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

Mapeamento de QTL's e base genética da correlação entre caracteres em uma população de milho tropical

Priscilla Karen Sabadin

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

**Piracicaba
2008**

**Priscilla Karen Sabadin
Engenheira Agrônoma**

**Mapeamento de QTL's e base genética da correlação entre caracteres em uma população
de milho tropical**

**Orientador:
Prof. Dr. ANTONIO AUGUSTO FRANCO GARCIA**

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

**Piracicaba
2008**

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

Sabadin, Priscilla Karen

Mapeamento de QTL's e base genética da correlação entre caracteres em uma população de milho tropical / Priscilla Karen Sabadin. - - Piracicaba, 2008.
89 p.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Correlação genética e ambiental 2. Mapeamento genético 3. Marcador molecular 4. Melhoramento genético vegetal 5. Milho I. Título

CDD 633.15

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedicatória

**ESTE TRABALHO É DEDICADO AOS MEUS PAIS, EM
ESPECIAL À MINHA MÃE INÊS, POR TUDO QUE
FIZERAM PARA QUE EU CHEGASSE ATÉ AQUI.**

Agradecimentos

A Deus;

Ao CNPq, pelo apoio financeiro investido durante o período do Doutorado, para a realização do trabalho;

Ao Prof. Dr. Antonio Augusto Franco Garcia, pela confiança, paciência e dedicada orientação nestes mais de dez anos de convívio.

Ao Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pelo suporte acadêmico;

Ao Prof. Dr. Cláudio Lopes de Souza Jr., pelo apoio e importantes contribuições durante este período;

À minha família, José Carlos e Inês, Patricia e Flávio, e Tiago, que me deram todo o apoio necessário para a conclusão deste curso e em todas as decisões tomadas;

Aos colegas de trabalho, Gabriel Rodrigues Alves Margarido, Marcelo Mollinari, Maria Marta Pastina, Millor Fernandes Rosário e Rodrigo Gazaffi, pelo companheirismo, amizade e ajuda na execução do trabalho;

Aos colegas do laboratório do Prof. Dr. Cláudio Lopes pela amizade e importantes contribuições para a execução do trabalho;

Aos colegas e funcionários do Departamento de Genética da ESALQ/USP;

Aos meus amigos e colegas acadêmicos, que me apoiaram e incentivaram durante a execução do trabalho. Obrigada por tudo, obrigada também pela amizade e companheirismo.

E a todos, que de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização do presente trabalho. A todos o meu muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	07
ABSTRACT.....	08
LISTA DE FIGURAS.....	09
LISTA DE TABELAS.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
Referências.....	17
2. MAPEAMENTO DE QTL's PARA COMPONENTES DE PRODUÇÃO NUMA POPULAÇÃO DE MILHO TROPICAL.....	22
Resumo.....	22
Abstract.....	23
2.1 Introdução.....	24
2.2 Desenvolvimento.....	26
2.2.1 Material e Métodos.....	26
2.2.1.1 Avaliações Experimentais.....	26
2.2.1.2 Análises Fenotípicas.....	27
2.2.1.3 Mapeamento de QTL's.....	27
2.2.2 Resultados.....	28
2.2.2.1 Análise dos Dados Ex.perimentais.....	28
2.2.2.2 Mapeamento de QTL's	32
2.2.3 Discussão.....	38
Referências.....	42
3 MAPEAMENTO DE QTL'S E BASE GENÉTICA DA CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERES EM UMA POPULAÇÃO DE MILHO TROPICAL.....	50
Resumo.....	50
Abstract.....	51
3.1 Introdução.....	52
3.2 Desenvolvimento.....	54
3.2.1 Material e Métodos.....	54

