**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Herança da senescência retardada em milho

Emiliano Fernandes Nassau Costa

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Genética e Melhoramento de Plantas**

**Piracicaba
2007**

Emiliano Fernandes Nassau Costa
Engenheiro Agrônomo

Herança da senescência retardada em milho

Orientador:
Prof. Dr. CLÁUDIO LOPES DE SOUZA JÚNIOR

**Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre
em Agronomia. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas**

Piracicaba
2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Costa, Emiliano Fernandes Nassau
Herança da senescência retardada em milho / Emiliano Fernandes Nassau
Costa. - - Piracicaba, 2007.
56 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Combinação genética 2. Cruzamento vegetal 3. Expressão gênica 4.
Hereditariedade 5. Linhagens vegetais 6. Milho 7. Seleção genética I. Título

CDD 633.15

Dedicatória

Este trabalho é dedicado aos meus pais:
Enio Fernandes Costa (*in memoriam*) e Maria Nilma Nassau Costa

Agradecimentos

A Deus, por tudo;

A CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado;

Ao prof. Dr. Cláudio Lopes de Souza Júnior, pela orientação, incentivo, paciência, amizade e exemplo profissional;

Aos docentes do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pelos ensinamentos transmitidos;

Às minhas irmãs, Graziella e Mayara e ao meu sobrinho Bernardo que sempre acreditaram em mim e me deram força;

Aos meus tios e tias, em especial à Iraci e Luíza, pelo apoio decisivo em muitos momentos importantes;

Aos colegas de laboratório Diego V. Faleiro e Silva, Dyeme A. V. Bento, Geovani Ferreira Alves, Gustavo Vitti Moro, Mateus Figueiredo Santos, Pedro Radi Belícuas, Roberto Fritsche Neto, Sanzio C. L. Barrios, Sidney Netto Parentoni, Tassiano M. M. Câmara e Vítor Hugo B. Barbieri, pelo auxílio nos trabalhos de campo e laboratório e pelo companheirismo;

Aos funcionários do Departamento de Genética;

Aos amigos de Piracicaba e Paulínia, André Teixeira, José Manoel Colombari, Marco Barona, Bertha Augurto, Carolina Monteiro, Giselle de Carvalho, Lorraine, Paula Martins, Priscila Gratão, Salete Gaziola, Hugo César e João Paulo;

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização do presente trabalho;

Enfim, a todos que de certa forma contribuíram para o sucesso da minha passagem por Piracicaba.

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Stay-green	10
2.2. Análise Dialética	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Material genético	18
3.2 Execução experimental	19
3.2.1 Ambientes de avaliação e delineamento experimental	19
3.2.2 Caracteres avaliados	20
3.3 Análises Estatístico-Genéticas	21
3.3.1 Análises de variâncias	21
3.3.2 Estimativas de componentes quadráticos e coeficiente de determinação genotípico	23
3.3.3 Análise dialética	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1 Análises de Variâncias Individuais	31
4.2 Análise de Variância Conjunta	32
4.4 Estimativas de variâncias, de variabilidade genética e coeficiente de determinação genotípico	34
4.5 Análise Dialética	35
5 CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	47

RESUMO

Herança da senescência retardada em milho

A informação sobre o tipo de herança de um caráter considerado para fins de seleção é de extrema importância para o sucesso dos programas de melhoramento. O caráter senescência retardada, usualmente chamado de stay-green, tem sido relacionado em diversas culturas à tolerância a estresses abióticos, principalmente ao estresse devido à seca. Embora a maioria dos híbridos de milho comerciais sejam stay-green, as informações sobre o seu tipo de herança são muito limitadas. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar a herança do caráter stay-green em milho tropical. O material genético utilizado incluiu 55 linhagens de diversas origens, a fim de representar a variabilidade genética em milho tropical. Foram realizados cruzamentos dialélicos parciais, onde 50 linhagens foram cruzadas com outras 5 linhagens utilizadas como testadoras, originando 250 cruzamentos. Os 250 cruzamentos e seis híbridos comerciais foram avaliados em 8 ambientes no delineamento de látice simples 16x16 com duas repetições. O caráter stay-green foi avaliado em cinco plantas competitivas por parcela, 120 dias após a semeadura, através de uma escala de notas visual de 1 a 5, onde a nota 1 se referia às plantas verdes e a nota 5 às plantas secas. Foi necessário tomar dados de florescimento feminino para utilizá-los como covariável nas análises estatísticas e corrigir as diferenças de maturação entre os cruzamentos. A análise de variância dialélica foi realizada de acordo com o método 4 do modelo 1 de Griffing (1956), adaptado para dialelos parciais em múltiplos ambientes. A capacidade geral de combinação (CGC), tanto para as linhagens como para os testadores, e a capacidade específica de combinação (CEC) foram altamente significativas ($P \leq 0,01$), mostrando que tanto a CGC como a CEC contribuíram significativamente para a expressão do caráter. Porém a contribuição da CGC foi de 69,06% e a da CEC foi de 30,94% para a variação entre cruzamentos, indicando que os efeitos aditivos, relacionados à CGC, são mais importantes que os efeitos não aditivos (dominância e epistasia), que são relacionados à CEC, na variação dos cruzamentos. Tanto a CGC como a CEC interagiram significativamente com o ambiente, evidenciando que estes parâmetros não são consistentes nos diversos ambientes. Então, a seleção para o caráter stay-green deve ser baseada em médias de experimentos avaliados com repetições em diversos ambientes.

Palavras-chave: Milho; Senescência retardada; Stay-green; Capacidade geral de combinação; Capacidade específica de combinação

ABSTRACT

Inheritance of the delayed senescence trait in Maize

Information on the inheritance of traits to be selected is of paramount importance for the success of breeding programs. The trait delayed senescence, usually named “stay-green” trait, has been related to tolerance to abiotic stresses, mainly drought stress, in several crop species. Although the majority of commercial maize hybrids are “stay-green”, limited information are available on its inheritance. Thus, this research was conducted to study the inheritance of the stay-green trait in tropical maize. The genetic material included 55 inbred lines from several sources to represent the genetic variation of tropical maize. Fifty inbred lines were crossed to 05 inbreds as testers following the partial diallel cross design, giving rise to 250 single crosses. The crosses and six commercial hybrids, 256 entries, were evaluated at eight environments using a 16 x 16 lattice design with two replications per environment. The stay-green trait was recorded 120 days after sowing, in five competitive plants per plot, following a visual note scale, i.e., from 1 to 5, where 1 refers to green plants and 5 to no-green plants. Also, the trait days to mid-silking was recorded and used as covariate to correct for differences of maturing among crosses. The analysis of variance of the diallel crosses was computed following the method 4 model 1 of Griffing (1956) extended to multiple environments. The general combining ability (GCA) for both the inbreds and the testers, and the specific combining ability (SCA) were all highly significant ($P \leq 0.01$), showing that GCA as well as SCA contribute significantly for the expression of the trait. However, the contribution of the GCA was 69.06% and of the SCA was 30.94% for the variation among the crosses, indicating that the additive effects, which are related to GCA, are more important than the non-additive effects (dominance and epistasis), which are related to SCA, for the variation of the crosses. Both GCA and SCA interacted significantly with the environments, showing that these parameters were not consistent across the environments. Thus, selection for the stay-green trait should be based on the means of experiments evaluated in several environments.

Key-words: Maize; Delayed senescence; Stay-green; General combining ability; Specific combining ability

1 INTRODUÇÃO

O milho cultivado na maioria das regiões tropicais sofre redução de até 50% na produção devido ao estresse provocado pelo déficit hídrico (EDMEADES et al., 1997). Resultados de pesquisas obtidos nas duas últimas décadas demonstraram que somente a utilização de irrigação não resolve o problema do déficit hídrico. Dados do IBGE (2004) indicam que de um potencial produtivo de 250 milhões de toneladas de milho, mais de 15 milhões foram perdidas no período de 1996 a 2002 no Brasil devido a fatores abióticos. A perda média nacional neste período foi em torno de 6,1%, sendo que em algumas regiões, como na Paraíba, foram relatadas perdas superiores a 92% na safra de 1998. Segundo Araus et al. (2002) o déficit hídrico é o principal fator abiótico limitante da produtividade em cereais.

Edmeades et al. (1997) relatam que o melhoramento genético pode reduzir de 15 a 25% as perdas de produção devido ao déficit hídrico. Chapman e Edmeades (1999), em um estudo realizado com milho para tolerância à seca, sugerem que os caracteres relacionados ao estresse hídrico em milho são: stay-green, prolificidade e intervalo entre o florescimento masculino e feminino. Assim, os genótipos com elevada senescência retardada (stay-green), alta prolificidade e reduzido intervalo entre florescimentos são menos afetados por estresses hídricos.

A senescência retardada em vegetais, denominada “stay-green”, é um caráter descrito em diversas espécies e vem sendo objeto de grande atenção por estar relacionado à resistência ao estresse hídrico, aumento da tolerância a pragas e doenças, redução do acamamento de plantas, tolerância ao maior adensamento, e tem sido relacionada, também, ao aumento da produtividade direta e indiretamente. Devido a isso, este caráter é, atualmente, considerado de muita importância nos programas de melhoramento.

A base genética do stay-green tem sido estudada em diversas culturas como feijão, sorgo e girassol (JOSHI et al., 2007), porém em milho as informações são muito limitadas, não existindo muitas informações em germoplasma tropical. O conhecimento sobre o tipo de herança de um caráter considerado para fins de seleção é um pré-requisito para que o programa de melhoramento obtenha sucesso. Uma metodologia

utilizada para esta finalidade é a análise genética utilizando-se de cruzamentos dialélicos, pois este delineamento fornece informações sobre a capacidade geral de combinação que está relacionada aos efeitos aditivos, e sobre a capacidade específica de combinação, que está relacionada aos efeitos não-aditivos, ou seja, de dominância e epistasia.

Devido à importância do caráter stay-green no desenvolvimento de cultivares de milho tolerantes ao estresse hídrico, e da importância de estudá-lo sob condições tropicais, o presente trabalho teve como objetivo estudar a herança deste caráter em milho tropical utilizando-se de cruzamentos dialélicos. Especificamente, estimar os efeitos aditivos e não-aditivos e as suas importâncias relativas na expressão deste caráter.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Stay-green

A senescência em vegetais é o estágio de desenvolvimento final; esta é uma importante fase do desenvolvimento das plantas, e quando as folhas atingirem certa idade ou quando a fase reprodutiva atingir certo estágio, ela ocorrerá mesmo que as plantas estejam sendo cultivadas em condições favoráveis. No entanto, a senescência é afetada por estresses ambientais como seca, temperatura, quantidade de chuva, ataques de insetos e doenças. (BUCHANAN-WOLLASTON, 1997; NOODEN; GUIAMET; JOHN, 1997). O processo da senescência ocorre de uma maneira altamente regulada, em que os constituintes das células são degradados de maneira ordenada. O primeiro sintoma visível da senescência é a degradação da clorofila, mas quando o amarelecimento das folhas pode ser notado quase todo o processo de senescência já ocorreu. A degradação de proteínas e RNA ocorre de forma paralela a uma redução na atividade fotossintética, pois nutrientes como nitrogênio e fósforo são transferidos para fora da folha (BUCHANAN-WOLLASTON et al., 2003). A senescência ocorre devido à redução da clorofila e com conseqüente declínio na capacidade fotossintética. Assim, a senescência prematura pode afetar consideravelmente a produtividade de cereais, qualidade das hortaliças e das plantas ornamentais (JIANG et al., 2004).

