{(2\pi\sigma^2)}} \sum_{k=1}^3 \alpha_{ik} f_{ki}$$

Aplicando as propriedades de produtório e de logaritmos, a função suporte torna-se:

$$\ell(\mu_1, \mu_2, \mu_3, \sigma^2, r; y_i) = \ln(L) = -\frac{N}{2} \log(2\pi\sigma^2) + \sum_{i=1}^N \ln \left\{ \sum_{k=1}^3 P(Q_k/M_i) e^{\left[-\frac{(y_i - \mu_k)^2}{2\sigma^2}\right]} \right\}$$

ou

$$\ell(\mu_1, \mu_2, \mu_3, \sigma^2, r; y_i) = -\frac{N}{2} \log(2\pi\sigma^2) + \sum_{j=1}^N \ln[\alpha_{i1}f_{1i} + \alpha_{i2}f_{2i} + \alpha_{i3}f_{3i}]$$

Na função de verossimilhança, ou suporte, assume-se que a distribuição dos valores fenotípicos da característica seja normal, e as combinações genotípicas possuam a mesma variância. Neste caso, tem-se:

y_i : é o valor observado da característica fenotípica no indivíduo j ;

μ_k : é a média da característica para o genótipo k do QTL;

$P(Q_k/M_i)$: é a probabilidade condicional ou a probabilidade de a descendência i ter genótipo Q_k , dado que os marcadores que flanqueiam têm genótipo M_i e M_j ; e

N : número total de indivíduos.

Como para o mapeamento de intervalos é necessário utilizar os dados do mapa de ligação dos marcadores, assume-se que r é conhecido e que:

$$r = r_a + r_b - 2Cr_ar_b$$

e

$r_b = r - r_a$ (em caso de ter assumido interferência total, ou seja, $I=1$ e $C=0$).

Para estimação dos desvios aditivos e devidos à dominância, segue-se a função derivada por Paterson et al. (1991):

$$L(\mu_k, a_k, d_k, \sigma^2, r; y_i) = \prod_{i=1}^N \frac{1}{\sqrt{(2\pi\sigma^2)}} \sum_{k=1}^3 P(Q_K | M_i) e^{\left(\frac{(y_i - \mu_k - a_k - d_k)^2}{2\sigma^2}\right)}$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Teste de Segregação dos Marcadores

O mapeamento genético tornou-se, rapidamente, uma poderosa ferramenta para os geneticistas. Os mapas mostram a posição dos genes correspondente a sua ordem linear nos cromossomos. Premissas importantes devem ser consideradas na construção de um mapa genético como: a seleção da população apropriada, o tipo de marcador genético, a verificação da distorção da segregação mendeliana, o tamanho da população, o cálculo da frequência de recombinação entre pares de marcadores e função de mapeamento (CARNEIRO & VIEIRA, 2002).

Na construção de mapas genéticos feitos com dados oriundos de populações segregantes, espera-se um padrão mendeliano típico para cada tipo de população, pressuposto com base na segregação mendeliana.

Do “screening” de 586 marcadores microssatélites, nas linhagens parentais, 112 foram polimórficos (19%) e destes, 82 primers foram analisados na população para tolerância à seca.

A análise de segregação pelo teste qui-quadrado evidenciou que de um total de 82 primers, 65 apresentaram segregação mendeliana esperada, utilizando a proteção de Bonferroni a 5% de probabilidade (Tabela 2).

Tabela 2. Teste de segregação genotípica dos marcadores microssatélites genotipados na progênie F_{2:3} derivada do cruzamento entre L31.2.1.2 e L2.3.2.1

Marcador	Bin	Classes						X ²	Prob.(%)
		A ₁	A ₁	A ₁	A ₂	A ₂	A ₂		
bnlg109	1.00	22	36	30	6			4,36	11,28 ns
umc2224	1.00-01	12	57	24	1			7,84	1,99 ns
bnlg1083	1.02	26	43	23	2			0,59	74,57ns
umc1021	1.03	26	52	15	1			3,9	14,2ns
umc1395	1.05	25	48	21				0,38	82,57ns
umc1590	1.06	22	47	24	1			0,1	95,28ns
umc1709*	1.06	12	41	38	3			15,75	0,04*
bnlg615	1.07	35	37	22				7,85	1,97ns
umc1630	1.11	24	48	22				0,13	93,82ns
umc1862	1.11	26	43	24	1			0,61	73,61ns
phi064	1.11	24	48	21	1			0,29	86,49ns
umc1605	1.12	27	43	23	1			0,87	64,7ns
umc1823	2.02	28	48	17	1			2,7	25,94ns
bnlg1537*	2.03	45	29	15	5			31,02	0,00*
bnlg1064	2.03	29	43	22				1,72	42,24ns
umc2007	2.04	25	51	16	2			2,85	24,08ns
bnlg381	2.04	21	43	29	1			1,9	38,62ns
nc132	2.05	16	57	17	4			6,42	4,03ns
umc1028*	2.05	11	42	41				20,21	0,004*
umc2254*	2.06	39	40	9	6			21,18	0,003*
umc1560	2.07	22	54	18				2,43	29,74ns
mmc0191	2.07-08	5	50	16	3			2,67	26,32ns
phi127	2.08	23	49	22				0,19	90,87ns
umc1320	2.08	13	50	28	3			5,84	5,41ns
bnlg1325	3.02-03	20	50	16	8			2,65	26,57ns
bnlg1523	3.03	29	48	17				3,11	21,16ns
bnlg1638*	3.04	41	35	15	3			19,7	0,005*
bnlg1904	3.04	32	51	9	2			12,59	0,19ns
umc1223	3.04	24	50	19	1			1,07	58,73ns
umc2002	3.04	19	54	20	1			2,44	29,51ns
umc1908	3.04	23	53	16	2			3,2	20,23ns
umc2263*	3.04	11	32	50	1			41,75	0,00*
bnlg1035	3.05	36	37	17	4			10,87	0,44ns
phi053	3.05	32	28	30	4			12,93	0,15ns
umc1839*	3.05	12	32	47	3			34,93	0,00*
bnlg197*	3.06	77	11	6				162,4	0,00*
umc1148*	3.07	39	36	9	10			23,14	0,001*
umc1489*	3.07	43	38	10	3			26,41	0,00*
umc1594	3.09-10	27	42	24	1			1,07	58,73ns
nc135	4.01	30	34	30				7,19	2,74ns
umc1276	4.01	22	35	37				10,92	0,426ns
nc004	4.03	26	44	24				0,47	79,13ns
phi021	4.03	26	42	25	1			0,89	64,003ns
phi079	4.05	21	49	21	3			0,54	76,4ns
bnlg2291	4.06	11	58	21	4			9,73	0,77ns
umc2391	4.06	22	49	22	1			0,27	87,42ns

Continuação Tabela 2.

Marcador	Bin	Classes						X ²	Prob.(%)
		A ₁	A ₁	A ₁	A ₂	A ₂	Perdido		
umc1051	4.08	22		45		27		0,7	70,4ns
umc1240	5.00	23		51		18	2	1,63	44,25ns
umc1705	5.03	23		47		22	2	0,06	96,79ns
umc1019*	5.06	40		31		21	2	17,63	0,015*
umc1153	5.09	34		46		13	1	9,49	0,87ns
bnlg1600	6.00	26		42		25	1	0,89	64,00ns
umc2309	6.00	18		53		23		2,06	35,63ns
bnlg1432	6.01	28		38		27	1	3,13	20,92ns
bnlg2097	6.01	30		39		23	2	3,2	20,23ns
bnlg1165	6.01	26		44		24		0,47	79,13ns
umc1006	6.02	26		47		21		0,53	76,65ns
nc010	6.04	22		53		19		1,72	42,24ns
bnlg345	6.06	30		40		20	4	3,33	18,89ns
phi089	6.08	26		39		28	1	2,51	28,57ns
mmc0171	7.00-01	34		40		17	3	7,68	2,15ns
umc1066	7.01	27		53		13	1	6,03	4,90ns
phi034	7.02	34		41		16	3	8,01	1,82ns
umc1015	7.03	23		50		20	1	0,72	69,75ns
bnlg669	8.03	21		55		17	1	3,45	17,8ns
umc1984*	8.03	9		22		62	1	86,23	0,00*
umc1562	8.05	32		46		16		5,49	6,43ns
bnlg666	8.05	31		50		13		7,28	2,63ns
umc1933*	8.08	48		34		9	3	39,24	0,00*
bnlg1724	9.01	16		41		34	3	8,01	1,82ns
umc1958	9.01-02	26		45		20	3	0,8	66,96ns
umc1037	9.02	27		49		18		1,89	38,8ns
umc1634*	9.03	22		27		45		28,28	0,00*
phi022	9.03	30		46		14	4	5,73	5,69ns
bnlg1375	9.07	28		44		21	1	1,32	51,62ns
bnlg1525	9.07	19		50		21	4	1,2	54,88ns
umc1319*	10.01	45		18		21	10	41,14	0,00*
mzetc34*	10.04	22		25		46	1	32,27	0,00*
umc1246	10.04	30		48		16		4,21	12,17ns
phi084	10.04	38		41		13	2	14,67	0,07ns
umc1077*	10.04	16		17		60	1	79,07	0,00*
umc1038	10.07	24		50		20		0,72	69,65ns

Nível crítico para a Proteção Bonferroni: 0,0625%

*: Valor abaixo do nível crítico especificado

Entretanto, a ausência do padrão mendeliano típico nos locos é chamada de distorção da segregação mendeliana. No presente trabalho, 17 marcadores (20,73% dos marcadores) apresentaram distorção de segregação. A distorção de segregação é a fração do desvio de segregação em relação à razão Mendeliana esperada (XU, 2008). Embora seja indesejável para o mapeamento genético, a distorção na segregação dos marcadores é um fenômeno comum em análises genômicas. Veldboon e Lee (1994) verificaram distorção na segregação de marcadores de 9% nas famílias F_3 e de 29% entre RILs. Em outras culturas, como na soja, Yang et al. (2000) verificaram 37% de distorção na segregação para marcadores AFLP; Zhang et al. (2004) obtiveram distorção de 17% para marcadores RFLPs, SSR e EST e Tasma et al. (2001) detectaram entre 8,8 a 10,7% de distorção para marcadores RFLPs.