3.2.1.1 Avaliações Fenotípicas.....	54
3.2.1.2 Correlação entre Caracteres.....	55
3.2.1.3 Mapa Genético.....	56
3.2.1.4 Mapeamento por Intervalo Composto (CIM).....	56
3.2.1.5 Mapeamento por Intervalo Composto para Múltiplos Caracteres simultaneamente (mCIM).....	58
3.2.2 Resultados.....	59
3.2.2.1 Avaliações Fenotípicas.....	59
3.2.2.2 Correlações entre Caracteres.....	62
3.2.2.3 QTL's mapeados usando CIM.....	66
3.2.2.4 QTL's mapeados usando mCIM.....	69
3.2.3 Discussão.....	78
Referências.....	81
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89

RESUMO

Mapeamento de QTL's e base genética da correlação entre caracteres em uma população de milho tropical

Os caracteres quantitativos normalmente têm elevada importância agronômica e econômica, sendo geralmente os mais importantes nos programas de melhoramento das mais diversas espécies, como é o caso do milho (*Zea mays* L.). Dentre os vários caracteres considerados, destaca-se a produção de grãos e seus componentes. Dessa forma, o objeto de estudo do presente trabalho foi mapear QTL's relacionados à vários caracteres de importância agronômica, estimar seus efeitos genéticos e entender as causas da correlação genética (pleiotropia ou ligação), em uma população de milho tropical. Para tanto, foi utilizada uma população com 400 progênies $F_{2:3}$, foram avaliadas em quatro delineamento látice 10 x 10 em cinco ambientes. Os métodos de mapeamento utilizados foram o Mapeamento por Intervalo Composto (CIM), de forma univariada e multivariada considerando múltiplos caracteres (mCIM). O mapa de ligação previamente construído possui 117 locos marcadores microssatélites, com distância média de 14 cM entre eles em média. Os caracteres avaliados foram: produção de grãos (PG), peso da espiga (PE), prolificidade (PROL), número de espigas (NE), número de ramificações do pendão (NRP), rendimento (REND); altura de planta (AP), altura da espiga (AE), comprimento da espiga (CE), diâmetro da espiga (DE), número de fileiras da espiga (NFI), número de grãos por fileira (NGFI), número de folhas acima da primeira espiga (NFO), posição relativa da espiga (PR), porcentagem de acamamento de plantas (ACP) e porcentagem de quebramento do colmo (QUE). Em geral poucos QTL's foram mapeados devida à alta interação G x A, e esses resultados foram consistentes com os apresentados na literatura. Usando o mCIM, foi possível separar QTL's ligados de QTL's com efeito pleiotrópico, permitindo melhor entendimento das causas genéticas da correlação. De forma geral, caracteres mais correlacionados como PG e AP tiveram predomínio de QTL's pleiotrópicos, enquanto que caracteres menos correlacionados (como por exemplo, CE e NGFI) tiveram QTL's segregando de forma independente ou com ligação entre si, ou seja, com baixa presença de efeitos pleiotrópicos. Caracteres correlacionados negativamente com os demais em geral apresentaram efeitos aditivos com sinais opostos aos dos demais caracteres. Dessa forma, foi possível identificar regiões que podem ser manipuladas para realizar seleção assistida de forma mais eficiente. De forma geral, foi difícil localizar QTL's de grande efeito, principalmente com uso do mCIM, dada a presença de elevada interação entre genótipos e ambientes, que fez que apenas os QTL's mais estáveis fossem mapeados.

Palavras-chave: Correlação genética; Pleiotropia; Ligação; Seleção assistida por marcadores

ABSTRACT

QTL Mapping and the genetic basis of the correlation between traits in a tropical maize population