Nos programas de melhoramento genético os genótipos são considerados “stay-green” quando as folhas e colmos permanecem verdes após o enchimento dos grãos em cereais. Desta forma, após o enchimento dos grãos a fotossíntese se prolonga fornecendo carboidratos para colmos, folhas e raízes e, conseqüentemente, as plantas apresentam maior resistência a estresses bióticos e abióticos (TOLLENAAR; WU, 1999; JIANG et al., 2004). O acamamento de plantas e o quebramento de colmos, denominados genericamente de acamamento, são considerados os caracteres mais importantes após a produtividade nos programas de melhoramento de cereais. Os genótipos com stay-green apresentam maior resistência ao acamamento, pois os carboidratos do colmo extraídos para o enchimento dos grãos são repostos reduzindo o

quebramento de colmos e aumentando a resistência às doenças de raízes, o que reduz a incidência de acamamento de plantas (DUVICK; CASSMAN, 1999).

Por sua importância, esse caráter tem sido estudado em inúmeras culturas, como sorgo, aveia, arroz, trigo, alguns tipos de grama, soja, feijão, fumo, entre outras. Os resultados mostram que o caráter stay-green é poligênico e é muito afetado pelo ambiente, isto é, trata-se de um caráter quantitativo (THOMAS; SMART, 1993; CUKADAR-OLMEDO; MILLER; HAMMOND, 1997; AGUIAR, 1999; BORRELL; TAO, MCINTYRE, 1999; BORRELL; HAMMER; HENZEL, 2000; BORREL; HAMMER; VAN OOSTEROM, 2001; JIANG et al., 2004). Em sorgo, este caráter é considerado tão importante quanto a produtividade nos programas de melhoramento, pois genótipos com senescência retardada apresentam elevada resistência à seca (WALULU et al., 1994). Segundo Joshi et al. (2007) os cultivares que apresentarem o caráter stay-green são a melhor opção para ambientes que apresentem condições de estresses hídricos e altas temperaturas. A relevância do caráter stay-green é constatada observando-se os cultivares atualmente lançados no mercado. Empresas produtoras de sementes de milho e sorgo, por exemplo, dificilmente colocam no mercado um novo cultivar que não apresente esse caráter (AGUIAR, 1999).

Thomas e Smart (1993) dividiram o caráter stay-green em cinco tipos. No tipo A, a senescência é iniciada tardiamente, mas procede em taxas constantes. No tipo B a senescência é iniciada normalmente, contudo, depois de iniciados, os processos tornam-se mais lentos que o normal. O comportamento do tipo C é caracterizado pela manutenção das taxas de clorofila na planta mais ou menos por tempo indeterminado, todavia, as medidas de funções fisiológicas como a capacidade fotossintética evidenciam que a senescência está transcorrendo normalmente (ocorre perda de CO₂ apesar da retenção de clorofila). O tipo D refere-se ao material armazenado, por exemplo, em herbários onde a cor é preservada. O tipo E tem algumas características semelhantes aos do tipo A e C, tais como atraso na perda da pigmentação verde e retenção de clorofila, porém a perda de fixação de CO₂ é normal. Nesse caso, a comparação do conteúdo absoluto de pigmentação identifica o caráter stay-green.

As metodologias utilizadas para a avaliação do stay-green encontradas na literatura são bem variadas. Cukadar-Olmedo; Miller e Hammond (1997) utilizaram um

programa computacional que avalia através de uma escala de notas de 1 a 40 a coloração do caule na época da colheita. Outra metodologia utilizada é a avaliação deste caráter através de uma escala de notas visual de 1 a 10, que tem como base a proporção de folhas secas na planta no período de maturação fisiológica (WALULU et al., 1994; BEKAVAC et al., 2007). Alguns autores realizam a mensuração da área foliar na época do florescimento e a quantificação da área verde no período de maturação fisiológica (VAN OOSTEROM; JAYACHANDRAN; BIDINGER, 1996; TOLLENAAR; AHMADZADEH; LEE, 2004); há ainda autores que utilizam duas destas metodologias combinadas ou com algumas modificações (JIANG et al., 2004; JOSHI et al., 2007).

A herança do caráter stay-green tem sido pouco estudada na cultura do milho e a variação genética existente para senescência foliar vem sendo empiricamente, explorada pelos programas de melhoramento (THOMAS; SMART, 1993). Beavis et al. (1994) reportaram que o stay-green é um caráter quantitativo e que apresenta coeficiente de herdabilidade alto, isto é, sofre pouca influência ambiental. Stangland et al. (1982), Russell (1985), Duvick (1992) e Duvick e Cassman (1999) reportaram resultados de avaliações de híbridos de milho, cultivados em diversas épocas, e verificaram que além do aumento da produtividade e da redução do acamamento, ocorreram também aumentos significativos no caráter stay-green; como houve um aumento linear, os resultados sugerem que este caráter é poligênico como reportado por Beavis et al. (1994). Por outro lado, Gentinetta et al. (1986) reportam a existência de um único loco com dois alelos controlando este caráter. Assim, em milho existem os dois mecanismos de controle gênico, isto é, o monogênico e o poligênico, como ocorre para diversos caracteres. De qualquer forma, como o caráter stay-green aumentou como resultado do melhoramento para produção de grãos e redução do acamamento, estes resultados também sugerem que este caráter está intimamente associado a estes caracteres.

Van Oosterom; Jayachandran e Bidinger (1996), utilizando cruzamentos dialélicos em sorgo, sugeriram que para o início da senescência ocorre uma predominância dos efeitos aditivos. Cukadar-Olmedo et al. (1997), em estudo com girassol, utilizaram o Delineamento II de Comstock e Robinson (1948) e reportaram

uma maior importância dos efeitos gênicos aditivos do que dos não-aditivos na variação fenotípica expressa nas combinações híbridas.

Estudos de correlação entre stay-green e produção de grãos têm demonstrado certa inconsistência quanto aos resultados (KAMARA et al., 2003; BETRÁN, et al., 2003). Zaidi et al. (2004) observaram correlação significativa entre produção de grãos e stay-green em condições de estresse hídrico. Os autores consideram que a senescência retardada de folhas pode facilitar o crescimento da semente em função do acúmulo de assimilados no final do estágio de enchimento dos grãos, tendo como resultado, maior número de sementes totalmente desenvolvidas na espiga e um peso médio de sementes mais elevado, conseqüentemente, melhorando o rendimento de grãos em genótipos tolerantes à seca. Kamara et al. (2003) consideram que a partir do estabelecimento da espiga, a manutenção de uma copa funcional verde e da capacidade para mobilizar carboidratos estocados no colmo e na palha do milho é essencial para alta produção sob estresse terminal. Jiang et al. (2004), em estudos com arroz, encontraram correlação negativa entre stay-green e produção, e sugerem que uma das possíveis causas seria devido à população experimental ser derivada de um cruzamento inter-específico e ter ocorrido esterilidade parcial em uma fração das linhas. Esta esterilidade parcial resultaria numa dificuldade de transporte e realocação de nutrientes das folhas para outras partes das plantas, especialmente para as sementes em desenvolvimento.

Tollenaar; Ahmadzadeh e Lee (2004) consideram que quatro mecanismos fisiológicos estariam associados com a heterose para rendimento de grãos em milho, três destes (índice de área foliar, stay-green e manutenção da fotossíntese) estando associados ao acúmulo de matéria seca. A heterose para stay-green influenciaria a heterose para a interceptação de luz pela planta que acarretaria em um maior acúmulo de matéria seca durante o período de enchimento de grãos. Campos et al. (2004) reportam que para melhorar os ganhos com produtividade em condições tardias de estresse é necessário o desenvolvimento de cultivares com acentuado stay-green.

Um dos maiores desafios para os melhoristas de milho é desenvolver híbridos que apresentem ótimo desempenho em ambientes que apresentem condições de seca

(BEKAVAC et al., 2007). Sendo assim, desenvolver híbridos que apresentem o caráter stay-green aparenta ser uma solução viável para vários programas de melhoramento.

2.2. Análise Dialética

Para que um programa de melhoramento tenha sucesso é necessário conhecer a herança de cada caráter que será considerado para fins de seleção. Esquemas simples de seleção, como a seleção de plantas individuais, só podem ser praticados para os caracteres que apresentem efeitos aditivos mais importantes que os não-aditivos (dominância e epistasia), enquanto que se os efeitos não-aditivos forem mais importantes ou tiverem a mesma importância que os efeitos aditivos, esquemas mais complexos de melhoramento devem ser utilizados. Por exemplo, em milho o caráter altura da planta apresenta efeitos aditivos mais pronunciados que os não-aditivos, enquanto para produção de grãos é o inverso. Devido a isso, nos programas de melhoramento as linhagens que serão cruzadas para a obtenção dos híbridos são previamente selecionadas para altura da planta, pois os seus híbridos apresentarão baixos valores de heterose para este caráter; entretanto, para produção de grãos, devido aos efeitos não-aditivos serem muito pronunciados, a seleção só pode ser realizada nos cruzamentos e, por isso, a correlação entre linhagens e híbridos para produção de grãos é muito baixa (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988; HALLAUER; LOPEZ-PEREZ, 1979; BERNARDO, 2002). Devido a isso, é necessário estimar a importância relativa dos efeitos aditivos e dos não-aditivos dos caracteres para que se proceda a seleção de forma adequada nos programas de melhoramento.

Cruzamentos dialéticos são delineamentos estatístico-genéticos muito utilizados em programas de melhoramento genético vegetal, pois permitem estudar a herança de caracteres quantitativos, avaliar as performances de cruzamentos entre linhagens e alocar linhagens e populações em grupos heteróticos. Os cruzamentos dialéticos foram definidos por diversos autores como sendo todos os cruzamentos dentro de um grupo de genótipos. Segundo Hallauer e Miranda Filho (1988) os esquemas e as análises de

cruzamentos dialélicos têm sido desenvolvidos com parentais cujas bases genéticas variam de linhagens puras, até variedades com ampla base genética.

Existem diversos tipos de cruzamentos dialélicos, como os parciais e completos (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992). Nos dialelos completos um grupo (n) de linhagens ou populações são cruzadas em todas as combinações possíveis gerando $n(n-1)/2$ cruzamentos, e nos parciais dispõe-se de dois grupos de genótipos (n_1 e n_2) e estes são cruzados entre si gerando ($n_1 \times n_2$) cruzamentos. Estes cruzamentos são avaliados em experimentos com repetições, geralmente em diversos ambientes, e os efeitos dos cruzamentos são desdobrados em efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) e efeitos de capacidade específica de combinação (CEC) nas análises de variância. Também, as magnitudes das capacidades gerais de combinação são estimadas para cada linhagem ou população, e as magnitudes das capacidades específicas de combinação são estimadas para cada cruzamento. Os efeitos da CGC estão relacionados aos efeitos aditivos, enquanto os efeitos das CEC aos efeitos não-aditivos, ou seja, da dominância e epistasia (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992). Dessa forma, com o uso destes delineamentos é possível estimar a importância relativa dos efeitos aditivos e dos não-aditivos na expressão de um caráter.

Segundo Cruz; Regazzi e Carneiro (2004) são cinco os tipos de cruzamentos dialélicos. Os dialelos balanceados (completos ou de meia tabela), dialelos parciais, dialelos circulantes, dialelos incompletos e dialelos desbalanceados. Os dialelos balanceados incluem os híbridos F_1 's, podendo ser incluídos os genitores, seus híbridos recíprocos e, algumas vezes, outras gerações relacionadas, como F_2 's e retrocruzamentos. Os dialelos parciais envolvem dois grupos de genitores e seus respectivos cruzamentos, sendo que adaptações do modelo de Griffing (1956) e de Gardner e Eberhart (1966), para este tipo de dialelo, têm possibilitado maximizar as informações sobre grupos estudados com um número menor de cruzamentos do que os requeridos no dialelo balanceado. Os dialelos circulantes permitem obter informações sobre os genitores com um número menor de cruzamentos, entretanto, há perda de informações a respeito de certas combinações híbridas, que ficam ausentes. Os dialelos incompletos são aqueles em que os genitores são representados por um número variável de cruzamentos; geralmente ocorrem devido a perdas de tratamentos

durante a condução do ensaio ou por problemas diversos. Os dialelos desbalanceados apresentam todas as combinações híbridas e também as demais gerações como genitores e recíprocos, porém em frequência variável, devido a um número desigual de repetições por tratamento.