Em plantas, a distorção na razão de segregação de marcadores pode ser atribuída a uma série de causas genéticas e fisiológicas (GRANT, 1975), podendo ser pela transmissão diferencial de alelos de linhagens germinativas macho e fêmea (YANAGIHARA et al., 1995), e à seleção que ocorre em uma ou mais fases do ciclo de vida da planta: esporogênese, no desenvolvimento da semente ou na germinação de sementes (GRANT, 1975), efeito de amostragem. Outra possível causa da distorção de segregação é a duplicação de marcadores. Isto pelo fato de o milho possuir regiões de duplicação cromossômica, por exemplo, a homologia entre os cromossomos 1 e 5; 2 e 7 com segmentos, duplicados. As duplicações cromossômicas ocorridas no genoma do milho, espécie diplóide, têm sido interpretadas como evidência da origem a partir de um ancestral poliplóide (GAUT et al., 2000). Outras possíveis causas de distorção na segregação é a seleção zigótica ou gamética, sendo que esta última afeta a distorção de vários locos próximos àquele afetado pela seleção. Se a distorção da segregação é detectada somente em um loco, a chance é alta que seja devida à duplicação de marcadores.

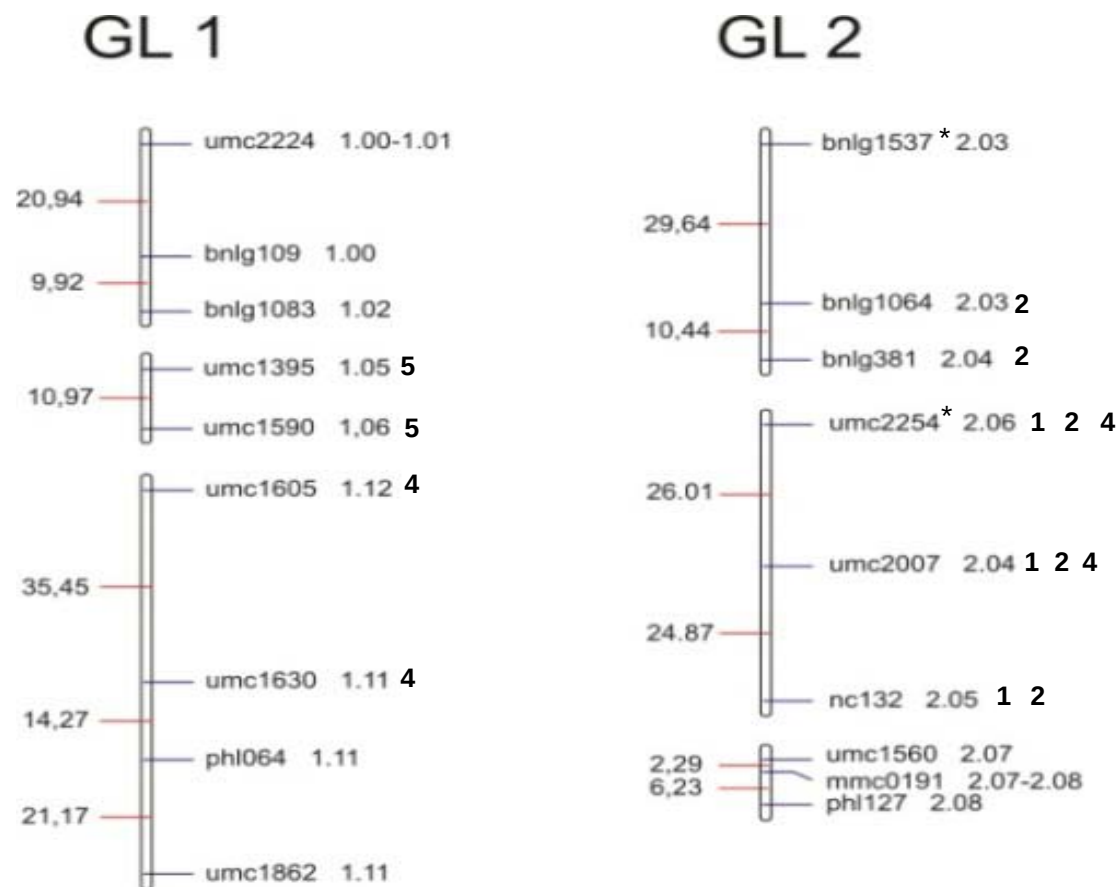
O uso de marcadores que apresentam distorção de segregação deve ser cauteloso. Os locos que apresentam distorção mendeliana

afetam os testes estatísticos para a detecção da ligação, podendo gerar falsos positivos (LIU, 1998). Eles podem apresentar informações genéticas importantes, embora possam alterar as distâncias e ordens lineares de outros marcadores no grupo de ligação (OLIVEIRA et al., 2004). Estes autores sugerem que a utilização de marcadores que apresentam distorção de segregação sejam apenas daqueles que conferem pequeno grau de alteração das distâncias no mapa, quando acrescidos.

Xu (2008) considera que a inclusão de marcadores com distorção na segregação é pertinente, entretanto este procedimento requer nova estimativa da frequência de recombinação. Este autor tem utilizado marcadores que apresentam distorção na segregação para o mapeamento de QTL. Ele acrescenta que ignorar locos com distorção na segregação muitas vezes limita o mapeamento e a detecção de QTLs importantes para o caráter em questão.

Neste trabalho, optou-se por utilizar todos os marcadores, até mesmo os que apresentaram distorção de segregação, para gerar o mapa de ligação (Figura 1). Dos marcadores ligados, foram gerados 17 grupos de ligação, representando segmentos dos cromossomos 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9 e 10, cobrindo 825,03 cM do genoma do milho. O genoma do milho tem o tamanho de 2.061.021.377 pb (<http://www.maizesequence.org>) e segundo Lynch & Walsh (1998) a relação entre distância de mapa e distância física compreende a 3.0×10^6 kpb do genoma haplóide, 1.400 cM tamanho de mapa e 2.140 kb/cM.

A maioria dos marcadores foi ligada nas posições coerentes com o mapa de milho da população IBM22008 (<http://www.maizegdb.org>). Entretanto, os marcadores umc1839 bin 3,05, mzetc34 bin 10,04, umc1984 bin 8,03 e umc1319 bin 10,01 não foram ligados corretamente, conforme as posições na população IBM.



Legenda:

1= IFMF

2 = AP

3 = PG

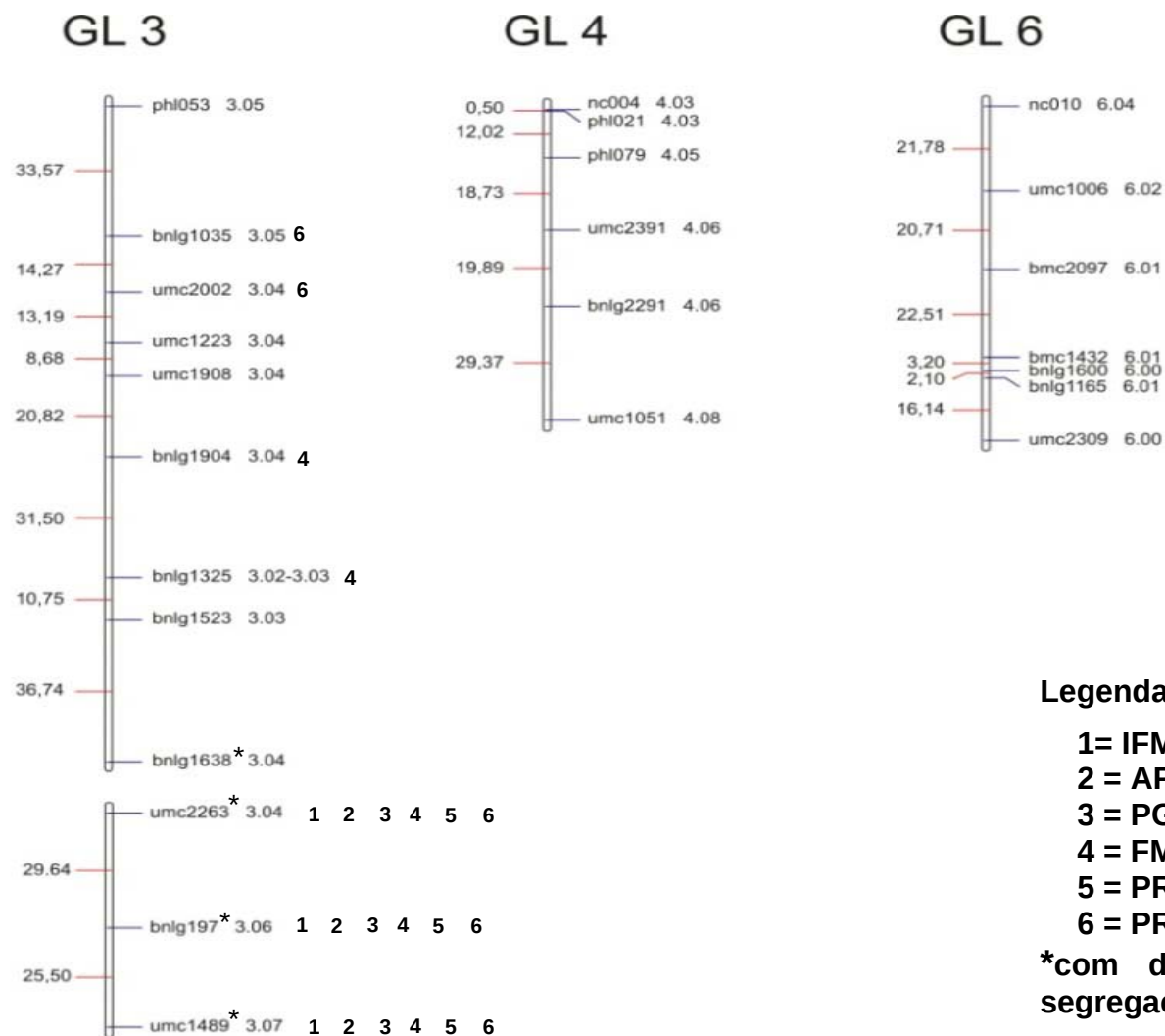
4 = FM

5 = PROL

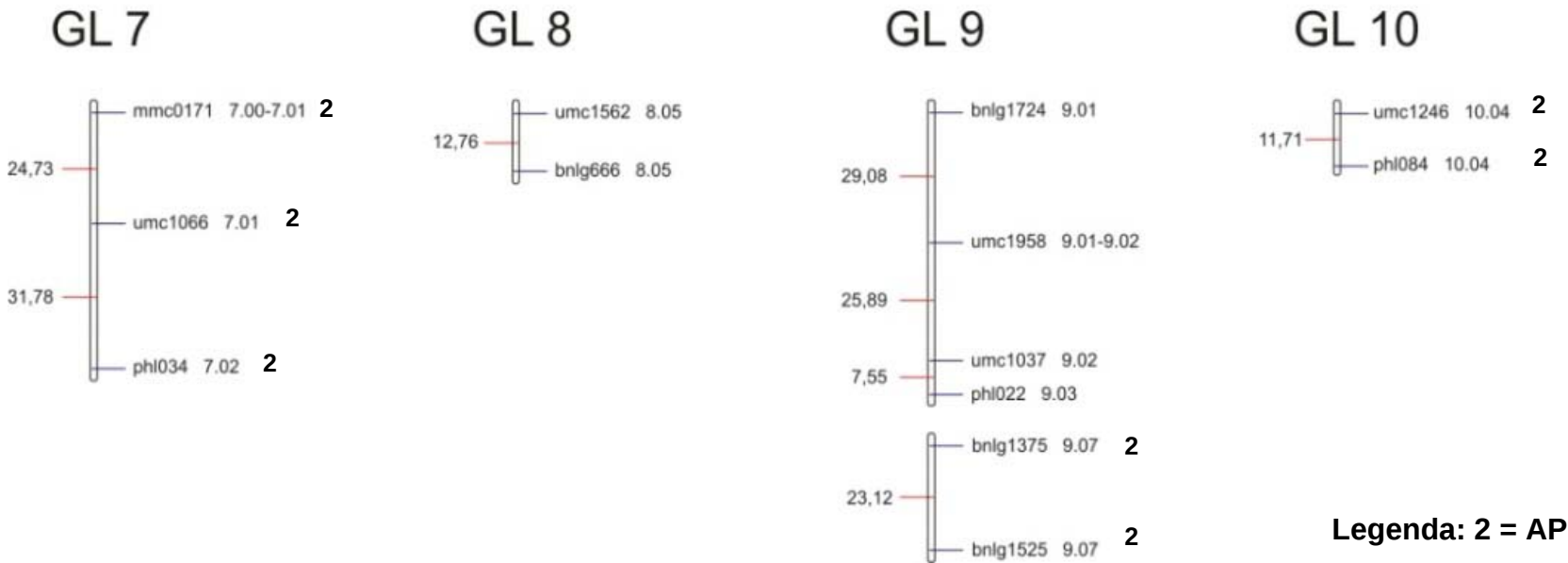
*com distorção de segregação

Figura 1. Mapa de ligação da população $F_{2:3}$ proveniente do cruzamento entre as linhagens L31.2.1.2 e L2.3.2.1. À direita estão os marcadores moleculares e os respectivos bins, à esquerda as distâncias em cM calculadas pela função de Kosambi.

Continuação da Figura 1...



Continuação da Figura 1...



Neste trabalho, dos 586 primers SSR avaliados, 112 foram polimórficos (19%), 423 monomórficos (72%) e 51 falharam (8,7%). O percentual de polimorfismo dos marcadores entre as linhagens parentais foi extremamente baixo, o que muito contribuiu para a baixa saturação do mapa de ligação.

Bento (2006) utilizou 139 marcadores microssatélites para construção de um mapa cobrindo 1858,61 cM para população de milho tropical tolerante à seca. Guo et al. (2008) utilizaram 101 marcadores SSR que cobriram um total de 1395,2 cM do genoma do milho. Zheng et al. (2009) utilizaram 115 marcadores SSR polimórficos para cobertura de 1431 cM do genoma do milho.

Provavelmente, a proximidade genética entre as linhagens parentais tenha dificultado a saturação do mapa de ligação. Embora o tamanho total do mapa de ligação de 825,03 cM e o número de marcadores microssatélites empregados para a construção do mapa não tenham sido satisfatórios em relação à literatura, foi possível a detecção de QTLs para as características relacionadas à tolerância à seca no milho.

3.2. Análise de associação entre marcador e QTL pelo método da marca simples

As Tabelas 3 e 4 explicitam as significâncias para os estimadores β_1 e β_2 e o R^2 para cada característica.

Tabela 3. Estimativas dos efeitos aditivos (β_1), de dominância (β_2) e R^2 para os locos, nos ambientes sem estresse e com estresse, safra de 2006, pelo método marca simples

Intervalo entre florescimentos masculino e feminino							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$	Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$
umc1594	0,04ns	-0,30*	5,06	umc1395	0,29*	-0,01ns	5,84
nc135	-0,23*	-0,04ns	7,26	umc1709	0,13ns	-0,42*	10,00
umc1276	0,19*	0,18ns	5,46	umc1823	0,09ns	-0,39*	5,69
umc1051	0,28**	-0,07ns	9,47	umc2007	-0,24ns	0,40*	7,98
umc1153	-0,19ns	0,35*	7,37	bnlg1638	0,13ns	0,48*	11,32
umc1077	0,16ns	0,39*	5,96	umc1839	0,29*	0,12ns	5,68
				umc1276	0,28*	-0,04ns	7,03
				umc1933	-0,59**	0,20ns	20,16
				bnlg1724	-0,35*	-0,24ns	8,82
				umc1077	0,04ns	0,71**	10,74
Altura de Plantas							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$	Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$
umc1395	-0,67ns	-5,08**	7,45	umc1395	0,57ns	-4,61*	5,28
umc2007	4,09**	-2,19ns	8,05	bnlg381	1,74ns	4,45*	5,92
nc132	4,87**	-1,06ns	9,98	umc2254	4,57*	-3,43ns	7,21
umc2254	3,51*	-2,73ns	4,68	bnlg197	-0,53ns	10,0**	9,37
bnlg1325	-3,65*	3,75ns	9,01	umc1148	0,14ns	-5,69*	7,42
bnlg1523	-2,90*	-0,12ns	4,42	umc1489	0,18ns	4,76*	5,53
bnlg1638	-3,42*	0,53ns	6,29	nc135	-3,36**	3,25ns	9,52
umc1223	-3,05*	3,11ns	6,65	nc004	-3,30*	-0,81ns	5,94
umc1908	-2,55ns	4,15*	6,56	phi021	-3,40*	-0,12ns	6,42
bnlg1035	-2,80*	-1,89ns	6,72	umc1051	-0,23ns	4,24*	4,50
bnlg197	-2,43ns	8,81*	6,66	phi034	-1,24ns	-5,7**	10,13
nc135	-3,44**	-1,66ns	8,98	umc1984	1,69ns	6,68*	6,27
umc1276	-2,62*	3,36ns	8,55	umc1037	3,06*	1,02ns	4,89
nc004	-4,02**	-1,33ns	10,01	bnlg1375	-1,88ns	-4,33*	7,03
phi021	-4,23**	-0,74ns	10,83				
umc1705	-1,35ns	-4,44*	6,56				
phi034	-0,16ns	-5,15*	7,31				
umc1984	-0,17ns	6,70**	9,42				
umc1037	3,95**	0,16ns	8,10				
bnlg1375	-2,12ns	-6,47**	14,89				
Produção de Grãos							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$	Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$
nc132	407,12*	164,77ns	5,89	umc1395	317,57*	-74,78ns	6,35
umc1028	211,81ns	534,79*	5,29	umc1590	272,74*	90,87ns	4,86
umc2254	461,85*	-385,18ns	6,35	umc1605	32,09ns	412,83*	5,55
bnlg1523	-321,80*	40,915ns	4,30	umc2254	306,78ns	-513,21*	6,87
umc1223	-132,00ns	465,80*	5,21	phi053	107,20ns	-499,12*	7,98
umc1908	-189,01ns	510,80*	6,35	bnlg197	-363,68*	750,95*	6,58
bnlg197	-698,72**	1419,05**	16,71	umc1489	-578,05**	770,10**	20,01
umc1489	-211,68ns	577,04*	5,77	umc1066	-52,30ns	-452,58*	7,03
umc1066	-252,56ns	-494,36*	9,58	umc1933	-68,22ns	473,29*	5,72
bnlg669	-344,39*	-120,25ns	4,84	umc1077	-52,26ns	633,26**	8,65
umc1984	-186,61ns	512,96ns	7,92				
umc1933	-88,15ns	583,17*	5,98				

Continua...

Continuação da Tabela 3...