Quantitative traits normally are the most important ones in plant breeding programs for several species, such as maize (*Zea mays* L.). Several traits are commonly evaluated and grain yield and its components are normally the major focus of selection. The objective of this study was to map QTL related to the several traits of agronomic importance, estimating their genetic effects and genomic locations, aiming to understand the genetic causes of correlation (pleiotropy or linkage) in tropical maize population. A population with 400 F_{2:3} inbred lines was used and the progenies were evaluated in five different environments in Piracicaba, São Paulo, Brazil. QTL were mapped using Composite Interval Mapping (CIM) for several traits in a univariate way, and also using an extension of CIM allowing QTL mapping for several traits simultaneously (multivariate CIM, or mCIM). The genetic map was previously estimated and had 117 microsatellite loci, with average distance of 14 cM between them. The traits considered were: grain yield (GY), ear weight (EW), prolificacy (PROL), ear number (EN), tassel branch number (TBN), plant height (PH), ear height (EH), ear length (EL), ear diameter (ED), kernel row number (KRN), kernels per row (KR), leaf number (LN), ear position (EP) and stalk lodging (SL). In general, few stable QTL were mapped due to high G x E interaction, and the results were consistent with previous ones reported on the literature. Using mCIM, it was possible to separate linked QTL from QTL with pleiotropic effects, allowing a better understand of the genetic causes of the correlation. In general, traits with higher correlation such as GY and PH tend to have more pleiotropic QTL than low correlated traits, such as EL and KR, which have some linked QTL. Negative correlated traits in general had QTL with additive effects with opposite signs. Based on the results, it was possible to identify regions that can be manipulated to do marker assisted selection in a more efficient way, combining QTL alleles in order to build favorable genotypes.

Key-words: Genetic correlation; Pleiotropy; Linkage; Marker assisted selection

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1 - Gráficos da distribuição dos valores de *LOD* indicando a localização de QTL's detectados pelo CIM. Os triângulos (▲) indicam a posição das marcas e os triângulos invertidos indicam a posição dos QTL's mapeados. Como os *LOD*'s do *threshold* foram muito similares, optou-se por apresentar graficamente apenas uma reta na posição com *LOD* = 3,70 . Os QTL's para produção de grãos foram previamente mapeados por Sibov et al. (2003a) e estão indicados como *Gy2*, *Gy7*, *Gy8a* e *Gy8b*. Foram representados apenas os cromossomos com pelo menos um QTL mapeado. Legenda para os caracteres: ver Tabela 2.1..... 35
- Figura 3.1 - Dendrograma mostrando o agrupamento de todos os caracteres avaliados (Legenda para os caracteres: ver Tabela 3.1)..... 65
- Figura 3.2 - Gráficos da distribuição dos valores do *LOD* indicando a localização de QTL's associados aos caracteres detectados pelo mCIM. Optou-se por apresentar o *LOD* do *threshold* apenas na posição com *LOD* = 10,4 à 5%. No eixo das distâncias, a linha pontilhada em cinza indica região com distância acima de 50 cM, os triângulos (▲) indicam a posição das marcas e os triângulos invertidos indicam a posição dos QTL's mapeados. Foram representados apenas os cromossomos com pelo menos um QTL mapeado. Legenda para os caracteres: ver Tabela 3.1..... 74

Figura 3.3 - Gráficos mostrando a localização de todos os QTL's mapeados no presente trabalho (ver Tabelas 3.3, 3.4 e 3.5 para detalhes e nomenclatura). No eixo das distâncias, a linha pontilhada em cinza indica região com distância acima de 50 cM (não considerada nas análises) e os triângulos (▲) indicam a posição das marcas. Triângulos invertidos indicam a posição dos QTL's mapeados. Legenda para os caracteres: ver Tabela 3.1.....