Entre as várias metodologias existentes para a análise e interpretação dos dados obtidos com cruzamentos dialélicos, pode-se destacar a metodologia de Hayman (1954), que fornece informações sobre o mecanismo básico de herança do caráter em estudo, dos valores genéticos dos genitores utilizados e do limite de seleção; a metodologia de Griffing (1956), pela qual são estimados os efeitos de capacidade geral e específica de combinação; e a de Gardner e Eberhart (1966), na qual são avaliados os efeitos de variedade e de heterose varietal.

Griffing (1956) descreve uma metodologia para avaliação da capacidade geral e específica de combinação a partir de quatro métodos experimentais, podendo-se ainda considerar o modelo fixo ou aleatório, dependendo dos genótipos utilizados como genitores. No Método 1 são incluídas as p^2 combinações (em que p refere-se ao número de genitores) e são avaliados os genitores, F_1 's e recíprocos; no Método 2 são incluídas as $p(p+1)/2$ combinações e são avaliados os genitores e F_1 's; no Método 3 são incluídas as $p(p-1)$ combinações e são avaliados os F_1 's e recíprocos; no Método 4 são incluídas as $p(p-1)/2$ combinações e apenas os híbridos F_1 's são avaliados.

A metodologia de Gardner e Eberhart (1966) é aplicada a dialelos em que os genitores se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg, caracterizando-se por fornecer informações detalhadas sobre o potencial *per se* desses genitores e da heterose que se manifesta em seus híbridos. Esta metodologia inclui, pelo menos, as p populações (ou variedades) e os $p(p-1)/2$ híbridos F_1 's.

Segundo Hallauer e Miranda Filho (1988) desde a década de 1940 têm sido estimados os componentes da variância genética e ambiental para diferentes populações de milho. Adicionalmente, tem sido estimada a proporção da importância relativa da variância genética total atribuída aos efeitos genéticos aditivos e não aditivos. Vários são os trabalhos que citam a proporção dos efeitos gênicos aditivos e não aditivos em diversos caracteres em milho. Estes autores realizaram uma compilação de diversos trabalhos presentes na literatura com estimativas da variância

aditiva (σ_A^2) e de dominância (σ_D^2), onde foi dividida a média das estimativas da σ_D^2 pela média das estimativas da σ_A^2 , obtendo a proporção média das estimativas da σ_D^2/σ_A^2 para diversos caracteres em milho.

Hallauer e Miranda Filho (1988) compilaram diversos resultados de pesquisas em milho, porém não foi incluído nenhum resultado proveniente de análises dialélicas e, assumindo que não havia epistasia nem efeitos de ligação, atribuíram 61,2% da variância genética total à variância aditiva (σ_A^2) e 38,8% à variância de dominância (σ_D^2), para produção de grãos. Para outros caracteres como prolificidade, altura de plantas e altura de espigas a proporção das estimativas da σ_D^2/σ_A^2 foram consideravelmente menores que para produção de grãos.

Em um trabalho utilizando análise dialélica, Alves (2006) avaliou diversos caracteres em milho como produção de grãos, altura de plantas, altura de espigas, prolificidade, entre outros. Dentre os caracteres avaliados apenas para produção de grãos a contribuição dos efeitos não aditivos foi de elevada magnitude, sendo que 59,55% foi devido a efeitos aditivos e 40,55% aos efeitos não aditivos. Para os demais caracteres os efeitos aditivos foram mais importantes que os não aditivos, sendo que a contribuição dos efeitos aditivos foi de 74,52%, 74,43% e 71,20%, para altura de plantas, altura de espigas e prolificidade, respectivamente. Por outro lado, Santos et al. (2007) atribuíram 35,86% e, 60,69% à efeitos aditivos para produção de grãos e prolificidade, respectivamente. Observa-se, então, que para produção de grãos há tanto a contribuição de efeitos aditivos quanto a dos não aditivos, enquanto para outros caracteres como os citados anteriormente há maior predominância de efeitos aditivos. Porém, mesmo com a realização de diversos estudos sobre o tipo de controle genético para diversos caracteres em milho ao longo dos anos, os dados acerca do caráter stay-green em milho ainda são raros, havendo necessidade de maiores estudos para melhor elucidação do seu controle genético.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material genético

Nesta pesquisa foram utilizadas 55 linhagens endogâmicas de milho de diversas origens. Cinco destas linhagens foram previamente selecionadas para serem utilizadas como testadoras, as quais foram cruzadas com as outras 50 linhagens. Estas linhagens são oriundas de diversas populações (IG-1, IG-2 e CMS-05), alguns híbridos comerciais (BR-201, C-601, C-606, HS-1 e XL-560) e de progênies de meios-irmãos interpopulacionais (BR-105 x BR-106). Todas estas linhagens foram obtidas no programa de melhoramento de milho do Departamento de Genética, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP Piracicaba, e apresentam pelo menos seis gerações de autofecundações. Estas linhagens, por serem de origens distintas, diferem umas das outras para diversos caracteres, inclusive para o caráter stay-green (Tabela 1).

As linhagens que foram utilizadas como testadoras possuem as seguintes características e origens: L-08-05F possui grãos duros de coloração alaranjada e é proveniente da população IG-1; L-36-07F possui grãos duros de coloração alaranjada e é proveniente do híbrido simples utilizado como genitor feminino do híbrido duplo BR-201; L-38-05D possui grãos amarelos e dentados, tendo sido extraída do híbrido simples utilizado como genitor feminino na produção do híbrido duplo BR-201; L-46-10D possui grãos amarelos e dentados, tendo sido obtida do híbrido duplo BR-201; L-49-09D possui grãos amarelos e dentados, proveniente do cruzamento das populações BR-105 e BR-106.

Foram realizados cruzamentos dialélicos parciais, onde as cinco linhagens elites utilizadas como testadoras foram cruzadas com as demais 50 linhagens, no ano agrícola de 2003/2004, obtendo-se 250 cruzamentos. Para a obtenção dos cruzamentos, as 50 linhagens de um grupo foram plantadas pareadas com as cinco linhagens do outro grupo. As parcelas foram constituídas de uma linha de 6 m com 30 plantas, espaçadas 0,80 m entre linhas e a 0,20 m entre plantas. Para garantir a

coincidência do florescimento, tanto masculino como feminino, os testadores foram plantados em três épocas distintas: cinco dias antes; no mesmo dia; e cinco dias após as demais linhagens. Os cruzamentos foram realizados manualmente, utilizando-se cruzamentos recíprocos. Na colheita, os cruzamentos recíprocos de cada par foram colhidos em conjunto e misturados para gerar quantidade de sementes suficientes para avaliação em experimentos com repetições.

Foram utilizados seis híbridos comerciais como testemunhas, sendo quatro híbridos comerciais da empresa Zeneca (Z-8420: um híbrido simples modificado; Z-8550: híbrido triplo; Z-8460 e Z-8480: híbridos simples) e dois híbridos comerciais da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA (BRS-2020: híbrido duplo; BRS-1010: híbrido simples), obtendo-se, assim, 256 tratamentos.

3.2 Execução experimental

3.2.1 Ambientes de avaliação e delineamento experimental

Os 256 tratamentos foram avaliados em 8 ambientes, entre os anos agrícolas 2004/2005 e 2006/2007. A combinação ano agrícola x local correspondeu a um ambiente. Foram utilizados os seguintes ambientes: Estação Experimental Departamento de Genética da ESALQ/USP, nos anos agrícolas 2004/2005, 2005/2006 e 2006/2007; Estações Experimentais Caterpillar e Areão, nos anos agrícolas 2004/2005 e 2005/2006; e Estação Experimental Anhembi, no ano agrícola 2005/2006.

O delineamento experimental utilizado foi o látice simples 16 x 16 com 2 repetições. As parcelas foram constituídas por linhas de 4 m de comprimento, espaçadas 0,80 m entre linhas e 0,20 m entre plantas. Foram plantadas 50 plantas por parcela, sendo realizado o desbaste aos 30 dias após a semeadura, deixando-se um estande ideal de 20 plantas por parcela, o que corresponde a um estande médio de 62.500 plantas ha⁻¹.

O preparo de solo, plantio e os tratos culturais seguiram as recomendações técnicas para a cultura do milho correspondentes a cada local. Quando necessário, foi

fornecido irrigação complementar aos experimentos conduzidos nas Estações experimentais do Departamento de Genética da ESALQ/USP e Anhembi.

3.2.2 Caracteres avaliados

Os caracteres avaliados foram os seguintes:

i. Stay-green: foi avaliado com cerca de 120 dias após o plantio, após a maturação fisiológica dos grãos, a partir de uma escala de notas variando de 1 a 5, em que a nota 1 referiu-se às plantas com todas as folhas acima da espiga e pelo menos 2 folhas abaixo da espiga verdes; nota 2 às plantas em que todas as folhas acima da espiga estivessem verdes; nota 3 às plantas em que 2 folhas acima da espiga estivessem secas e as demais verdes; nota 4 às plantas em que 2 folhas no ápice da planta estivessem verdes; e 5 às plantas em que todas as folhas estavam secas. Foram avaliadas cinco plantas competitivas por parcela e as médias destas foram utilizadas nas análises.

ii. Florescimento feminino: refere-se ao número de dias do plantio a emissão dos estilos-estigmas de 50% das plantas da parcela.

Foi necessário tomar dados de florescimento feminino, uma vez que os cruzamentos apresentam diferentes níveis de maturação e, portanto, para analisar corretamente o caráter stay-green é importante utilizar este caráter como covariável nas análises estatísticas para corrigir estas diferenças de maturação.

3.3 Análises Estatístico-Genéticas

3.3.1 Análises de variâncias

As análises de variâncias individual e conjunta foram realizadas utilizando-se o programa computacional SAS versão 8.2, módulo “proc glm”. Inicialmente, foram realizadas as análises individuais para cada ambiente utilizando-se um modelo misto, considerando o efeito de tratamentos fixo e os demais aleatórios. As médias de cada parcela foram corrigidas por covariância utilizando como covariável o número de dias de cada parcela para o caráter florescimento feminino, para corrigir os diferentes níveis de maturação. Foi utilizado o modelo matemático abaixo, eq. (1), para as análises de variâncias individuais.

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + r_k + b_{j(k)} + e_{ijk} \quad (1)$$

em que:

Y_{ijk} é o valor do tratamento i no bloco j dentro da repetição k ;

μ é a média geral do experimento;

t_i é o efeito do tratamento i ($i=1,2,3,\dots,256$);

r_k é o efeito da repetição k ($k=1,2$);

$b_{j(k)}$ é o efeito do bloco j na repetição k ($j=1,2,3,\dots,16$);

e_{ijk} é o efeito do erro experimental associado à observação Y_{ijk} , com $e_{ijk} \cap N(0, \sigma^2)$.

O esquema da análise de variância individual com as respectivas esperanças dos quadrados médios e teste F é apresentado na Tabela 2.