Folhas Mortas							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	R ² (%)	Marca	β_1	β_2	R ² (%)
mmc0191	-0,00ns	0,01*	4,51	umc1605	-0,07**	-0,06ns	13,02
umc1320	-0,01ns	-0,01*	7,48	umc2007	-0,05ns	0,08*	7,69
bnlg197	0,01*	-0,01ns	5,83	nc132	-0,07*	0,04ns	7,73
umc1489	0,00ns	-0,01**	8,78	umc1320	-0,00ns	-0,08*	5,50
umc1276	0,01*	0,00ns	5,23	bnlg1638	0,01ns	0,09*	7,85
nc004	0,00ns	0,01*	4,46	bnlg1904	0,06*	-0,04ns	4,77
bnlg2097	0,00ns	-0,01*	6,97	umc1223	-0,00ns	0,09**	7,26
bnlg345	0,00ns	-0,01*	4,94	umc2002	-0,00ns	0,10**	9,04
umc 1634	0,01**	0,00ns	7,38	umc2263	0,01ns	0,11**	8,77
umc1077	-0,01**	0,00ns	10,61	bnlg1035	-0,02ns	0,09*	7,28
				bnlg197	0,11**	-0,03ns	12,46
				umc1489	0,17**	-0,13**	38,71
				umc2391	0,02ns	0,07*	5,38
				phi089	-0,05*	-0,03ns	5,13

Prolificidade							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	R ² (%)	Marca	β_1	β_2	R ² (%)
umc1395	0,07**	-0,02ns	8,07	umc1590	0,06*	-0,02ns	4,37
umc1590	0,08**	-0,08*	13,95	umc1605	0,01ns	0,09*	4,93
umc1709	-0,06*	-0,10*	7,99	umc2254	0,03ns	-0,11*	5,40
umc1862	0,06*	-0,01ns	5,61	umc1560	-0,03ns	-0,10*	7,48
phi064	0,06*	0,02ns	5,48	mmc0191	-0,04ns	-0,09*	7,54
bnlg1537	0,08**	-0,01ns	9,77	phi127	-0,01ns	-0,09*	4,63
umc1223	-0,02ns	0,08*	4,67	phi053	0,03ns	-0,13**	10,71
bnlg1035	-0,05*	0,06ns	5,35	bnlg197	-0,10*	0,09ns	5,94
bnlg197	-0,07ns	0,16*	6,52	umc1489	-0,18**	0,19**	31,72
bnlg1600	-0,06*	0,04ns	7,35	phi021	0,02ns	-0,08*	4,41
umc2309	-0,08**	-0,01ns	8,33	umc1705	0,00ns	0,09*	4,88
bnlg1432	-0,06*	0,01ns	7,03	umc1006	-0,07*	-0,02ns	5,35
bnlg2097	-0,06*	0,04ns	7,13	umc1015	0,08**	0,02ns	7,39
bnlg1165	-0,07**	0,01ns	7,62	umc1246	-0,00ns	0,10*	5,53
umc1006	-0,07*	-0,04ns	7,39	umc1077	0,01ns	0,15**	8,05
bnlg669	-0,08*	0,03ns	7,24				

Tabela 4. Estimativas dos efeitos aditivos (β_1), de dominância (β_2) e R^2 para os locos, nos ambientes sem estresse e com estresse, safra de 2007, pelo método marca simples

Intervalo entre florescimentos masculino e feminino							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$	Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$
umc1630	-0,41*	-0,16ns	6,74	bnlg1083	-0,60*	0,28ns	5,22
phi064	-0,37*	-0,09ns	5,04	umc1021	0,24ns	-1,05*	6,61
umc2007	-0,43*	0,37ns	7,13	bnlg615	0,02ns	-1,02*	6,25
nc132	-0,30ns	0,51*	7,03	umc1320	-0,80*	0,03ns	6,85
umc1594	0,23ns	-0,52*	6,85	phi079	0,14ns	-1,10**	7,67
bnlg345	-0,43*	-0,08ns	7,66	bnlg2097	-0,86**	0,38ns	10,99
bnlg666	-0,05ns	0,51*	4,49	umc1006	-0,92**	0,57ns	11,95
umc1933	0,06ns	-0,68*	7,06	nc010	-0,67*	0,98*	10,36
umc1077	0,38*	0,40ns	6,24	bnlg345	-0,58*	0,11ns	4,57
umc1038	-0,16ns	0,50*	5,40	phi022	0,49ns	0,81ns	8,79
				bnlg1525	0,83**	-0,26ns	8,38
Altura de Plantas							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$	Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$
umc2224	-0,51ns	4,91*	5,11	phi064	0,64ns	4,86*	4,47
bnlg1083	-4,03**	3,37ns	9,29	umc2007	5,22**	-1,35ns	8,27
umc2007	3,97*	0,91ns	6,11	nc132	3,52ns	-5,02*	8,07
bnlg381	5,76**	5,26*	18,74	umc2254	6,95**	-6,12*	14,15
umc2254	4,46*	-2,48ns	5,78	umc1320	1,45ns	5,13*	4,29
bnlg1035	-3,37*	-0,26ns	5,44	nc135	-3,30*	-0,56ns	5,14
nc135	-3,63**	1,50ns	7,43	umc1276	-3,30*	-2,93ns	5,41
nc004	-4,15**	1,18ns	7,82	umc1705	-0,78ns	-4,84*	4,80
phi021	-4,28**	1,60ns	8,72	mmc0171	-4,05*	-3,45ns	9,80
umc1051	-0,96ns	5,73*	7,44	phi034	-2,01ns	-6,65**	10,91
umc1705	-0,86ns	-4,59*	4,75	umc1984	0,47ns	6,93*	6,16
bnlg1432	3,09*	-0,03ns	4,79	bnlg1375	-2,72ns	-9,79**	21,88
umc1066	-0,95ns	-5,47*	7,08	mzetc34	-4,07**	-3,49ns	8,26
umc1984	1,96ns	8,58**	8,87	phi084	-3,73*	-3,54ns	10,04
bnlg1375	-1,56ns	-6,02**	9,16	umc1077	-3,38*	-0,22ns	4,81
umc1246	-2,26ns	-4,70*	7,92				
phi084	-1,93ns	-6,68**	13,41				
Produção de Grãos							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$	Marca	β_1	β_2	$R^2(\%)$
umc1630	48,70ns	323,41*	4,53	umc1709	-260,14ns	-418,51*	6,01
umc1028	284,72*	204,04ns	4,96	umc1605	72,65ns	383,09*	5,20
bnlg197	-394,02*	766,66**	9,15	umc1823	8,36ns	410,20*	5,46
umc1489	-192,65ns	460,67*	6,68	nc132	310,03*	-174,52ns	5,47
nc010	244,74*	6,11ns	4,28	umc2254	47,57ns	-615,93**	9,05
phi089	-229,23*	166,25ns	6,14	bnlg1523	-292,72*	-97,77ns	6,06
umc1066	-72,65ns	-384,40*	7,09	bnlg197	-532,63**	750,23*	9,90
bnlg1375	-101,19ns	-360,41*	6,59	umc1489	-656,07**	813,96**	24,42
				phi021	157,33ns	-357,73*	5,77

Continua...

Continuação da Tabela 4...

Folhas Mortas							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	R ² (%)	Marca	β_1	β_2	R ² (%)
bnlg1064	-0,01ns	0,02**	9,12	bnlg1064	-0,02ns	0,10**	8,02
bnlg381	-0,00ns	0,02*	6,69	umc2007	-0,02ns	0,09*	6,23
umc2254	0,02**	-0,02ns	9,15	bnlg381	-0,00ns	0,08*	5,07
umc1148	-0,01*	0,00ns	4,86	umc2254	0,02ns	0,11*	9,85
umc1489	0,01*	-0,01ns	5,47	bnlg1638	0,01ns	0,10*	7,38
umc1276	0,00ns	0,02*	4,95	umc2002	0,00ns	0,10**	7,13
phi021	-0,01*	0,01ns	6,59	umc1908	0,02ns	0,09*	6,36
umc1705	0,01*	-0,02*	8,02	umc2263	0,03ns	0,15**	11,53
mzetc34	-0,01*	-0,00ns	5,85	bnlg1035	-0,03ns	0,08*	5,10
umc1077	-0,02**	-0,02ns	11,20	umc1839	0,04ns	-0,06ns	6,62
				bnlg197	0,16**	-0,07ns	19,36
				umc1489	0,21**	-0,17**	46,33
				umc2391	0,05ns	0,06ns	6,50
				umc1153	0,00ns	0,08*	5,03
				umc1319	0,03ns	-0,10*	6,40
Prolificidade							
Sem Estresse				Com Estresse			
Marca	β_1	β_2	R ² (%)	Marca	β_1	β_2	R ² (%)
umc1395	0,03*	0,00ns	4,53	umc1605	0,02ns	0,09*	6,30
umc1709	-0,01ns	-0,05**	8,27	bnlg1064	-0,00ns	-0,10*	6,28
bnlg1537	0,03*	-0,02ns	4,95	bnlg381	-0,03ns	-0,09*	5,87
umc2007	-0,03*	0,00ns	5,54	umc2254	0,01ns	-0,12*	8,28
umc2263	0,01ns	0,04*	4,36	bnlg1904	-0,07*	0,02ns	4,87
bnlg197	-0,04*	0,04ns	4,21	umc2002	-0,02ns	-0,10*	6,93
umc2391	0,03*	-0,00ns	6,29	phi053	0,01ns	-0,09*	5,22
umc1153	0,05**	-0,01ns	12,09	bnlg197	-0,17**	0,18**	18,01
bnlg1600	-0,01ns	0,05*	7,50	umc1489	-0,20**	0,22**	44,42
umc2309	-0,03*	0,01ns	5,73	umc1319	-0,02ns	0,11*	5,52
bnlg1432	-0,02ns	0,05*	7,75				
bnlg2097	-0,03*	0,03ns	7,74				
bnlg1165	-0,01ns	0,04*	7,02				
nc010	-0,01ns	0,04*	5,03				
phi034	-0,00ns	0,04*	5,37				
umc1015	0,03*	-0,01ns	4,53				
umc1562	0,03*	0,00ns	7,05				
phi084	0,03*	0,01ns	6,41				

No método da marca simples, cada marcador é analisado individualmente. Isto, entretanto, compromete identificar se uma marca está ligada a um ou mais QTLs simultaneamente, e assim determinar o número de QTLs em questão. É possível haver confusão de efeitos e posição de QTLs, não havendo distinção entre a ocorrência de um QTL de pequeno efeito situado próximo ao marcador e de um QTL de grande efeito mais distante do mesmo marcador. Além disso, os efeitos genéticos do QTL são subestimados, pois seus estimadores são viesados pela fração de recombinação entre o marcador e o QTL. Esse viés, por sua vez, gera a necessidade de utilizar amostras de tamanho grande na análise (LANDER & BOTSTEIN, 1989). Entretanto, se a abordagem for realizada pelo método da máxima verossimilhança, é possível a estimação dos parâmetros relativos aos efeitos e à distância entre o QTL e o marcador, uma vez que os estimadores de máxima verossimilhança são não viesados (BEARZOTI, 2000). Entretanto, é difícil determinar se o QTL está posicionado à direita ou à esquerda da marca.

3.3. Regiões genômicas de coincidência para os diferentes caracteres

Neste trabalho, um total de 45 regiões genômicas foi coincidente pela análise do método da marca simples, nas safras de 2006 e 2007 (Tabelas 5 e 6).