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 -	Estimativas dos parâmetros: variâncias fenotípicas entre médias (σ_F^2), variância entre progênies (σ_P^2), variância da interação progênies x ambientes ($\sigma_{P \times A}^2$), variância residual (σ_e^2), coeficiente de herdabilidade para médias de progênies (h_P^2) com respectivos intervalos de confiança a 95% (IC).....	30
Tabela 2.2 -	Valores dos coeficientes de correlação fenotípica (abaixo da diagonal) e genética (acima da diagonal) relativo a todos os caracteres avaliados.....	31
Tabela 2.3 -	QTL's mapeados para os vários caracteres com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d), usando o modelo CIM.....	36
Tabela 3.1 -	Valores dos quadrados médios (QM) das análises de variâncias conjuntas, coeficiente de variação experimental (CV), médias e coeficientes de herdabilidade (h_P^2 , nível de médias) com seus respectivos intervalos de confiança a 95%, para todos os caracteres avaliados.....	61
Tabela 3.2 -	Valores dos coeficientes de correlação fenotípica (abaixo da diagonal) e genética (acima da diagonal) relativo a todos os caracteres avaliados.....	64
Tabela 3.3 -	QTL's mapeados com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d) usando modelo CIM para os caracteres REND, NFO, PR e QUE.....	68
Tabela 3.4 -	QTL's mapeados com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d) usando o modelo mCIM para os caracteres PG, PE, PROL, NE, NRP, AP e AE.....	72

Tabela 3.5 -	QTL's mapeados com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d) usando o modelo mCIM em duas situações: com os caracteres CE e NGFI, e com os caracteres DE e NFL.....	75
--------------	--	----

1. INTRODUÇÃO

A resolução de muitos problemas de importância tanto em genética como em outras áreas começou com observações da variação fenotípica. Muitos caracteres apresentam variação contínua e são influenciados por fatores genéticos e ambientais, sendo controlados por muitos genes, cada um com um pequeno efeito no caráter. Por essa razão, esses caracteres são chamados caracteres quantitativos e o estudo deles constitui a genética quantitativa (HARTL; CLARK, 1997; LYNCH; WALSH, 1998). No milho, a maior parte dos caracteres de importância tanto agrônômica como econômica têm herança quantitativa e, por isso, grande ênfase tem sido dada para desvendar a complexa arquitetura de tais caracteres.

O valor econômico total do milho (*Zea mays* L.) é definido por uma série de caracteres quantitativos relacionados, tais como prolificidade, comprimento e diâmetro da espiga, número de fileiras de grãos na espiga, número de grãos por fileira e peso médio do grão (JUGENHEIMER, 1976), os quais apresentam também grande importância agrônômica (PATERNIANI, 1993). Produção de grãos é um caráter que apresenta herança complexa, sendo influenciado por vários fatores tanto de origem genética como ambiental. Por isso, grande ênfase tem sido dada aos componentes que são diretamente a ela correlacionados, pois a resposta à seleção para tais caracteres tem se mostrado mais eficiente do que a seleção direta para produção. Portanto, o estudo das correlações entre caracteres é muito importante, já que permite identificar os caracteres que são direta ou indiretamente relacionados à produção, facilitando com isso, as estratégias para a seleção.

Um enfoque muito usado para estudos dos caracteres quantitativos se baseia em evidências de que tais caracteres são controlados por muitos locos gênicos, denominados QTL's (*Quantitative Trait Loci*). Para estimar a localização, efeitos e interações entre os QTL's, alia-se o emprego de ferramentas biométricas sofisticadas com informações fornecidas pelos marcadores moleculares. Por isso, com o advento dos marcadores moleculares, o desenvolvimento de mapas genéticos de marcadores moleculares altamente saturados, a disponibilidade de métodos estatísticos sofisticados, bem como programas computacionais altamente eficientes, tem sido possível mapear QTL's responsáveis pela expressão de caracteres quantitativos.

Geralmente, é possível detectar tanto QTL's com efeitos maiores como aqueles com efeitos menores. A capacidade de detectar (ou mapear) um QTL depende de vários fatores que

são a magnitude do seu efeito sobre o caráter, do tipo e tamanho da população segregante avaliada, da frequência de recombinação entre marcador e QTL, da herdabilidade do caráter, do número de genes controlando os caracteres de interesse e sua posição no genoma, densidade e cobertura do mapa de ligação, distribuição dos efeitos genéticos e existência de interação gênica, bem como da probabilidade de erro usados para detectar um efeito do QTL como significativo (LYNCH; WALSH, 1998; FALCONER; MACKAY, 1996).