Após as análises individuais foi realizada a análise de variância conjunta envolvendo os oito ambientes de avaliação. O modelo matemático, eq. (2), considerado

misto, com todos os efeitos aleatórios, excetuando-se a média e tratamento, para a análise conjunta utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + t_i + l_l + r_{k(l)} + b_{j(kl)} + tl_{(il)} + e_{ijkl} \quad (2)$$

em que:

Y_{ijkl} é o valor do tratamento i no bloco j na repetição k do ambiente l ;

μ é a média geral dos experimentos;

t_i é o efeito do tratamento i ($i=1,2,3,\dots,256$);

l_l é o efeito do ambiente l ($l=1,2,3,\dots,8$);

$r_{k(l)}$ é o efeito da repetição k no ambiente l ($k=1,2$);

$b_{j(kl)}$ é o efeito do bloco j na repetição k no ambiente l ($j=1,2,3,\dots,16$);

$tl_{(il)}$ é o efeito da interação entre o tratamento i e ambiente l , com $tl_{(il)} \cap N(0, \sigma_{il}^2)$;

e_{ijkl} é o efeito do erro experimental associado à observação Y_{ijkl} , com $e_{ijkl} \cap N(0, \sigma^2)$.

Para realizar esta análise foram utilizadas as médias ajustadas de cada ambiente. No entanto, como estas foram realizadas com recuperação da informação do resíduo intrabloco, em cada uma delas foi necessário calcular o erro efetivo, onde a média dos quadrados médios destes foram utilizadas para compor o erro efetivo médio da análise conjunta. Neste caso, o erro efetivo foi obtido conforme apresentado por Cochran e Cox (1957), segundo eq. (3):

$$QM_{EF} = QM_{EI} \left[1 + \frac{kj\mu}{j+1} \right] \quad (3)$$

em que:

QM_{EF} é o quadrado médio do erro efetivo;

QM_{EI} é o quadrado médio do erro intrabloco;

k é o número de repetições;

j é o tamanho do bloco do látice;

$$\mu = \frac{QM_{B/R} - QM_{EI}}{j(k-1)QM_{B/R}};$$

$QM_{B/R}$ é o quadrado médio de bloco dentro de repetição.

O esquema da análise de variância conjunta está apresentado na Tabela 3, a qual mostra os desdobramentos das somas de quadrados de Tratamentos em Cruzamentos e Testemunhas, e da interação Tratamentos x Ambientes em Cruzamentos x Ambientes e Testemunhas x Ambientes, com suas respectivas esperanças dos quadrados médios e seus respectivos testes F .

3.3.2 Estimativas de componentes quadráticos e coeficiente de determinação genotípico

Com base nas esperanças dos quadrados médios da análise conjunta foram estimados os componentes de variância utilizando-se as expressões abaixo:

variância fenotípica entre as médias dos cruzamentos, eq. (4),

$$\hat{\sigma}_F^2 = \frac{QM_c}{rl} \quad (4)$$

variância da interação cruzamentos x ambientes, eq. (5),

$$\hat{\sigma}_{C \times A}^2 = \frac{QM_{C \times A} - QM_E}{r} \quad (5)$$

variância do erro, eq. (6),

$$\hat{\sigma}_E^2 = QM_E \quad (6)$$

Como os efeitos genéticos são fixos, foi estimado o componente quadrático genético de cruzamentos e o coeficiente de determinação genotípico segundo proposto por Vencovsky e Barriga (1992), utilizando as seguintes expressões:

estimativa do componente quadrático genético de cruzamentos, eq. (7),

$$\hat{V}_C = \frac{QM_C - QM_{C \times A}}{rl} \quad (7)$$

coeficiente de determinação genotípico, eq. (8),

$$R_C^2 = \left[\frac{\hat{V}_C}{\hat{\sigma}_F^2} \right] \times 100 \quad (8)$$

em que:

QM_C é o quadrado médio dos cruzamentos;

$QM_{C \times A}$ é o quadrado médio da interação cruzamentos x ambientes;

r é o número de repetições;

l é o número de locais;

Para os componentes de variância, $\hat{V}_C$ e R_C^2 foram obtidos os respectivos intervalos de confiança (IC) com $\alpha = 95\%$ de probabilidade, eq. (9, 10, 11 e 12).

$$IC(\hat{\sigma}_F^2)_{0,95} = \left[\frac{n_1 \hat{\sigma}_F^2}{\chi_{n_1;0,975}^2} \leq \sigma_F^2 \leq \frac{n_1 \hat{\sigma}_F^2}{\chi_{n_1;0,025}^2} \right] \quad (9)$$

$$IC(\hat{\sigma}_{C \times A}^2)_{0,95} = \left[\frac{n_2 \hat{\sigma}_{C \times A}^2}{\chi_{n_2;0,975}^2} \leq \sigma_{C \times A}^2 \leq \frac{n_2 \hat{\sigma}_{C \times A}^2}{\chi_{n_2;0,025}^2} \right] \quad (10)$$

$$IC(\hat{V}_C)_{0,95} = \left[\frac{n_3 \hat{V}_C}{\chi_{n_3;0,975}^2} \leq V_C \leq \frac{n_3 \hat{V}_C}{\chi_{n_3;0,025}^2} \right] \quad (11)$$

$$IC(R_C^2)_{0,95} = \left[1 - \frac{1}{\left(\frac{QM_C}{QM_{C \times A}} \right) F_{0,975;GL_C;GL_{C \times A}}} \leq R_C^2 \leq 1 - \frac{1}{\left(\frac{QM_C}{QM_{C \times A}} \right) F_{0,025;GL_C;GL_{C \times A}}} \right] \quad (12)$$

em que:

n_1 é o número de graus de liberdade associado à $\hat{\sigma}_F^2$, obtido diretamente da análise de variância;

n_2 e n_3 são o número de graus de liberdade associados à $\hat{\sigma}_{CxA}^2$ e $\hat{V}_C$, respectivamente, obtidos conforme o procedimento descrito por Satterthwaite (1946);

$\chi_{n_1;0,975}^2$, $\chi_{n_2;0,975}^2$ e $\chi_{n_3;0,975}^2$ são os valores tabelados de χ^2 com n_1 , n_2 e n_3 graus de liberdade, respectivamente e, $\alpha = 97,5\%$ de probabilidade;

$\chi_{n_1;0,025}^2$, $\chi_{n_2;0,025}^2$ e $\chi_{n_3;0,025}^2$ são os valores tabelados de χ^2 com n_1 , n_2 e n_3 graus de liberdade, respectivamente e, $\alpha = 2,5\%$ de probabilidade;

$F_{0,975;GL_C;GL_{CxA}}$ e $F_{0,025;GL_C;GL_{CxA}}$ são os valores tabelados de F com $\alpha = 97,5\%$ e $\alpha = 2,5\%$ de probabilidade, respectivamente, associados a GL_C graus de liberdade de cruzamentos e GL_{CxA} graus de liberdade da interação cruzamentos x ambientes, respectivamente.

3.3.3 Análise dialélica

As médias ajustadas do caráter stay-green de cada uma das análises individuais dos 250 cruzamentos, excetuando-se as testemunhas, foram organizadas para que, então, fosse realizada a análise de variância do dialelo. A análise de variância do dialelo foi realizada de acordo com o método 4 do modelo I de Griffing (1956), adaptado para dialelos parciais em múltiplos ambientes (FERREIRA; REZENDE; RAMALHO, 1993; WU; MATHESON, 2000, 2001; ZHANG; KHANG, 2003). Utiliza-se este método quando se dispõe de um conjunto de híbridos sem seus recíprocos. Neste caso têm-se dois grupos de linhagens: g_1 com 5 linhagens e g_2 com 50 linhagens. O modelo matemático utilizado foi, eq. (13):

$$Y_{rsl} = \mu + a_l + g_r + g_s + s_{rs} + (ag)_{rl} + (ag)_{sl} + (as)_{rsl} + \bar{e}_{rsl} \quad (13)$$

em que:

Y_{rsl} é o valor médio observado da combinação híbrida entre a r -ésima linhagem (g_1) com a s -ésima linhagem (g_2) no ambiente l ;

μ é a média geral do caráter;

a_l é o efeito do ambiente l ($l=1,2,3,\dots,8$);

g_r é o efeito da capacidade geral de combinação da r -ésima linhagem (g_1) ($r=1,2,3,\dots,5$);

g_s é o efeito da capacidade geral de combinação da s -ésima linhagem (g_2) ($s=1,2,3,\dots,50$);

s_{rs} é o efeito da capacidade específica de combinação entre a linhagem r (g_1) e a linhagem s (g_2);

$(ag)_{rl}$ é o efeito da interação entre a capacidade geral de combinação da r -ésima linhagem (g_1) e o efeito de ambientes;

$(ag)_{sl}$ é o efeito da interação entre a capacidade geral de combinação da s -ésima linhagem (g_2) e o efeito de ambientes;

$(as)_{rsl}$ é o efeito da interação entre a capacidade específica de combinação das linhagens r (g_1) e as linhagens s (g_2) e o efeito de ambientes;

$\bar{e}_{rsl}$ é o erro experimental médio.

Para que esse modelo seja válido e, para que os efeitos incluídos sejam estimáveis, é necessário que sejam impostas as seguintes restrições nas soluções, eq. (14, 15, 16 e 17):

$$\sum_r \hat{g}_r = 0 \quad (14)$$

$$\sum_s \hat{g}_s = 0 \quad (15)$$

$$\sum_s \hat{s}_{rs} = 0 \quad (16)$$

$$\sum_r \hat{s}_{rs} = 0 \quad (17)$$

Na análise de variância a soma de quadrados de cruzamentos foi desdobrada em capacidade geral de combinação (CGC) das linhagens do grupo 1 (g_1) e CGC das linhagens do grupo 2 (g_2) e em capacidade específica de combinação (CEC). A seguir, a soma de quadrados de Cruzamentos x Ambientes foi desdobrada em CGC do grupo 1 x Ambientes, CGC do grupo 2 x Ambientes e CEC x Ambientes.

O esquema da análise de variância do dialelo, com suas respectivas esperanças dos quadrados médios e seus respectivos testes F , está apresentado na tabela 4.

Para obter a proporção da contribuição dos efeitos aditivos e dos não aditivos foi estimada a contribuição relativa da capacidade geral de combinação e a contribuição relativa da capacidade específica de combinação, através das somas de quadrados da CGC g_1 , CGC g_2 e da CEC $_{TxLI}$, eq. (18 e 19):

$$CGC\% = \left(\frac{SQCGCg1 + SQCGCg2}{SQCGCg1 + SQCGCg2 + SQCEC_{TxLI}} \right) \times 100 \quad (18)$$

$$CEC\% = \left(\frac{SQCEC_{TxLI}}{SQCGCg1 + SQCGCg2 + SQCEC_{TxLI}} \right) \times 100 \quad (19)$$

em que:

CGC% é a proporção da contribuição relativa da capacidade geral de combinação para a variação dos cruzamentos;

$CEC\%$ é a proporção da contribuição relativa da capacidade específica de combinação para a variação dos cruzamentos;

$SQCGC_{g1}$ é a soma das somas de quadrados das capacidades gerais de combinação das linhagens do grupo 1;

$SQCGC_{g2}$ é a soma das somas de quadrados das capacidades gerais de combinação das linhagens do grupo 2;

$SQCEC_{TxLI}$ é a soma das somas de quadrados da capacidade específica de combinação entre as linhagens do grupo 1 e as linhagens do grupo 2.