A partir do momento em que são detectadas regiões de genômicas coincidentes para diferentes caracteres, pode se começar a interpretar este fato como sendo possível relação de pleiotropia.

Tabela 5. Regiões genômicas de coincidência para os diferentes caracteres da safra de 2006

Cromos.	Bin	Macador	Características			
1	1,05	umc1395	IFMFC	APs,c	PGc	PROLs
1	1,06	umc1709*	IFMFC	PROLs		
1	1,06	umc1590	PGc	PROLs,c		
1	1,12	umc1605	PGc	FMc		
2	2,04	umc2007	IFMFC	APs	FMc	
2	2,06	umc2254*	APs,c	PGs,c	PROLc	
2	2,07	mmc0191	FMs	PROLc		
3	3,03	bnlg1523	APs	PGs		
3	3,04	bnlg1638*	IFMFC	APs		
3	3,04	umc1908	APs	PGs		
3	3,04	umc1223	APs	PGs	FMc	PROLs
3	3,05	phi053	PGc	PROLc		
3	3,05	bnlg1035	APs	FMc	PROLs	
3	3,06	bnlg197*	APs,c	PGs,c	FMs,c	PROLs,c
3	3,07	umc1489*	APc	FMs,c	PGs,c	
4	4,01	nc135	IFMFs	APs,c		
4	4,01	umc1276	IFMFs,c	APs	FMs	
4	4,03	nc004	APs,c	FMs		
4	4,03	phi021	APs,c	PROLc		
4	4,08	umc1051	IFMFs	APc		
5	5,03	umc1705	APs	PROLc		
6	6,01	bnlg2097	FMs	PROLs		
8	8,03	umc1984*	APs,c	PGs		
8	8,03	bnlg669	PGs	PROLs		
8	8,08	umc1933*	IFMFC	PGs,c		
10	10,04	umc1077*	IFMFs,c	PGc	FMs	PROLc

Tabela 6. Regiões genômicas de coincidência para os diferentes caracteres da safra de 2007

Cromos.	Bin	Marcador	Caracteres				
1	1,02	bnlg1083	IFMFC	APs			
1	1,06	umc1709*	PGc	PROLs			
1	1,11	phi064	IFMFs	APc			
1	1,11	umc1630	IFMFs	PGs			
1	1,12	umc1605	PGc	PROLc			
2	2,03	bnlg1064	FMsc	PROLc			
2	2,04	bnlg381	APs	PROLc	FMsc		
2	2,04	umc2007	IFMFs	APs,c	FMc	PROLs	
2	2,05	nc132	IFMFs	APc	PGc		
2	2,06	umc2254*	APsc	PGc	FMsc	PROLc	
3	3,04	umc2002	FMc	PROLc			
3	3,04	umc2263*	FMc	PROLs			
3	3,05	bnlg1035	APs	FMc			
3	3,06	bnlg197*	PGsc	FMc	PROLsc		
3	3,07	umc1489*	PGsc	FMsc	PROLc		
3	3,08	umc1320	IFMFC	APc			
4	4,01	umc1276	APc	FMs			
4	4,03	phi021	APs	PGc	FMs		
4	4,06	umc2391	FMc	PROLs			
5	5,03	umc1705	APs,c	FMs			
5	5,09	umc1153	FMc	PROLs			
6	6,01	bnlg1432	APs	PROLs			
6	6,01	bnlg2097	IFMFC	PROLs			
6	6,04	nc010	IFMFC	PGs	PROLs		
7	7,01	umc1066	APs	PGs			
7	7,02	phi034	APc	PROLs			
9	9,07	bnlg1375	APs,c	PGs			
10	10,01	umc1319*	FMc	PROLc			
10	10,04	phi084	APsc	PROLs			
10	10,04	mzetc34*	APc	FMs			
10	10,04	umc1077*	IFMFs	APc	FMs		

Tuberosa et al. (2002) comentam a respeito da co-localização de QTLs por duas ou mais características que podem resultar de: (i) ligação entre dois genes muito próximos que modulam a expressão de mais de um caráter e não são identificados pelo teste estatístico empregado; (ii) um gene com uma única função, mas que conduz a uma sequência de eventos muito relacionados; e (iii) um gene com efeito sobre duas ou mais características.

A interpretação genética das coincidências relatadas para as posições dos QTLs entre diferentes características refere-se à possível ocorrência de efeito pleiotrópico ou de ligação gênica entre os QTLs correspondentes. Entretanto, existem testes estatísticos específicos para a real determinação do estudo da pleiotropia, que não foram realizados neste trabalho.

3.4. Detecção de QTL pelo método de intervalo simples

Visando a contornar os problemas da análise de marcas simples, Lander & Botstein (1989) propuseram o mapeamento por intervalo. A essência do método desenvolvido por Lander & Botstein (1989) é testar a possibilidade de ocorrência do loco controlador da característica (QTL) em uma série de posições dentro de um intervalo flanqueado por dois marcadores. Portanto, são considerados pares de marcas adjacentes. A detecção e a estimação dos efeitos dos QTLs são realizadas dentro de cada intervalo entre marcas, separadamente, utilizando-se o método da máxima verossimilhança. O máximo LOD score sob todas as análises indica a presença de um QTL se for maior do que um ponto de corte predefinido ou estabelecido estatisticamente.

Pela metodologia de mapeamento de QTL por intervalo simples, foram detectados 45 QTLs dispersos no genoma do milho, nos dois ambientes e em dois anos. As informações de posição, LOD, R^2 e efeitos são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Estimativas de posição do QTL, LOD e R² e efeitos gênicos pela metodologia de intervalo simples

Característica	Cr.	Bin	Intervalo entre marcadores		Posição cM	LOD	R ² (%)	Efeito		gmd	*
a								a	d		
IFMFC6	2	2.06-2.04	umc2254	umc2007	15	7,06	1,94		0,64	2,23	SD
IFMFC6	2	2.04-2.05	umc2007	nc132	13	8,95	6,74		0,67	20,21	SD
IFMFC7	6	6.04-6.02	nc010	umc1006	11	9,99	13,36	1,43	1,83	1,28	DC
IFMFC7	6	6.02-6.01	umc1006	bnlg2097	11	5,59	14,14	1,27	1,21	0,95	DP
IFMFC7	6	6.01-6.01	bnlg2097	bnlg1432	8	3,07	9,93	1	0,83	0,82	DP
IFMFC7	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	18	13,53	1,52	1,65	2,66	1,61	DC
APs6	9	9.07-9.07	bnlg1375	bnlg1525	0	6,20	13,51		-7,36	-2,78	SD
APs6	2	2.06-2.04	umc2254	umc2007	12	4,52	0,47		-6,85	-1,15	DC
APs6	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	2	6,27	3,83		10,22	1,85	DC
APc6	7	7.01-7.02	umc1066	phi034	15	7,41	11,91		-8,63	-4,13	SD
APc6	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	0	3,11	9,48	1,04	8,24	7,94	SD
APs7	2	2.03-2.04	bnlg1064	bnlg381	7	4,27	6,67		6,88	1,3	DC
APs7	10	10.04-.04	umc1246	phi084	1	4,35	11,96		-7,39	-2,63	SD
APs7	9	9.07-9.07	bnlg1375	bnlg1525	4	5,84	7,9		-8,76	-3,37	SD
APs7	7	7.00-7.01	mmc0171	umc1066	2	6,61	8,19		-9,01	-12,62	SD
APc7	10	10.04-.04	umc1246	phi084	11,5	3,04	10,04	4,44	-4,25	-0,96	DP
APc7	9	9.07-9.07	bnlg1375	bnlg1525	1	10,04	18,22		-11,51	-3,6	SD
APc7	2	2.06-2.04	umc2254	umc2007	9	5,12	17,25	7,96	-8,55	-1,07	DC
APc7	2	2.04-2.05	umc2007	nc132	23	5,36	4,51		-8,08	-2,78	SD
PGs6	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	23	5,70	16,57	602,96	1280,4	2,12	SD
PGs6	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	13	5,00	18,22	571,75	1147,5	2,01	SD
PGc6	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	22	11,54	20,69	709,99	981,34	1,38	DC

*Relações de SD (sobredominância), DC (dominância completa), DP (dominância parcial).

Continuação da Tabela 7...

Característica	Cr.	Bin	Intervalo entre marcadores		Posição cM	LOD	R ²	Efeitos		gmd	*
								a	d		
PGs7	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	17	4,88	5,15		701,08	2,08	SD
PGc7	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	24	5,58	4,46	553,85		1,37	DC
PGc7	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	18	11,27	22,65	761,69	897,92	1,18	DC
FMs6	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	17	15,24	9,71	0,01	-0,02	-2,02	SD
FMs6	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	17	12,69	6,94	0,02	-0,03	-1,68	DC
FMc6	3	3.04-3.02	bnlg1904	bnlg1325	12	28,21	4,15	0,17	-0,21	-1,2	DC
FMc6	1	1.12-1.11	umc1605	umc1630	16	20,41	8,14	0,15	-0,17	-1,08	DC
FMc6	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	24	36,29	10,88	0,22	-0,15	-0,69	DP
FMc6	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	14	47,78	30,98	0,23	-0,17	-0,73	DP
FMs7	2	2.06-2.04	umc2254	umc2007	6	4,39	10,34	0,02	-0,02	-1,04	DC
FMs7	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	15	10,51	3,33		0,04	6,95	SD
FMc7	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	24	136,70	18,07	0,32	-0,19	-0,59	DP
FMc7	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	9	99,06	31,84	0,31	-0,23	-0,75	DP
PROLs6	1	1.05-1.06	umc1395	umc1590	10,7	3,37	13,95	0,08	-0,08	-0,97	DP
PROLc6	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	22	25,68	4,53	0,25	0,31	1,23	DC
PROLc6	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	17	32,13	29,17	0,25	0,29	1,12	DC
PROLc7	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	23	38,3	14,84	0,26	0,31	1,21	DC
PROLc7	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	11	48,56	31,56	0,28	0,29	1,02	DC
PREL06	3	3.05-3.04	bnlg1035	umc2002	13	5,38	9,89		-0,14	-1,89	DC
PREL06	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	2	4,68	1,09	0,14	-0,22	-1,6	DC
PREL06	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	21	9,00	18,9	0,17	0,17	0,99	DP
PREL07	3	3.04-3.06	umc2263	bnlg197	22	6,81	8,29	0,16		0,85	DP
PREL07	3	3.06-3.07	bnlg197	umc1489	16	18,14	23,54	0,22	0,2	0,92	DP

*Relações de SD (sobredominância), DC (dominância completa), DP (dominância parcial).