Vários métodos estatísticos foram desenvolvidos no intuito de detectar associações significativas entre marcador e QTL. Normalmente, os métodos de análise abordados incluem a análise de marcas simples (STUBER; EDWARDS; WENDEL, 1987), o Mapeamento por Intervalo (LANDER; BOTSTEIN, 1989), o Mapeamento por Intervalo Composto, ou CIM (JANSEN; STAM, 1994; ZENG, 1994) e o mapeamento de múltiplos intervalos (KAO; ZENG; TEASDALE, 1999). Para a análise de vários caracteres simultaneamente (ou mesmo vários ambientes), vários são os métodos disponíveis (JIANG; ZENG, 1995; RONIN et al., 1995; EAVES et al., 1996; WELLER et al., 1996; MANGIN et al., 1998; KNOTT; HALLEY, 2000; HACKET; MEYER; THOMAS, 2001; KOROL et al., 2001; MALOSETI et al., 2008, entre outros), com destaque para o modelo de Jiang e Zeng (1995), que é uma expansão do CIM com enfoque multivariado.

Com base nos resultados do mapeamento de QTL's é possível ter um melhor conhecimento da arquitetura genética dos caracteres quantitativos, em especial dos componentes de produção, sendo que tal conhecimento deve auxiliar na definição de estratégias para serem usadas nos programas de melhoramento. Ribaut et al. (1997) sugere combinar as informações advindas dos QTL's mapeados para os componentes de produção, fazendo então seleção assistida por marcadores com o intuito de incrementar a produção de grãos. A seleção assistida por marcadores (SAM) feita com base nos resultados do mapeamento de QTL's, ainda é pouco realizada em programas de melhoramento, tanto para o milho (STUBER; SISCO, 1991; OPENSHAW; FRASCAROLI, 1997; YOUSELF; JUVIK, 2001), como para outras culturas (AHMADI et al., 2001; FALEIRO et al., 2004; LIANG et al., 2004; TWARDOWSKA; MASOJC; MILCZARSKI, 2005). Alguns autores citam que os QTL's mapeados podem ser utilizados na seleção assistida por marcadores (MAS) (BEAVIS, 1994; RIBAUT et al., 1997; LÜBBERSTEDT et al., 1997; AUSTIN; LEE, 1998; AJMORE-MARSAN et al., 2001; SIBOV et

al., 2003; LIMA et al., 2006; BENTO, 2006; CÂMARA, 2006; LI et al., 2007), no entanto, resultados práticos são pouco observados.

Para os caracteres quantitativos, é comum a ocorrência de correlações genéticas, que podem ser devidas aos efeitos de pleiotropia e/ou por ligação genética. A pleiotropia é uma associação permanente, e está relacionada à ação de um gene que afeta dois ou mais caracteres, podendo causar uma variação simultânea em tais caracteres (FALCONER; MACKAY, 1996). A ligação genética ocorre quando dois genes são transferidos integralmente no genoma, como blocos de genes (FALCONER; MACKAY, 1996). No entanto, a ocorrência de “crossing-over” permite a quebra de ligação entre eles, fazendo com que segreguem de forma independente podendo ou não ocorrer no genoma, dependendo do tipo de ligação entre os genes. Nesse caso, a correlação ocorre nas primeiras gerações de cruzamentos entre parentais geneticamente divergentes (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988).

Caso se deseje utilizar informações dos marcadores moleculares aliadas a modelos complexos de mapeamento, o ganho com seleção simultânea de vários caracteres pode ser ainda mais eficiente em programas de melhoramento genético. Havendo detalhamento das causas da correlação genética entre caracteres (pleiotropia ou ligação gênica), deve ser possível delinear programas de melhoramento assistido que combinem as informações dos QTL's de forma a maximizar os ganhos com seleção em vários caracteres simultaneamente, o que é muito importante do ponto de vista do melhoramento genético.