As estimativas dos efeitos de capacidades de combinação foram realizadas da seguinte forma: para capacidade geral de combinação das linhagens do grupo 1 ($r=1,2,3,\dots,5$), eq. (20); para capacidade geral de combinação das linhagens do grupo 2 ($s=1,2,3,\dots,50$), eq. (21); e para capacidade específica de combinação entre as linhagens do grupo 1 e 2, eq. (22) (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992).

$$\hat{g}_r = (Y_{r.} / n_1) - (Y_{..} / n_1.n_2) \quad (20)$$

$$\hat{g}_s = (Y_{.s} / n_2) - (Y_{..} / n_1.n_2) \quad (21)$$

$$\hat{s}_{rs} = Y_{rs} - [\hat{g}_r + \hat{g}_s + (Y_{..} / n_1.n_2)] \quad (22)$$

em que:

$Y_{r.}$ é o somatório das combinações híbridas da r -ésima linhagem (g_1) cruzada com as linhagens s (g_2);

$Y_{.s}$ é o somatório das combinações híbridas da s -ésima linhagem (g_2) cruzada com as linhagens r (g_1);

Y_{rs} é o valor da combinação híbrida entre a r -ésima linhagem (g_1) e a s -ésima linhagem (g_2);

$Y_{..}$ é o somatório de todas as combinações híbridas envolvendo as linhagens r (g_1) e as linhagens s (g_2);

n_1 é o número de linhagens r (g_1);

n_2 é o número de linhagens s (g_2).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises de Variâncias Individuais

As análises individuais de variâncias com os respectivos quadrados médios e significâncias, coeficientes de variação (CV%) e médias para o caráter stay-green estão apresentadas na Tabela 5.

Nas análises de variância individuais do caráter stay-green, foram detectadas diferenças altamente significativas ($P \leq 0,01$) entre os tratamentos, através do teste F , para todos os 8 ambientes considerados. Estes resultados demonstram a existência de variabilidade genética entre os tratamentos utilizados nos cruzamentos dialélicos em todos os ambientes.

A relação entre o maior e o menor valor da $\hat{\sigma}_E^2$ foi de 2,55, o que demonstra que as variâncias do erro experimental podem ser consideradas homogêneas. Os coeficientes de variação experimental (CV%) variaram de 9,89% na Estação Experimental da Fazenda Caterpillar no ano agrícola de 2005/2006 a 27,68% na Estação Experimental do Departamento de Genética no ano agrícola de 2006/2007, sendo que 75% destes coeficientes de variação ficaram abaixo de 20%. Os valores dos coeficientes de variação das análises individuais foram semelhantes aos reportados por Câmara (2006), onde os valores de CV% para stay-green variaram entre 6,3% e 21,9% em duas populações de milho. Há de se ressaltar que, embora os CV's obtidos parecerem altos isto é decorrente às médias obtidas possuírem valores baixos, o que foi causado pela escala de notas adotada, que foi de 1 a 5. Desta forma, pode-se considerar que houve uma boa precisão experimental para este caráter.

As médias variaram de 2,16 na Estação Experimental Areão no ano agrícola 2004/2005 a 4,23 na Estação Experimental Caterpillar no ano agrícola 2005/2006, em uma escala de notas onde 1 corresponde à nota dada às plantas com maior stay-green e a nota 5 às plantas secas. Esta variação entre as médias do caráter stay-green, entre os diversos ambientes, pode ser atribuída à grande diversidade de condições edafo-

climáticas existente entre os locais e as condições climáticas entre os anos agrícolas onde os experimentos foram avaliados.

4.2 Análise de Variância Conjunta

A análise de variância conjunta, com os quadrados médios e significâncias, coeficiente de variação (CV%) e média geral para o caráter stay-green está apresentada na Tabela 6.

O coeficiente de variação experimental (CV%) encontrado na análise de variância conjunta do caráter stay-green foi de 15,34%, mostrando-se menor do que o encontrado por Aguiar (1999) em estudo com feijão (20,67%). Câmara (2006) encontrou valores para o caráter stay-green de 10,39% e de 7,39% em duas populações de milho. Comparando com os resultados reportados na literatura e, levando-se em consideração que a avaliação foi realizada através de utilização de uma escala de notas visual em campo, pode-se considerar que houve uma boa precisão experimental.

Na análise conjunta de variância do caráter stay-green foram detectadas diferenças altamente significativas ($P \leq 0,01$), através do teste F , para todas as fontes de variação com exceção da fonte cruzamento vs testemunha que foi significativa ($P \leq 0,05$).

A diferença altamente significativa ($P \leq 0,01$) observada na fonte de variação Ambientes ratifica a variação observada entre as médias dos ambientes nas análises individuais, reforçando, assim, a suposição de existência de grande diversidade de condições edafo-climáticas entre os 8 ambientes.

Para a fonte de variação Tratamentos, a diferença altamente significativa ($P \leq 0,01$) indica a presença de variabilidade genética entre os tratamentos. Esta variabilidade era esperada, uma vez que os genótipos envolvidos nos cruzamentos são de origens diversas. A fonte de variação Cruzamentos, que envolve todos os 250 cruzamentos, foi altamente significativa, indicando variabilidade genética entre os mesmos. Os desdobramentos desta fonte de variação para as cinco linhagens testadoras também foram altamente significativos, indicando a existência de

variabilidade genética para cada tipo de cruzamento. Além disso, a fonte de variação Entre Cruzamento também foi altamente significativa, mostrando que pelo menos um dos tipos de cruzamento difere dos demais. Detectou-se diferenças entre as Testemunhas e entre os Cruzamentos vs Testemunhas, o que indica que as testemunhas diferem geneticamente e, que em média, os cruzamentos e testemunhas apresentam valores médios diferentes para o caráter stay-green.

Com relação à interação com o ambiente, todas as fontes de variação acima citadas foram significativas, indicando que os 250 cruzamentos, assim como os cruzamentos com cada linhagem testadora e as testemunhas apresentaram performances diferenciais nos diversos ambientes de avaliação. As fontes de variação Entre Cruzamentos x Ambientes e (C vs TM) x A também foram altamente significativas, mostrando que estes contrastes variaram com os ambientes de avaliação.

A média geral do caráter stay-green está apresentado na Tabela 6 e, as médias, valores mínimos e máximos dos cruzamentos com cada linhagem testadora e das testemunhas estão apresentados na Tabela 7.

Com relação às médias obtidas na análise conjunta, a média geral para o caráter stay-green foi de 3,51. A média apresentada pelas testemunhas foi de 3,11 variando de 2,39 a 3,61. A média dos cruzamentos foi superior à das testemunhas, com valor de 3,52, variando de 2,32 a 4,48. Era de se esperar que as testemunhas tivessem um bom desempenho, pois foram utilizados materiais comerciais e, como relatado por Duvick (1992) os materiais comerciais vêm obtendo ganhos significativos nos valores de stay-green através dos anos.

A média de cada grupo de cruzamentos com uma das linhagens testadoras também foi superior às médias das testemunhas. Os cruzamentos com a linhagem testadora 1 apresentaram média de 3,41, variando de 2,39 a 4,19; os cruzamentos com a linhagem testadora 2 com média de 3,67 e, variando de 2,87 a 4,33; os cruzamentos com a linhagem testadora 3 com média de 3,51 e, variando de 2,56 a 4,26; os cruzamentos com a linhagem testadora 4 com média de 3,69, e variando de 2,98 a 4,48; e os cruzamentos com a linhagem testadora 5 com média de 3,31, variando de 2,32 a 4,4. Observando que a nota 1 era dada à planta com stay-green e a nota 5 à planta sem stay-green, as testemunhas obtiveram, em média, uma performance

superior aos cruzamentos. Porém, quando observadas as médias de cada cruzamento individualmente e comparadas à média individual das testemunhas, nota-se que 14,8% destas médias são inferiores às obtidas entre as testemunhas. Por exemplo, no cruzamento da linhagem 26 com a linhagem testadora 5, a média foi de 2,32, enquanto a média mínima apresentada pelas testemunhas foi de 2,39.

Os cruzamentos que obtiveram maior amplitude de variação foram os cruzamentos realizados com a linhagem testadora 5 (2,08), no qual foi observada a menor média (2,32) de cruzamento individual. Já a menor amplitude de variação foi observada entre os cruzamentos com a linhagem testadora 4 (1,5) que, ainda apresentou a maior média entre os cruzamentos (3,69). Nas testemunhas foi onde se obteve menor amplitude de variação (1,22). Como verificado na análise de variância, estes resultados de médias mostram a existência de variabilidade genética entre os diferentes cruzamentos e entre as testemunhas para o caráter stay-green.

4.4 Estimativas de variâncias, de variabilidade genética e coeficiente de determinação genotípico

A estimativa da variância fenotípica ($\hat{\sigma}_F^2$) foi de 16,21, a da interação cruzamento x ambiente ($\hat{\sigma}_{C \times A}^2$) foi 8,77 e a do erro experimental ($\hat{\sigma}_E^2$) foi 28,95; a estimativa da variabilidade genética entre cruzamentos ($\hat{V}_C$) foi 13,3 e, o coeficiente de determinação genotípico (R_C^2) foi 82,08% (Tabela 8).

Estas estimativas diferiram significativamente de zero, uma vez que seus respectivos intervalos de confiança não incluíram valores negativos ou zeros. Esses resultados indicam que a variabilidade genética ($\hat{V}_C$) e a variância da interação cruzamento x ambiente ($\hat{\sigma}_{C \times A}^2$) contribuíram para a variância fenotípica ($\hat{\sigma}_F^2$) dos cruzamentos. A estimativa da variabilidade genética entre os cruzamentos foi elevada, bem próxima à estimativa da variância fenotípica, indicando que diferenças entre os cruzamentos seriam função, principalmente, da constituição genética destes. Porém, a variância da interação cruzamento x ambiente também foi relativamente alta,

representando 65,94% da estimativa da variabilidade genética. Isto indica que os cruzamentos sofreram influência do ambiente na sua expressão fenotípica, o que provavelmente ocorreu devido à grande diversidade de condições edafo-climáticas existente entre os ambientes onde os cruzamentos foram avaliados.

O valor do coeficiente de determinação genotípico R_C^2 (82,08%) é semelhante aos valores de estimativas de herdabilidade ao nível de médias encontrados por Câmara (2006) em duas populações de milho (81,18% e 78,34%). Bekavac et al. (2007) também encontrou estimativas de herdabilidade ao nível de médias semelhantes em estudo realizado com duas populações de milho (78,1% e 68,5%). Este valor elevado ocorreu devido ao R_C^2 ter sido calculado utilizando a variância fenotípica entre as médias dos cruzamentos nos diversos ambientes. Quando calculado baseado na média de parcela sem repetição, o valor do R_C^2 cai para 26,07%. O coeficiente de determinação genotípico com valor de 82,08% permite dizer que há alta confiabilidade dos valores fenotípicos em representar os valores genotípicos. Porém, como houve um elevado valor da $\hat{\sigma}_{C \times A}^2$ e do $\hat{\sigma}_E^2$, este se mostrou ser um caráter complexo. Isto implica que, para se realizar uma seleção eficiente, esta deve ser feita com base nas médias dos cruzamentos avaliados em experimentos com repetições e em diversos ambientes.

4.5 Análise Dialélica

Após a realização das análises de variância individual e conjunta apresentadas nas Tabelas 5 e 6, e constatadas diferenças significativas tanto para efeitos de Tratamentos, Cruzamentos, seu desdobramentos e interações, procedeu-se, então, a análise conjunta de variância dialélica. As médias dos cruzamentos com cada linhagem testadora e das testemunhas estão apresentados na Tabela 7.

Os quadrados médios e respectivas significâncias, proporções das contribuições relativas da capacidade geral de combinação (CGC%) e da capacidade específica de combinação (CEC%) da análise conjunta de variância dialélica; estimativas das capacidades gerais de combinação das linhagens e dos testadores, capacidades

específicas de combinação e significâncias para o caráter stay-green estão apresentadas nas tabelas 9 e 10, respectivamente.

O resultado da análise dialélica detectou diferenças altamente significativas ($P \leq 0,01$) para as capacidades gerais de combinação das linhagens testadora (CGC_T), para as capacidades gerais de combinação das linhagens em avaliação (CGC_{LI}), indicando, desta forma, que as linhagens contribuem diferentemente para os cruzamentos onde elas estão envolvidas. Também foram detectadas diferenças altamente significativas para as capacidades específicas de combinação (CEC_{TxLI}), indicando que as combinações híbridas apresentaram performances diferenciais das esperadas somente pelos efeitos das capacidades gerais de combinação (CGC_T e CGC_{LI}) e, indica também, a existência de alta divergência genética entre as linhagens.