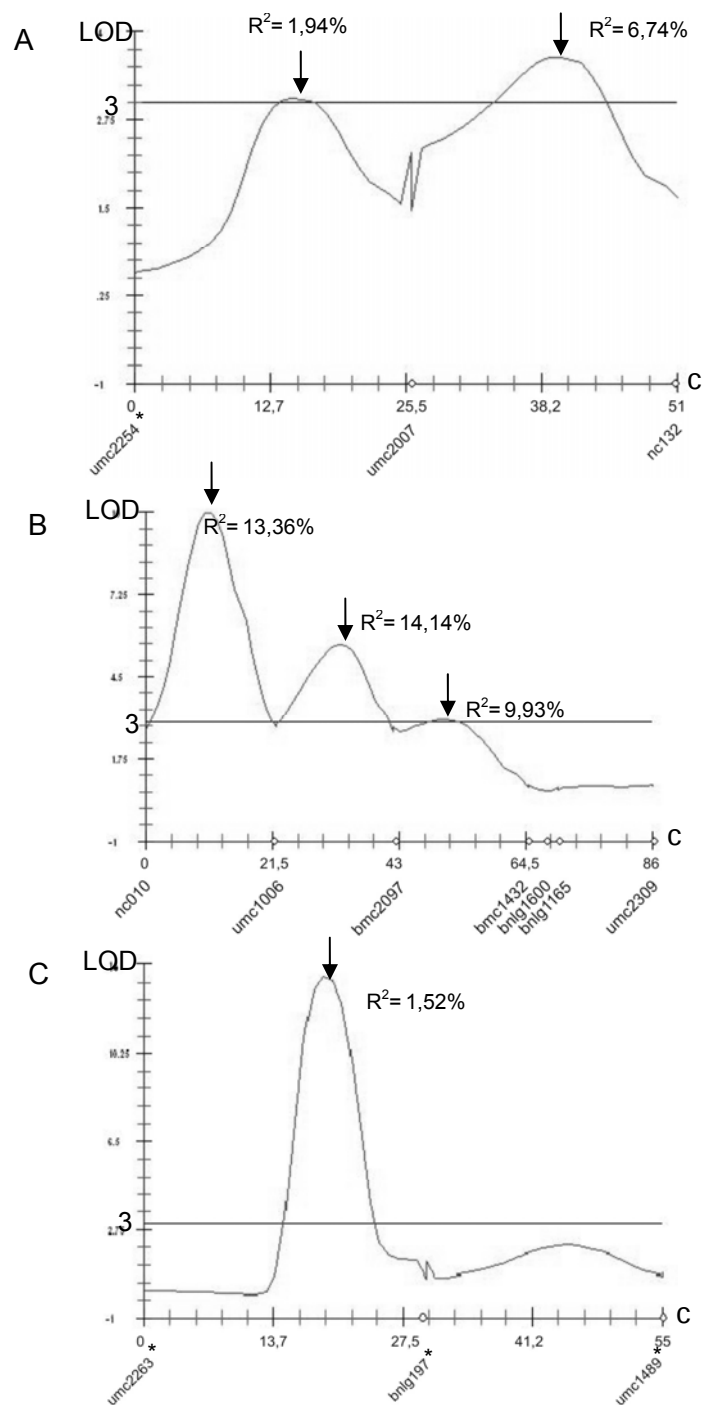


Figura 2. Detecção QTLs para o intervalo entre florescimentos masculinos e femininos (setas)

A: IFMF, com estresse, 2006, cromossomo 2

B: IFMF, com estresse, 2007, cromossomo 6

C: IFMF, com estresse, 2007, cromossomo 3

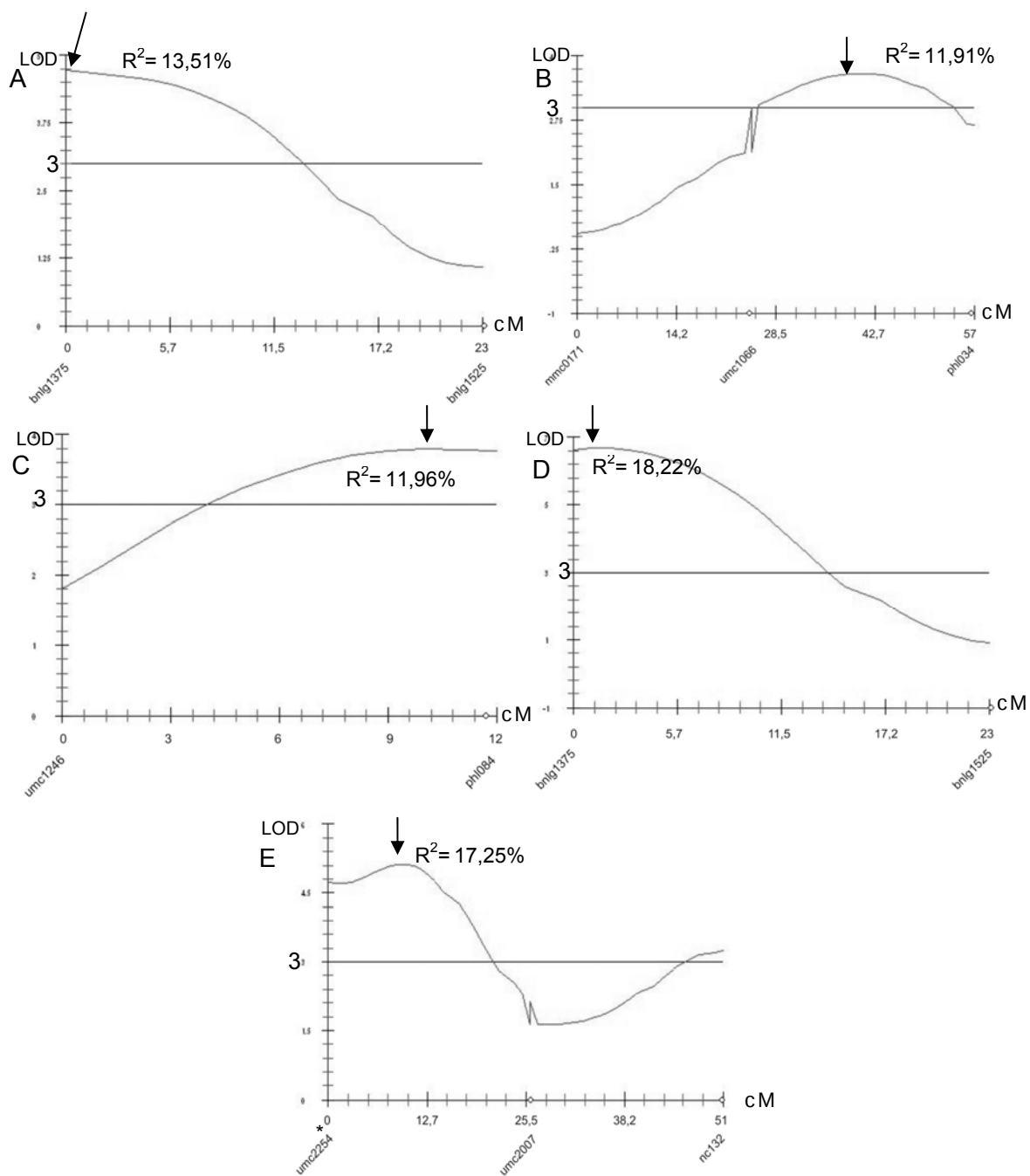


Figura 3. Detecção QTLs para altura de plantas (setas)

- A: AP, sem estresse, 2006, cromossomo 9
- B: AP, com estresse, 2006, cromossomo 7
- C: AP, sem estresse, 2007, cromossomo 10
- D: AP, com estresse, 2007, cromossomo 9
- E: AP, com estresse, 2007, cromossomo 2