Os efeitos das interações das capacidades gerais de combinação $CGC(T) \times A$ e $CGC(LI) \times A$ e das capacidades específicas de combinação $CEC(TxLI) \times A$ foram altamente significativas ($P \leq 0,01$), indicando que os efeitos das capacidades gerais de combinação [$CGC(T)$ e $CGC(LI)$], apresentaram alterações nos ambientes em que os cruzamentos foram avaliados. O efeito da interação das capacidades específicas de combinação $CEC(TxLI) \times A$, que também foi altamente significativa, nos permite inferir que estas não se mostraram estáveis nos ambientes em que foram avaliadas. Devido a isso, a expressão do caráter stay-green depende do ambiente de avaliação, o que pode dificultar o processo de seleção.

A contribuição da porcentagem relativa da capacidade geral de combinação, obtida através das somas de quadrados da $CGCg1$, $CGCg2$ e da CEC_{TxLI} $[(CGCg1+CGCg2)/(CGCg1+CGCg2+CEC_{TxLI}).100]$ foi de 69,06%, enquanto a porcentagem relativa da capacidade específica de combinação $[(CEC_{TxLI})/(CGCg1+CGCg2+CEC_{TxLI}).100]$ foi de 30,94%, evidenciando a maior importância relativa dos efeitos gênicos aditivos sobre os não aditivos (dominância e epistasia) na expressão fenotípica do caráter stay-green. Entretanto, a alta significância dos efeitos da CEC_{TxLI} também implica na contribuição de efeitos gênicos não aditivos na expressão da variância fenotípica entre os cruzamentos. Os resultados encontrados neste trabalho concordam com outros reportados para outras culturas como sorgo, girassol e trigo (VAN OOSTEROM; JAYACHANDRAN; BIDINGER, 1996; CUKADAR-

OLMEDO; MILLER; HAMMOND, 1997; JOSHI et al., 2007), em que os efeitos gênicos aditivos também foram considerados de maior importância que os efeitos gênicos não aditivos.

As estimativas das capacidades gerais de combinação do grupo de linhagens testadoras (g1) variaram de -0,21 para a linhagem testadora 5 (L-46-10D) a 0,17 para a linhagem testadora 4 (L-49-02D). Estes valores concordam com as médias obtidas entre cada cruzamento, em que os cruzamentos com a linhagem testadora 5 foram os que obtiveram média mais baixa (3,31), enquanto a média mais alta foi obtida nos cruzamentos com a linhagem testadora 4 (3,69). Todas as estimativas de capacidade geral de combinação das linhagens testadoras foram significativas ($P \leq 0,05$) ou altamente significativas ($P \leq 0,01$), com exceção da linhagem 3 (L-36-07F). As linhagens testadoras que contribuíram com a redução das notas e, conseqüentemente com o aumento do caráter, foram as linhagens 1 (L-08-05F) com estimativa de -0,11 e a linhagem 5 (L-46-10D) com estimativa de -0,21.

Com relação às capacidades gerais de combinação do outro grupo de linhagens (g2), 62% (31) das 50 estimativas foram significativas ($P \leq 0,05$) ou altamente significativas ($P \leq 0,01$). Dentre as estimativas que foram significativas ou altamente significativas 45,2% contribuíram com o aumento da expressão do caráter, ou seja, 28% (14) do total de estimativas. As linhagens do grupo 2 que mais contribuíram para o aumento da expressão do caráter foram as linhagens 26 (43-03D), linhagem 5 (55-02D) e a linhagem 16 (33-04D), com estimativas de -0,67, -0,59 e -0,48, respectivamente. Entretanto, as linhagens 22 (16D) e a linhagem 33 (22-02D) foram as que mais contribuíram para a redução da expressão do caráter, com estimativas de 0,59 e 0,57, respectivamente.

Com relação às capacidades específicas de combinação apenas 21,2% (53) das 250 estimativas foram significativas ($P \leq 0,05$) ou altamente significativas ($P \leq 0,01$), concordando com a maior contribuição da soma de quadrados devido aos efeitos aditivos obtidos na análise dialélica. A porcentagem de estimativas com efeitos negativos e positivos foi de 10,8% e 10,4% respectivamente. O número de estimativas negativas foi praticamente o mesmo entre os cruzamentos com todas as linhagens

testadoras (6), com exceção do cruzamento com a linhagem testadora 2 (L38-05D) que apresentou 3 estimativas negativas.

As estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação, que são funções das diferenças genéticas das linhagens de um grupo heterótico e o efeito médio de uma substituição alélica no outro grupo heterótico, $CGC_i = (p_i - \bar{p})[a + (1 - 2\bar{t})d]$ ou $CGC_j = (t_i - \bar{t})[a + (1 - 2\bar{p})d]$ em que p_i refere-se à frequência do alelo favorável na i-ésima linhagem (1,2,3,...,50) e t_i refere-se à frequência do alelo favorável no i-ésimo testador (1,2,...,5), proporcionam informações sobre a concentração de alelos predominantemente aditivos, e seus efeitos têm sido de grande utilidade na indicação de genitores a serem utilizados em programas de melhoramento. Pode-se afirmar que os melhores genitores do grupo das linhagens testadoras são as linhagens 5 (L-46-10D) e a linhagem 1 (L-08-05F). Quanto ao outro grupo de linhagens, as que apresentam maior capacidade geral de combinação são as linhagens 26 (43-03D), linhagem 5 (55-02D) e, linhagem 16 (33-04D). Os efeitos da capacidade específica de combinação, que são função dos efeitos gênicos não aditivos e o produto das diferenças de frequências alélicas das linhagens dos grupos heteróticos opostos, $CEC = 2d[(p_i - \bar{p})(\bar{t} - t_i)]$, desconsiderando a epistasia, são estimados como o desvio do comportamento em relação ao que seria esperado com base nas estimativas das capacidades gerais de combinação. Estimativas negativas das capacidades específicas de combinação são esperadas quando $(p_i - \bar{p})$ e $(\bar{t} - t_i)$ tiverem sinais trocados e $d > 0$, sendo que isto acontece quando as linhagens apresentarem baixa divergência genética. No entanto as linhagens podem apresentar divergência genética, o que ocorrerá quando $(p_i - \bar{p})$ e $(\bar{t} - t_i)$ tiverem o mesmo sinal e $d < 0$ (VENCOVSKY, 1987; HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988).

O valor fenotípico do cruzamento é dado pelo somatório dos efeitos das capacidades gerais de combinação dos dois grupos de linhagens, e das capacidades específicas de combinação, ou seja, $y_{rs} = \mu + g_r + g_s + s_{rs}$. Entretanto, para os caracteres na qual a contribuição dos efeitos não aditivos (dominância e epistasia) tem uma menor importância, a capacidade específica de combinação pode ser desprezada na composição do valor fenotípico de um cruzamento, resultando em um valor

fenotípico dado por $y_{rs} = \mu + g_r + g_s$, o que não ocorre neste caso (VENCOVSKY, 1987).

Para fins de melhoramento normalmente interessam aos melhoristas as combinações híbridas que apresentem estimativas de capacidade específica de combinação favoráveis, e que pelo menos um dos genitores apresente maior capacidade geral de combinação. Com base neste estudo, grupos de linhagens que possuíssem estimativas de capacidades gerais de combinação negativas e significativas, ou altamente significativas, poderiam ser utilizadas para o desenvolvimento de sintéticos para a obtenção de linhagens com elevado stay-green. Estas linhagens também poderiam ser utilizadas como genitoras em cruzamentos biparentais para a formação de populações ou em cruzamentos para a obtenção de híbridos.

Tanto a CGC_T , CGC_{LI} e CEC_{TXLI} foram altamente significativas ($P \leq 0,01$), revelando, assim, que tanto os efeitos gênicos aditivos quanto os não aditivos estão envolvidos na expressão do caráter stay-green. Os resultados obtidos e suas interpretações sugerem que o caráter stay-green é predominantemente controlado por efeitos gênicos aditivos ($\cong 70\%$), entretanto a CEC contribui significativamente para a variação dos cruzamentos. Tanto a CGC como a CEC interagiram significativamente com o ambiente. O coeficiente de determinação genotípico foi elevado em função do elevado número de ambientes e, a interação cruzamentos x ambientes foi altamente significativa. Estes resultados mostram que o caráter é poligênico e complexo, e que para fins de melhoramento exige avaliações em experimentos com repetições em diversos ambientes. É possível realizar a seleção deste caráter durante o processo de obtenção de linhagens e, ainda, explorar alguma heterose durante o processo de obtenção de híbridos nos programas de melhoramento.

5 CONCLUSÕES

A partir dos resultados apresentados e, das discussões realizadas neste trabalho, é possível concluir que:

A contribuição dos efeitos gênicos aditivos é maior que a dos efeitos gênicos não aditivos (dominância e epistasia) na expressão fenotípica do caráter stay-green.

O caráter interage significativamente com o ambiente, o que exige que a seleção do mesmo deva ser realizada com base em médias de experimentos com repetições em diversos ambientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, A.M. **Controle genético do “stay-green” no feijoeiro**. 1999. 55 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

ALVES, G.F. **Relações entre seleção de testadores de milho e suas divergências genéticas**. 2006. 145 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

ARAUS, J.L.; SLAFER, G.A.; REYNOLDS, M.P.; ROYO, C. Plant breeding and drought in C3 cereals: What should we breed for? **Annals of Botany**, London, v. 89, p. 925 – 940, June, 2002.

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.

BEKAVAC, G.; PURAR, B.; STOJAKOVIC, M.; JOCKOVIC, D.J.; IVANOVIC, M.; NASTASIC, A. Genetic Analysis of Stay-Green Trait in Broad-Based Maize Populations. **Cereal Research Communications**, Budapest, v. 35, n. 1, p. 31-41, March, 2007.

BERNARDO, R. **Breeding for Quantitative Traits in Plants**. Woodbury: Stemma Press, 2002. 369 p.

BETRÁN, F.J.; BECK, D.; BÄNZIGER, M.; EDMÉADES, G.O. Genetic analysis of inbred and hybrid grain yield under stress and nonstress environments in tropical maize. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 807-817, 2003.

BORRELL, A.K.; TAO, Y.; MCINTYRE, C.L. Physiological basis, QTL and MAS of the stay-green drought resistance trait in grain sorghum. In: WORKSHOP ON MOLECULAR APPROACHES FOR THE GENETIC IMPROVEMENT OF CEREALS FOR STABLE PRODUCTION IN WATER-LIMITED ENVIRONMENTS. 1999, El Batán, **CIMMYT Publication**. Mexico: CIMMYT. p. 142-146.

BORRELL, A.K.; HAMMER, G.L.; HENZELL, R.G. Does maintaining the green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1037-1048, 2000.

BORRELL, A.K.; HAMMER, G.L.; VAN OOSTEROM, E. Stay-green: a consequence of the balance between supply and demand for nitrogen during grain filling? **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 138, p. 91-95, February, 2001.

BUCHANAN-WOLLASTON, V. The molecular biology of leaf senescence. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 48, n. 307, p. 181-199, February, 1997.

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**, Oxford, v. 1, p. 3-22, January, 2003.

CAMARA, T.M.M. **Mapeamento de QTLs de caracteres relacionados à tolerância ao estresse hídrico em milho**. 2006. 177 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

CAMPOS, H.; COOPER, M.; HABBEN, J.E.; EDMEADES, G.O.; SCHUSSLER, J.R. Improving drought tolerance in maize: a view from industry. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 90, p.19-34, 2004.