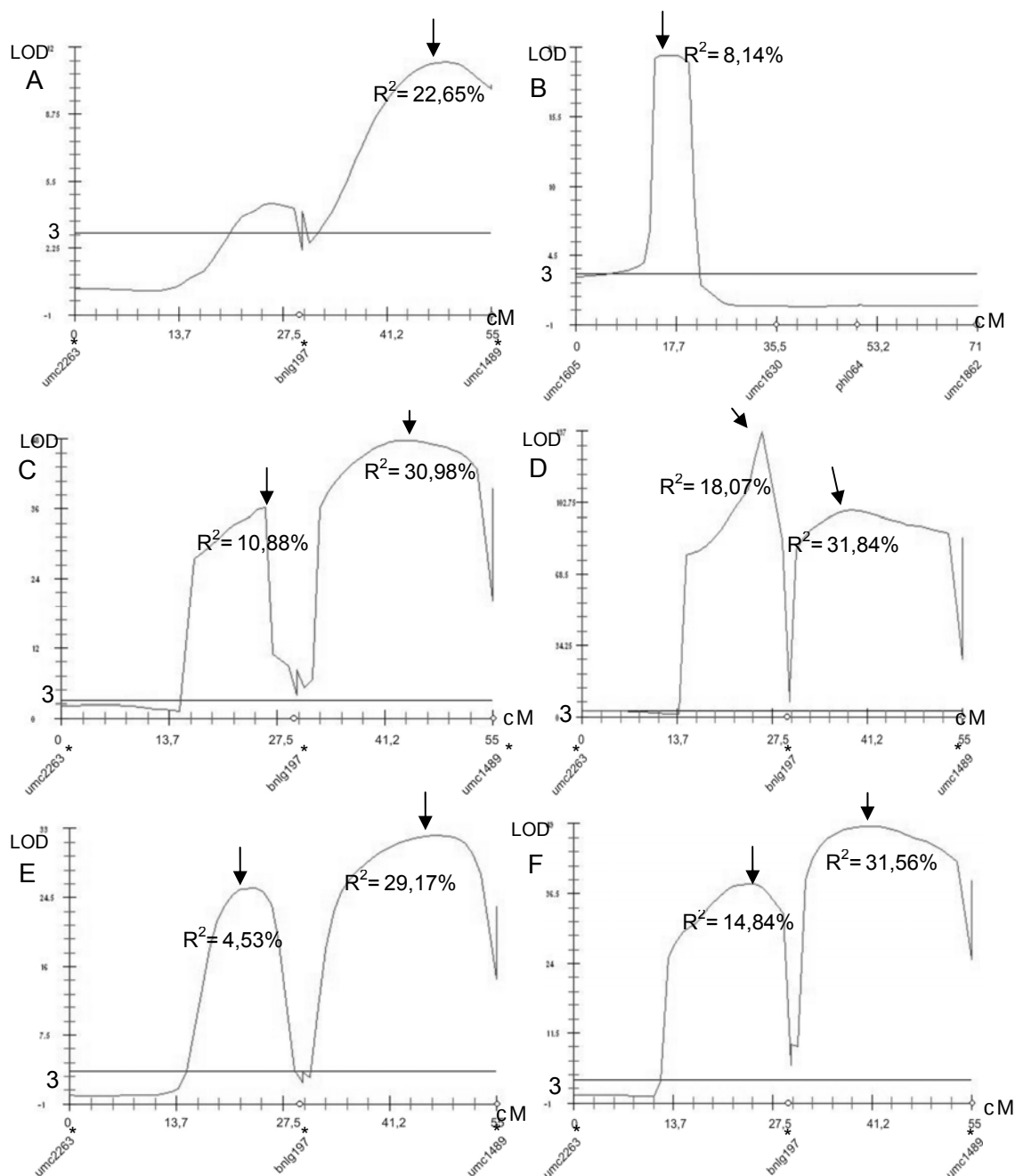


Figura 4. Detecção QTLs para produção de grãos, folhas mortas e prolificidade (setas);

A: PG, com estresse, 2007, cromossomo 3

B: FM, com estresse, 2006, cromossomo 1

C: FM, com estresse, 2006, cromossomo 3

D: FM, com estresse, 2007, cromossomo 3

E: PROL, com estresse, 2006, cromossomo 3

F: PROL, com estresse, 2007, cromossomo 3

Neste experimento foram detectados 2 QTLs de efeito maior para o intervalo entre os florescimentos masculino e feminino, ambos no ambiente com estresse, ano 2007. No cromossomo 6, no intervalo entre os marcadores umc1006-nc010, o QTL encontrado explicou 13,36% da variação fenotípica (Figura 2- B), enquanto, o outro no intervalo bnlg2097-umc1006, explicou 14,14% da variação fenotípica (Figura 2- B).

Vargas et al. (2006) detectaram QTLs para o intervalo entre florescimentos, com efeito gênico aditivo nos cromossomos 1, 2, 6, 8 e 10. Foram detectados QTL reais nas posições de 137 e 78 cM dos cromossomos 2 e 6, respectivamente. No cromossomo 2, o QTL de efeito aditivo (-0,45) explicou 4,35% da variação fenotípica e no cromossomo 6, o QTL de efeito aditivo (-0,53) explicou 6,37% da variação fenotípica.

Para a característica altura de plantas, destacam-se os QTLs detectados, no ano de 2006, nas condições sem e com estresse nos cromossomos 9 e 7 (Figuras 3- A, B), respectivamente, os quais explicaram 13,51 e 11,91% da variação fenotípica. Da safra de 2007, na condição sem estresse, um QTL, no intervalo umc1246-phi084, no cromossomo 10, explicou 11,96% da variação fenotípica (Figura 3- C). Na condição com estresse, 2 QTLs nos cromossomos 9 e 2 explicaram 18,22 e 17,25% (Figuras 3- D, E) da variação fenotípica, respectivamente.

No cromossomo 3, no intervalo entre os marcadores bnlg197-umc1489 (bin 3.06-3.07), o QTL encontrado para a característica altura de plantas que explicou 9,48% da variação fenotípica, apresenta-se em concordância com o detectado por Guo et al. (2008). Guo et al. (2008) detectaram um QTL, para altura de plantas, no cromossomo 3, no intervalo umc1266-umc2050, no bin 3.06-3.07, mais próximo do marcador phi053, explicando 1,97% da variação fenotípica.

Lima et al. (2006) detectaram um QTL para altura de plantas na região dupssr17-umc1659 (bin 3.06-3.07) a 128 cM explicando 6,03% da variação fenotípica. Sari-Gorla et al. (1999) também detectaram QTLs para altura de plantas, para condição de estresse, nos cromossomos 1, 2, e 7, que explicaram 7,4%, 7,1% e 11,7% da variação fenotípica, respectivamente.

Para o caráter produção de grãos, foram detectados 6 QTLs no cromossomo 3. Dentre estes, no intervalo bnlgl197-umc1489 (bin 3.06-3.07) explicaram 18,22%, 20,69% e 22,65% da variação fenotípica (Figura 4– A), nos ambientes sem e com estresse, ano 2006 e com estresse em 2007. Outra detecção foi no intervalo umc2263-bnlgl197, entre os bins 3.04-3.06, explicou 16,57% da variação fenotípica. Todos os QTLs detectados no intervalo bnlgl197-umc1489 (bins 3.06-3.07) apresentaram coerência com o detectado por Câmara (2006). Este autor detectou um QTL, no cromossomo 3, no intervalo bnlgl197-dupssr17, no bin 3.06-3.07, explicando 1,16% da variação fenotípica.

Lima et al. (2006) detectaram QTLs para a produção de grãos em população F_{2:3} de milho tropical, no cromossomo 3, entre os marcadores, dupssr17-umc1659 (bin 3.06-3.07), explicando 4,35% da variação fenotípica. No intervalo umc1025-phi053 (bin 3.04-3.05), um QTL, explicando 3,02% da variação fenotípica.

Quanto ao caráter senescência foliar, destaca-se um QTL, no cromossomo 3, no intervalo bnlgl197-umc1489, no ambiente com estresse. Este QTL explicou 30,98%, e 31,84% da variação fenotípica, em ambos os anos. Outra região, no intervalo umc2263-bnlgl197 (bin 3.04-3.06), explicou 18,07% da variação fenotípica (Figura 4- C, D).

Dentre estas regiões genômicas, o intervalo entre os bins 3.02-3.04, flanqueada pelos marcadores bnlgl1904-bnlgl1325 a 12 cM, é concordante com o detectado por Câmara (2006) no intervalo bnlgl1647- bnlgl1904 (bins 3.02-3.04) a 11,37 cM.

O QTL localizado no intervalo bnlgl197-umc1489 entre os bins 3.06-3.07 apresentou coerência com o detectado por Zheng et al. (2009). Estes autores detectaram um QTL, no cromossomo 3, no intervalo umc1266-umc2050, no bin 3.06-3.07, para o caráter “stay-green” em milho. Este QTL também foi consistente com o detectado por Câmara (2006) no intervalo bnlgl197-dupssr17.

Dois QTLs para “stay-green” em sorgo, o *Stg1* e o *Stg2*, foram mapeados no cromossomo 3 (Subduhi et al. 2000, Xu et al. 2000, Harris et al. 2007), nos intervalos de 135-150 cM e 105-125 cM,

respectivamente, segundo o mapa de referência de sorgo (<http://sorgblast3.tamu.edu/pklein.htm>). Considerando o mapeamento comparativo entre os genomas das gramíneas, região das posições 40 a 110 cM no cromossomo 3 de sorgo, é sintênica à região terminal do cromossomo 1 de arroz, que por sua vez é sintênica à região entre os bins 3.03 e 3.05 de milho, onde se localiza o marcador bnlgl1904, também associado com a proporção de folhas mortas e produção relativa nos anos de 2006 e 2007.

Para o caráter prolificidade, duas regiões no cromossomo 3, umc2263-bnlgl197 (bin 3.04-3.06) e bnlgl197-umc1489 (bin 3.06-3.07), tiveram detecção confirmada em ambos os anos de plantio, no ambiente com estresse (Figuras 4- E, F). Os QTLs explicaram 4,53 e 14,84% da variação fenotípica (anos 2006 e 2007; bin 3.04-3.06); 29,17 e 31,56% da variação fenotípica (anos 2006 e 2007; bin 3.06-3.07). Este resultado foi coerente com o detectado por Câmara (2006) no intervalo bnlgl1904-phi029 (bin 3.04), explicando 2,52% da variação fenotípica.

Características quantitativas, geralmente, apresentam muitos QTLs segregando, cada um com pequenos efeitos individuais. O resultado é que os efeitos, das regiões individuais, não são facilmente identificados. Portanto, múltiplas regiões genômicas devem ser manipuladas ao mesmo tempo para se ter um impacto significativo. Por esta razão, réplicas dos experimentos em campo são necessárias para caracterizar com acurácia os efeitos dos QTLs e para avaliar sua estabilidade nos diferentes ambientes. Os resultados deste estudo indicam que a detecção do QTL foi diferencial em razão das variações ambientais, com estresse e sem estresse hídrico, de um ano para outro. Esta mesma situação foi relatada por Beavis et al. (1991) e Melchingher et al. (1998), que verificaram QTLs não consistentes em três experimentos independentes, repetidos com o mesmo background genético.

Outro fato importante é que a detecção de QTLs é influenciada pelo tamanho da população de mapeamento e pelo efeito do QTL (LYNCH & WALSH, 1998), o que compromete neste estudo a detecção de QTLs de efeito menor, pelo reduzido número de famílias avaliadas.

As estratégias dos programas de seleção assistida por marcadores estão em prever quais genótipos apresentam alelos favoráveis, para que sejam ranqueados em linhagens elite. A partir das informações genéticas geradas pela caracterização de diferentes regiões genômicas, da interação QTL x ambiente, pelo acesso a QTLs estáveis em vários ambientes, há a possibilidade de obter importantes avanços para o melhoramento genético (SUBUDHI et al., 1999).