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.

COCHRAM, W. G.; COX, S. M. **Experimental Designs**. New York: Wiley International, 1957. 611p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2004. v. 1, 3.ed., Viçosa: UFV., 480p.

CUKADAR-OLMEDO, B.; MILLER J.F.; HAMMOND, J.J. Inheritance of the stay-green trait in sunflower. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 150-153, 1997.

DUVICK, D.N. Genetic contributions to advances in yield of U.S. maize. **Maydica**, Bergamo, v. 37, p. 69-79, 1992.

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; BÄNZIGER, M.; BOLAÑOS, J.; BECK, D.; E A. ORTEGA C. Development and per se performance of CIMMYT maize populations as drought tolerant sources. In. DEVELOPING DROUGHT AND LOW N-TOLERANT MAIZE, 1996, El Batán. **Proceedings of a Symposium**, Mexico: CIMMYT, 1997. p.254-262.

FERREIRA, D. F.; REZENDE, G. D. S. P.; RAMALHO, M. A. P. An adaptation of Griffing's Method IV of complete diallel cross analysis for experiments repeated in several environments. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 16, p. 357-366, 1993.

GARDNER, C. O.; EBERHART, S. A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**, Washington, v. 22, n. 3, p. 439-452, 1966.

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.

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

HALLAUER, A.R.; RUSSELL, W.A.; LAMKEY, K.R. Corn Breeding. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. (Eds.). **Corn and Corn Improvement**. 3rd ed., Madison: Iowa State University Press, 1988. p. 453-464.

HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative Genetics in Maize Breeding**. Madison: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HALLAUER, A.R.; LOPEZ-PEREZ, E. Comparisons among testers for evaluating lines of corn. **Proceedings of Annual Hybrid Corn Industry Research Conference**, Chicago, v. 34, p. 57-75, 1979.

HAYMAN, B. The theory and analysis of diallel crosses. **Genetics**, Baltimore, v. 39, n. 6, p. 789-809, 1954.

IBGE. **Indicadores agropecuários 1996-2003**. Rio de Janeiro, 2004. 68p.

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.

JOSHI, A. K.; KUMARI, M.; SINGH, V. P.; REDDY, C. M.; KUMAR, S.; RANE, J.; CHAND, R. Stay-green trait: variation, inheritance and its association with spot blotch resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) **Euphytica**, Wageningen, v. 153, p. 59-71. 2007.

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.

NOODEN, L.D.; GUIAMET, J.J.; JOHN, I. Senescence mechanisms. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 101, n. 4, p. 746-775, Dec, 1997.

VAN OOSTEROM, E.J.; JAYACHANDRAN, R.; BIDINGER, F.R. Diallel analysis of the stay-green trait and its components in sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 549-555, May-June. 1996.

RUSSELL, W.A. Evaluation for plant, ear, and grain traits of maize cultivars representing seven eras of breeding. **Maydica**, Bergamo, v. 30, p. 85-96, 1985.

SANTOS, M. F.; CÂMARA, T. M. M.; MORO, G. V.; COSTA, E. F. N.; SOUZA JÚNIOR, C. L. Responses to selection and changes in combining ability after three cycles of a modified reciprocal recurrent selection in maize. **Euphytica**, Wageningen, v. 157, p. 185-194, 2007.

SAS Institute, 1999. SAS® Proprietary Software, Version 8.2. SAS Institute Inc.

STANGLAND, G.R.; RUSSELL, W.A.; SMITH, O.S. Agronomic evaluation of four maize synthetics and their crosses after recurrent selection for yield. **Maydica**, Bergamo, v. 27, p. 199-212, 1982.

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

TOLLENAR, M.; AHMADZADEH, A.; LEE, E.A. Physiological Basis of Heterosis for Grain Yield in Maize. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 2086-2094, 2004.

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

THOMAS, H.; SMART, C. Crops that stay-green. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 123, p. 193-219, 1993.

VENCOVSKY, R. Herança Quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. (Eds) **Melhoramento e Produção do Milho**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 1, cap. 5, p.137-214.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética Biométrica no Fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 1992. 486 p.

WALULU, R.S.; ROSENOW, D.T.; WESTER, D.B.; NGUYEN, H.T. Inheritance of the stay-green trait in sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 34, p. 970-972, 1994.

WU, H.X.; MATHESON, A.C. Analysis of half-diallel mating design with missing crosses: Theory and SAS program for testing and estimating GCA and SCA fixed effects. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, p. 130-137, 2000.

WU, H.; MATHESON, A. C. Analyses of half-diallel mating designs with missing crosses: Theory and SAS program for testing and estimating GCA and SCA variance components. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 50, n. 5-6, p. 265-271, 2001.

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 Crops Research**, Amsterdam, v.89, p.135–152, 2004.

ZHANG, Y.; KHANG, M. S. DIALLEL-SAS: A program for Griffing's diallel methods. In: KANG, M. S. (Ed.). **Handbook of formulas and software for plant geneticists and breeders**. Binghamton: The Haworth Press, 2003. chap. 1, p. 1-20.

ANEXOS

Tabela 1 - Descrição e origem das linhagens em avaliação e linhagens testadoras elites utilizadas para obtenção dos cruzamentos

Número	Linhagem ¹	Origem	Número	Linhagem ¹	Origem
01	16-02 D	IG-2	29	131-01 F	Top Cross
02	25-04 D	IG-2	30	148-03 F	Top Cross
03	27-01 D	IG-2	31	16-04 R	BR-201
04	39-05 D	IG-2	32	16-07 F	BR-201
05	55-02 D	IG-2	33	22-02 D	BR-201
06	66-08 D	IG-2	34	23-05 D	BR-201
07	94-02 D	IG-2	35	24-03 R	BR-201
08	102-02 D	IG-2	36	29-03 D	BR-201
09	120-04 F	IG-2	37	35-04 F	BR-201
10	149-05 D	IG-2	38	44-01 F	BR-201
11	168 F	IG-2	39	48-03 D	BR-201
12	03-01 D	HS-1	40	18-08A F	CMS-05
13	20-02 R	HS-1	41	37-02B D	CMS-05
14	30-07 F	HS-1	42	37-03B D	CMS-05
15	31-01 F	HS-1	43	37-04B F	CMS-05
16	33-04 D	HS-1	44	37-07B D	CMS-05
17	04-05 F	IG-1	45	31 F	606
18	88-05 F	IG-1	46	53 F	606
19	90-05 F	IG-1	47	06-05 D	601
20	8 F	XL-560	48	61-02 F	Top Cross
21	14 D	XL-560	49	84-03 F	Top Cross
22	16 D	XL-560	50	08-04B D	CMS-05
23	56 D	XL-560	51 (T1)	L-08-05 F	IG-1
24	128 D	XL-560	52 (T2)	L-38-05 D	HS-1
25	14-01 F	Top Cross	53 (T3)	L-36-07 F	HS-1
26	45-03 D	Top Cross	54 (T4)	L-49-02 D	Top Cross
27	53-01 F	Top Cross	55 (T5)	L-46-10 D	BR-201
28	82-01 D	Top Cross			

¹ Letra após a identificação das linhagens: D dentado; F flint ou duro e R roxa.

Tabela 2 – Esquema das análises individuais e esperanças dos quadrados médios, para experimento de avaliação de testcrosses

FV	GL	QM	E(QM)	F
Repetição	$k - 1$	-	-	-
Blocos/Repetição	$k(j - 1)$	-	-	-
Tratamentos	$t - 1$	Q_1	$\sigma^2 + kV_T$	Q_1/Q_2
Resíduo	$(j - 1)(kj - j - 1)$	Q_2	σ^2	

k : número de repetições; t número do tratamento; j tamanho do látice.

Tabela 3 - Esquema da análise conjunta, esperanças dos quadrados médios e testes F

FV	GL	QM	E(QM)	F
Ambientes (A)	$l-1$	Q_1	$\sigma^2 + r\sigma_A^2$	Q_1/Q_{22}
Tratamentos (T)	$t-1$	Q_2	$\sigma^2 + r\sigma_{TA}^2 + rV_T$	Q_2/Q_{12}
Cruzamentos (C)	n_1n_2-1	Q_3	$\sigma^2 + r\sigma_{CA}^2 + rV_C$	Q_3/Q_{13}
C ₁	n_2-1	Q_4	$\sigma^2 + r\sigma_{C_1A}^2 + rV_{C_1}$	Q_4/Q_{14}
C ₂	n_2-1	Q_5	$\sigma^2 + r\sigma_{C_2A}^2 + rV_{C_2}$	Q_5/Q_{15}
C ₃	n_2-1	Q_6	$\sigma^2 + r\sigma_{C_3A}^2 + rV_{C_3}$	Q_6/Q_{16}
C ₄	n_2-1	Q_7	$\sigma^2 + r\sigma_{C_4A}^2 + rV_{C_4}$	Q_7/Q_{17}
C ₅	n_2-1	Q_8	$\sigma^2 + r\sigma_{C_5A}^2 + rV_{C_5}$	Q_8/Q_{18}
Entre C	4	Q_9	$\sigma^2 + r\sigma_{ECA}^2 + rV_{EC}$	Q_9/Q_{19}
Testemunhas (TM)	$m-1$	Q_{10}	$\sigma^2 + r\sigma_{TMA}^2 + rV_{TM}$	Q_{10}/Q_{20}
C vs TM	1	Q_{11}	$\sigma^2 + r\sigma_{(CvsTM)A}^2 + rV_{CvsTM}$	Q_{11}/Q_{21}
T x A	$(t-1)(l-1)$	Q_{12}	$\sigma^2 + k\sigma_{TA}^2$	Q_{12}/Q_{22}
(C) x A	$(n_1n_2-1)(l-1)$	Q_{13}	$\sigma^2 + r\sigma_{CA}^2$	Q_{13}/Q_{22}
C ₁ x A	$(n_2-1)(l-1)$	Q_{14}	$\sigma^2 + r\sigma_{C_1A}^2$	Q_{14}/Q_{22}
C ₂ x A	$(n_2-1)(l-1)$	Q_{15}	$\sigma^2 + r\sigma_{C_2A}^2$	Q_{15}/Q_{22}
C ₃ x A	$(n_2-1)(l-1)$	Q_{16}	$\sigma^2 + r\sigma_{C_3A}^2$	Q_{16}/Q_{22}
C ₄ x A	$(n_2-1)(l-1)$	Q_{17}	$\sigma^2 + r\sigma_{C_4A}^2$	Q_{17}/Q_{22}
C ₅ x A	$(n_2-1)(l-1)$	Q_{18}	$\sigma^2 + r\sigma_{C_5A}^2$	Q_{18}/Q_{22}
(Entre C) x A	$4(l-1)$	Q_{19}	$\sigma^2 + r\sigma_{ECA}^2$	Q_{19}/Q_{22}
(TM) x A	$(m-1)(l-1)$	Q_{20}	$\sigma^2 + r\sigma_{TMA}^2$	Q_{20}/Q_{22}
(C vs TM) x A	$(l-1)$	Q_{21}	$\sigma^2 + r\sigma_{(CvsTM)A}^2$	Q_{21}/Q_{22}
Resíduo	$l(j-1)(kj-j-1)$	Q_{22}	σ^2	

r : número de repetições; l : número de ambientes; t : número de tratamentos; k : número de blocos do látice; n_1 : número de linhagens do grupo 1; n_2 : número de linhagens do grupo 2 e m : número de testemunhas.