A seleção de genótipos que apresentam bons desempenhos em vários ambientes, podendo ser estes em condições de estresse ou em condições favoráveis, é prática dos programas de melhoramento. Desta forma, a identificação de QTLs que demonstram consistência na expressão ao longo de vários ambientes, mesmo em ambientes adversos, tem sido de grande interesse para os melhoristas, a fim de praticar a seleção assistida por marcadores.

A identificação de QTLs estáveis para vários ambientes representa elemento alvo para o sucesso de programas de seleção assistida por marcadores (SAM). As informações geradas no mapeamento de QTLs podem ser efetivamente usadas na construção de mapas consensos para a investigação de vários atributos, como a tolerância ao estresse hídrico, a partir da identificação de regiões genômicas alvo, aquelas que acumulem a maioria dos QTLs/genes candidatos entre os cruzamentos e ambientes (VARGAS et al., 2006).

4. CONCLUSÕES

Foi gerado um mapa de ligação com 82 marcadores microssatélites, cobrindo 825,03 cM do genoma do milho, com um marcador em média a cada 20 cM.

Foram mapeados 45 QTLs pela metodologia de intervalo simples: seis para intervalo entre florescimentos, treze para altura de plantas, seis para produção de grãos, dez para folhas mortas, cinco para prolificidade e cinco para produção relativa.

Os QTLs mapeados nesta população podem ser úteis em programas de melhoramento baseado em seleção assistida por marcadores.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEARZOTI, E. Mapeamento de QTL. In: PINHEIRO, J.B. **Análise de QTL no melhoramento de plantas**: Segunda jornada em Genética e melhoramento de plantas. Goiânia: FUNAPE, p. 63-209, 2000.

BEAVIS, W.D.; GRANT, D.; ALBERTSEN, M.; FINCHER, R. Quantitative trait loci for plant height in four maize populations and their associations with qualitative genetic loci. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 83, p. 141-145, 1991.

BENTO, D.A.V. **Mapeamento de QTLs para produção de grãos e seus componentes em uma população de milho tropical**. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 133p. Piracicaba, 2006.

CÂMARA, T.M.M. **Mapeamento de QTLs de caracteres relacionados à tolerância ao estresse hídrico em milho tropical**. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 133p. Piracicaba, 2006.

CARNEIRO, M.S.; VIEIRA, M.L.C. Mapas genéticos em plantas. **Bragantia**, Campinas, v.61, n. 2, p. 89-100, 2002.

DOERGE, R. Constructing genetics maps by rapid chain delineation. **Journal of Quantitative Trait Loci**, v. 2, article 6, 1996. Disponível em: <http://probe.nalusda.gov:8000/otherdocs/iqtl>>.

FASOULA, V.A.; HARRIS, D.K.; BOERMA, R.H. Validation and designation of quantitative trait loci for seed protein, seed oil and seed weight from two soybean populations. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1218-1225, 2004.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220p.

GAUT, B.S.; d'ENNEQUIN, M.L.T.; PEEK, A.S.; SAWKINS, M.C. Maize as a model for the evolution of plant nuclear genomes. **Proceedings of National Academy of Science (USA)**, Washington, n. 13, v. 97, p. 7008-7015, 2000.

GRANT, V. **Genetics of flowering plants**. Columbia University Press, New York, 1975.

GUO, J.; SU, G.; ZHANG, J.; WANG, G. Genetic analysis and QTL mapping of maize yield and associate agronomic traits under semi-arid land condition. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, p. 1829-1838, 2008.

GQMOL, <http://www.ufv.br/dbg/gqmol/gqmol.htm>

HALEY, C.S.; KNOTT, S.A. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. **Heredity**, v. 69, p. 315-324, 1992.

HARRIS K, SUBUDHI PK, BORRELL A, JORDAN D, ROSENOW D, NGUYEN H, KLEIN P, KLEIN R, MULLET J. Sorghum stay-green QTL individually reduce post-flowering drought-induced leaf senescence. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 327-338, 2007.

JIANG, C.; ZENG, Z. Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v. 140, n. 3, p. 1111-1127, 1995.

KAO, C.H.; ZENG, Z.B.; TEASDALE, R. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v. 152, p. 1023-1216, 1999.

KOSAMBI, D.D. The estimation of map distances from recombination values. **Ann Eugen.** v. 12, p. 172-175, 1944.

LANDER, E.S.; BOTSTEIN, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, Baltimore, v.121, p. 185-199, 1989.

LIMA, M.L.A.; JR. SOUZA, C.L.; BENTO, D.A.V.; SOUZA, A.P. de; CARLINI-GARCIA, L.A. Mapping QTL for grain yield and plant traits in a tropical maize population. **Molecular Breeding**, v. 17, p. 227-239, 2006.

LIU, H.B. **Statistical Genomics, linkage, mapping and QTL analysis**. CRC, Boca Raton, Floreida, p. 611. 1998.

LYNCH, M. & WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland, USA: Inc. Ed., Sinauer: Canada. 980p., 1998.

MAIZEGDB. <http://www.maizegdb.org/ssr.php>

MAIZESEQUENCE. <http://www.maizesequence.org>

MELCHINGER, A.E.; UTZ, H.F.; SCHON, C.C. Quantitative trait loci (QTL) mapping using different testes and independent population samples in maize reveals low power of QTL detection and large bias in estimates of QTL effects. **Genetics**, Baltimore, v. 149, p. 383-403, 1998.

OLIVEIRA, R.P. de; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; CRISTOFANI, M.; MACHADO, M.A. Skewed RAPD markers in linkage maps of *Citrus*. **Genetics Molecular Biology**. n. 3, v.27, p. 2004.

RIBAUT, J.M.; JIANG, C.; GONZALEZDELEON, D.; EDMEADES, G.O.; HOISINGTON, D.A. Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 94, n. 6-7, p. 887-896, 1997.

SAGHAI-MAROOF, M.A.; SOLIMAN, K.A.; JORGENSEN, R.A.; ALLARD, R.W. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. **Proceedings of National Academy of Science (USA)**, Washington, v. 81, p. 8014-8018, 1984.

SARI-GORLA, M. KRAJEWSKI, P.; FONZO, N. Di; VILLA, M.; FROVA, C. Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers. II. Plant height and flowering. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 99, n. 1-2, p. 289-295, 1999.

SAX, K. The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. **Genetics**, Baltimore, v.8, p. 552-560, 1923.

SOLLER, M.; BRODY, T. On the power of experimental designs for the detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses

between inbred lines. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 47, p. 35-39, 1976.

SUBUDHI, P.K.; MAGPANTAY, G.B.; ROSENOW, D.T.; NGUYEN, H.T. Mapping and marker assisted selection to improve the stay-green trait for drought tolerance in sorghum. In: O. Ito, J. O'Tool, and B. Hardy (eds), Genetic Improvement of Rice for Water Limited Environments, 353pp. Proceedings of the Workshop on Genetic Improvement of Rice for Water Limited Environments (Los Banos, Manila, Philippines, 1-3 December 1998). International Rice Research Institute, Los Banos. 1999.

SUBUCHI, P.K.; ROSENOW, D.T.; NGUYEN, H.T. Quantitative trait loci for the stay-green trait in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench): consistency across genetic backgrounds and environments. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 101, p. 733-741, 2000.

TASMA, I.M.; LORENZEN, L.L.; GREEN, D.E.; SHOEMAKER, R.C. Mapping genetic loci for flowering time, maturity, and photoperiod insensitivity in soybean. **Molecular Breeding**, v. 8, p. 25-35, 2001.

TUBEROSA, R.; SALVI, S.; SANGUINETI, M. C.; LANDI, P.; MACCAFERRI, M.; CONTI, S. Mapping QTLs regulating morpho-physiological traits and yield: Case studies, shortcomings and perspectives in drought-stressed maize. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 941-963, 2002.

VARGAS, M; EEUWIJK van, F.A.; CROSSA, J.; RIBAUT, J-M. Mapping QTLs and QTL x environment interaction for CIMMYT maize drought stress program using factorial regression and partial least squares methods. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 112, p. 1009-1023, 2006.

VELDBOOM, L.R.; LEE, M. Molecular-marker-facilitated studies of morphological traits in maize. II. Determination of QTLs for grain yield and yield components. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 89, p. 451-458, 1994.

VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16, p. 123-132, 2005.

XIAO, Y.N.; LI, X.H.; GEORGE, M.L.; LI, M.S.; ZHANG, S.H.; ZHENG, Y.L. Quantitative trait locus analysis of drought tolerance and yield in maize in China. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 23, p. 155-165, 2005.

XU, S.; VOGI, C. Maximum likelihood analysis of quantitative trait loci under selective genotyping. **Heredity**, v. 84, p.525-537, 2000.

XU, S. Quantitative trait locus mapping can benefit from segregation distortion. **Genetics**, Baltimore, v. 180, p. 2201-2208, 2008.

YANAGIHARA, S.; MCCOUCH, S.R.; ISHIKAWA, K.; OGI, Y.; MARUYAMA, K.; IKEHASHI, H. Molecular analysis of the inheritance of the S-5 locus, conferring wide compatibility in *Indica japonica* hybrids of rice. (*O. sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 90, p. 182-188, 1995.

YANG, W.; WEAVER, D.B.; NIELSEN, B.L.; QIU, J. A preliminary genetic linkage map of soybean using an intraspecific cross of two cultivars: 'peking' and 'lee'. **Soybean Genetics Newsletter**, v. 27. 2000.

ZENG, Z.-B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v. 136, n.9, p. 1457-1468, 1994.

ZHANG, W.K.; WANG, Y.J.; LUO, G.Z.; ZHANG, J.S.; HE, C.Y.; WU, X.L.; GAI, J.Y.; CHEN, S.Y. QTL mapping of ten agronomic traits on the soybean (*Glycine mas* L. Merr.) genetic map and their association with EST markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 108, p. 1131-1139, 2004.

ZHENG, H.J.; WU, A.Z.; ZHENG, C.C.; WANG, Y.F.; CAI, R.; SHEN, X.F.; XU, R.R.; LIU, P.; KONG, L.J.; DONG, S.T. QTL mapping of maize (*Zea mays*) stay-green traits and their relationship to yield. **Plant Breeding**, Berlin, v. 128, p. 54-62, 2009.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)