Tabela 4. Esquema de análise de variância dos cruzamentos dialélicos com os respectivos testes F

FV	GL	QM	F
Ambiente (A)	$l - 1$	QM_1	QM_1/QM_{10}
Cruzamentos (C)	$n_1 n_2 - 1$	QM_2	QM_2/QM_6
CGC Grupo 1(G1)	$n_1 - 1$	QM_3	QM_3/QM_7
CGC Grupo 2 (G2)	$n_2 - 1$	QM_4	QM_4/QM_8
CEC	$(n_1 - 1)(n_2 - 1)$	QM_5	QM_5/QM_9
C x A	$(n_1 n_2 - 1)(l - 1)$	QM_6	QM_6/QM_{10}
CGC (G1) x A	$(n_1 - 1)(l - 1)$	QM_7	QM_7/QM_{10}
CGC (G2) x A	$(n_2 - 1)(l - 1)$	QM_8	QM_8/QM_{10}
CEC x A	$(n_1 - 1)(n_2 - 1)(l - 1)$	QM_9	QM_9/QM_{10}
Resíduo	$l(k - 1)(rk - k - 1)$	QM_{10}	

r : número de repetições; l : número de ambientes; k : número de blocos do látice;

n_1 : número linhagens do grupo 1; n_2 : número de linhagens do grupo 2.

Tabela 5 – Quadrados médios e significâncias, coeficientes de variação e médias, das análises individuais, para o caráter stay-green

FV	GL	QM			
		ANH 0506 ^a	ARE 0405	ARE 0506	CAT 0405
Tratamento	255	0,61**	0,44**	0,77**	0,60**
Erro Intra	224	0,24	0,23	0,31	0,23
CV%		11,57	22,21	16,32	12,27
Média		4,21	2,16	3,42	3,88

FV	GL	QM			
		CAT 0506	DEP 0405	DEP 0506	DEP 0607
Tratamento	255	0,57**	0,93**	0,51**	0,76**
Erro Intra	224	0,18	0,45	0,23	0,46
CV%		9,89	18,13	11,99	27,68
Média		4,23	3,68	4,04	2,44

^a ANH refere-se ao ambiente da Estação Experimental da Fazenda Anhembi no ano agrícola 2005/2006; ARE e CAT referem-se aos ambientes das Estações Experimentais das Fazendas Areão e Caterpillar, respectivamente, nos anos agrícolas 2004/2005 e 2005/2006; DEP refere-se ao ambiente da Estação Experimental do Departamento de Genética nos anos agrícolas 2004/2005, 2005/2006 e 2006/2007.

** significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 6 – Quadrados médios e significâncias, coeficiente de variação (CV%) e média geral da análise conjunta para o carácter stay-green

FV	GL	QM
Ambientes (A)	7	325,87**
Tratamentos (T)	255	2,68**
Cruzamentos (C)	249	2,59**
C1	49	2,87**
C2	49	1,50**
C3	49	2,34**
C4	49	1,73**
C5	49	2,94**
Entre C	4	22,17**
Testemunhas (TM)	5	4,27**
C vs TM	1	15,15*
TxA	1785	0,47**
CxA	1743	0,46**
C1xA	343	0,44**
C2xA	343	0,39**
C3xA	343	0,47**
C4xA	343	0,40**
C5xA	343	0,48**
(Entre C)xA	28	2,26**
TMxA	35	0,51**
(C vs TM)xA	7	1,62**
Erro Efetivo	1792	0,29
CV%		15,34
Média		3,51

*, ** significativo a 5% e 1% de probabilidade respectivamente.

Tabela 7 – Médias, valores mínimos e máximos, e diferença mínima significativa entre os cruzamentos para o caráter stay-green

FV	Média	Mínimo	Máximo
C1	3,41	2,39	4,19
C2	3,67	2,87	4,33
C3	3,51	2,56	4,26
C4	3,69	2,98	4,48
C5	3,31	2,32	4,40
Testemunhas	3,11	2,39	3,61

Tabela 8 – Estimativas da variância fenotípica ($\hat{\sigma}_F^2$), interação cruzamentos x ambientes ($\hat{\sigma}_{C \times A}^2$), erro experimental ($\hat{\sigma}_E^2$), estimativa da variabilidade genética entre cruzamentos ($\hat{V}_C$), coeficiente de determinação genotípico entre cruzamentos (R_C^2), e intervalos de confiança (IC)¹ correspondentes para o caráter stay-green (SG)

Parâmetro	SG ²
$\hat{\sigma}_F^2$	16,21
IC	[13,70; 19,48]
$\hat{\sigma}_{C \times A}^2$	8,77
IC	[7,41; 10,54]
$\hat{V}_C$	13,30
IC	[10,85; 16,66]
$\hat{\sigma}_E^2$	28,95
R_C^2	82,08
IC	[78,22; 85,05]

¹ Intervalos de confiança com $\alpha = 95\%$ de probabilidade;

² $\times 10^2$.

Tabela 9 – Quadrados médios, significâncias, porcentagens relativas da capacidade geral de combinação (CGC%) e capacidade específica de combinação (CEC%) da análise dialélica para o caráter stay-green.

FV	GL	QM
Ambiente (A)	7	318,06**
Cruzamentos (C)	249	2,59**
CGC Testadores (T)	4	22,17**
CGC Linhagens (LI)	49	7,29**
CEC (TxLI)	196	1,02**
C x A	1743	0,46**
CGC (T) x A	28	2,26**
CGC (LI) x A	343	0,65**
CEC (TxLI) x A	1372	0,38**
Erro Efetivo	1792	0,29
CGC (T+LI) %		69,06
CEC %		30,94

** significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 10 – Estimativas das capacidades gerais de combinação das linhagens e testadores, capacidades específicas de combinação e respectivas significâncias para o caráter stay-green

	CEC										CGC	
	TEST 1		TEST 2		TEST 3		TEST 4		TEST 5			
Linh 1	0,05	ns	-0,04	ns	0,12	ns	0,00	ns	-0,13	ns	-0,23	*
Linh 2	0,25	ns	-0,25	ns	0,22	ns	-0,14	ns	-0,09	ns	0,32	**
Linh 3	-0,03	ns	0,18	ns	-0,21	ns	0,17	ns	-0,10	ns	-0,36	**
Linh 4	0,29	*	-0,10	ns	-0,17	ns	-0,04	ns	0,02	ns	-0,30	**
Linh 5	0,61	**	-0,21	ns	-0,35	*	-0,12	ns	0,07	ns	-0,59	**
Linh 6	0,62	**	-0,15	ns	-0,41	**	0,13	ns	-0,19	ns	-0,08	ns
Linh 7	0,28	*	0,04	ns	0,01	ns	-0,37	**	0,04	ns	-0,16	ns
Linh 8	-0,34	*	0,02	ns	0,24	ns	0,17	ns	-0,08	ns	-0,23	*
Linh 9	-0,15	ns	-0,20	ns	0,64	**	-0,19	ns	-0,09	ns	-0,09	ns
Linh 10	0,25	ns	0,22	ns	-0,10	ns	0,04	ns	-0,41	**	-0,10	ns
Linh 11	0,16	ns	0,01	ns	-0,35	**	0,20	ns	-0,02	ns	-0,41	**
Linh 12	-0,11	ns	0,15	ns	0,57	**	-0,24	ns	-0,36	**	0,07	ns
Linh 13	-0,05	ns	0,28	*	0,30	*	-0,29	*	-0,25	ns	0,21	*
Linh 14	0,06	ns	0,03	ns	0,22	ns	-0,29	*	-0,02	ns	0,03	ns
Linh 15	-0,60	**	0,23	ns	0,32	*	-0,32	*	0,37	**	-0,22	*
Linh 16	-0,53	**	0,14	ns	0,24	ns	-0,07	ns	0,22	ns	-0,48	**
Linh 17	0,16	ns	-0,26	ns	-0,17	ns	-0,01	ns	0,28	*	-0,08	ns
Linh 18	0,16	ns	0,03	ns	-0,04	ns	0,16	ns	-0,31	*	-0,08	ns
Linh 19	0,11	ns	0,34	*	-0,20	ns	0,02	ns	-0,26	ns	-0,10	ns
Linh 20	0,26	ns	-0,10	ns	-0,04	ns	-0,11	ns	0,00	ns	0,45	**
Linh 21	-0,02	ns	-0,16	ns	-0,17	ns	0,34	*	0,01	ns	0,45	**
Linh 22	0,19	ns	-0,55	**	0,16	ns	0,18	ns	0,01	ns	0,59	**
Linh 23	0,21	ns	-0,07	ns	-0,21	ns	0,27	ns	-0,20	ns	0,18	*
Linh 24	0,28	*	-0,51	**	-0,03	ns	-0,14	ns	0,39	**	0,34	**
Linh 25	0,08	ns	-0,19	ns	-0,03	ns	-0,02	ns	0,15	ns	0,03	ns
Linh 26	-0,35	*	0,40	**	0,30	*	-0,03	ns	-0,32	*	-0,67	**
Linh 27	-0,05	ns	0,03	ns	0,21	ns	0,23	ns	-0,41	**	-0,06	ns
Linh 28	-0,01	ns	-0,08	ns	0,03	ns	0,37	**	-0,30	*	-0,14	ns
Linh 29	0,20	ns	0,01	ns	-0,17	ns	0,10	ns	-0,14	ns	0,25	**
Linh 30	-0,16	ns	0,09	ns	-0,07	ns	-0,12	ns	0,25	ns	0,31	**
Linh 31	-0,06	ns	0,20	ns	0,01	ns	-0,21	ns	0,06	ns	0,24	**
Linh 32	0,09	ns	-0,11	ns	-0,05	ns	0,04	ns	0,03	ns	0,32	**
Linh 33	-0,23	ns	0,09	ns	0,14	ns	-0,27	*	0,27	*	0,57	**
Linh 34	-0,26	ns	0,07	ns	0,25	ns	-0,06	ns	-0,01	ns	0,27	**
Linh 35	-0,51	**	0,23	ns	0,20	ns	-0,15	ns	0,23	ns	-0,19	*
Linh 36	-0,26	ns	-0,07	ns	0,04	ns	-0,36	**	0,65	**	0,44	**
Linh 37	-0,19	ns	0,38	**	-0,11	ns	-0,19	ns	0,12	ns	-0,06	ns
Linh 38	0,00	ns	0,05	ns	-0,10	ns	-0,07	ns	0,11	ns	-0,23	*
Linh 39	-0,14	ns	0,26	ns	-0,04	ns	-0,26	ns	0,18	ns	0,14	ns
Linh 40	0,17	ns	-0,05	ns	-0,38	**	0,36	**	-0,10	ns	-0,34	**
Linh 41	-0,41	**	-0,04	ns	0,22	ns	0,35	*	-0,12	ns	-0,37	**
Linh 42	-0,13	ns	0,06	ns	-0,07	ns	-0,03	ns	0,16	ns	-0,03	ns
Linh 43	-0,09	ns	-0,23	ns	0,06	ns	0,24	ns	0,01	ns	-0,10	ns
Linh 44	-0,02	ns	0,12	ns	0,00	ns	0,11	ns	-0,21	ns	-0,08	ns
Linh 45	-0,06	ns	-0,06	ns	-0,13	ns	0,16	ns	0,09	ns	0,12	ns
Linh 46	0,29	*	-0,35	*	-0,29	*	0,17	ns	0,18	ns	0,30	**
Linh 47	-0,24	ns	0,12	ns	-0,03	ns	0,19	ns	-0,04	ns	-0,05	ns
Linh 48	0,28	*	-0,11	ns	-0,52	**	0,01	ns	0,34	*	0,33	**
Linh 49	-0,13	ns	0,17	ns	-0,04	ns	-0,07	ns	0,08	ns	0,25	**
Linh 50	0,10	ns	-0,04	ns	-0,01	ns	0,13	ns	-0,19	ns	-0,40	**
CGC	-0,11	*	0,16	**	-0,01	ns	0,17	**	-0,21	**		

ns, *, ** não significativo e significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.