No entanto, poucos trabalhos foram realizados utilizando germoplasma tropical em milho tentando localizar QTL's e, com isso, fornecer um melhor entendimento da arquitetura genética dos caracteres quantitativos (BOHN et al., 1996, 1997; RIBAUT et al., 1997; GROHN et al., 1998; KHAIRALLAH et al., 1998; SIBOV et al., 2003; MANGOLIM et al., 2004; LIMA et al., 2006; BENTO, 2006; CÂMARA, 2006; SABADIN et al.¹ (em fase de elaboração)).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo realizar estudos sobre a arquitetura genética de diversos caracteres quantitativos relacionados à produção de grãos numa população de milho tropical, visando principalmente um melhor entendimento sobre a base genética da correlação entre os caracteres. Num primeiro trabalho, foi utilizado o método de Mapeamento por Intervalo Composto (CIM) (ZENG, 1994) para detectar e estimar os efeitos de regiões

¹ SABADIN, P. K.; de SOUZA Jr., C. L.; SOUZA, A. P.; GARCIA, A. A. F. **Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 3. Quantitative trait loci (QTL) for yield components.**

cromossômicas responsáveis pela expressão de vários caracteres de importância agronômica para o milho, relacionando os resultados obtidos com QTL's previamente mapeados para produção de grãos. Em seguida, num segundo trabalho, foram empregados modelos do tipo CIM multivariado (mCIM) (JIANG; ZENG, 1995), visando separar as causas da correlação para cada QTL mapeado (ligação vs pleiotropia) através de testes estatísticos apropriados, e não apenas com comparação visual dos resultados como geralmente é encontrado na literatura.

Referências

AHMADI, N.; ALBAR, L.; PRESSOIR, G.; PINEL, A.; FARGETTE, D.; GHESQUIERE, A. Genetics basis and mapping of resistance to *Rice yellow motile virus* III. Analysis of QTL efficiency in introgressed progenies confirmed the hypothesis of complementary epistasis between two resistance QTL's. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 103, n. 6/7, p. 1084-1092, 2001.

AJMORE-MARSAN, P.; GORNI, C.; CHITTÒ, A.; REDAELLI, R.; VAN VIJK, 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**, Berlin, v. 102, n. 2/3, p. 230-243, Feb. 2001.

AUSTIN, D. F.; LEE, M. Detection of quantitative loci for grain yield and yield components in maize across generations in stress and nostress environments. **Crop Science**, Madison v. 38, n. 5, p. 1296-1308, Sep/Oct. 1998.

BENTO, D. A. V. **Mapeamento de QTLs para produção e seus componentes em uma população de milho tropical**. 2006. 133 p. Tese (doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

BEAVIS, W. D. The power and the deceit of QTL experiments: Lessons from comparative QTL studies. ANNUAL CORN & SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 49., 1991, Washington. **Proceedings...** Washington: ASTA, 1994. p. 250-266.

BOHN, M.; KHAIRALLAH, M. M.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, D.; HOISINGTON, D. A.; UTZ, H. F.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J. A.; MELCHINGER, A. E. QTLs mapping in tropical maize: I. Genomic regions affecting leaf feeding resistance to sugarcane borer and other traits. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 5, p. 1352-1361, Sept./Oct.1996.

BOHN, M.; KHAIRALLAH, M. M.; JIANG, C.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, D.; HOISINGTON, D. A.; UTZ, H. F.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J.; MELCHINGER, A. E. QTL mapping in tropical maize: II. Comparison of genomic regions for resistance to *Diatraea* spp. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 6, p. 1892-1902, Nov./Dec. 1997.

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

EAVES, L. J.; NEALE, M. C.; MAES, H. Multivariate multipoint linkage analysis of quantitative trait loci. **Behavior Genetics**, New York, v. 26, n. 5, p. 519–525, 1996.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to Quantitative Genetics**. 4 ed. London: Longman scientific e Technical, 1996. 464p.

FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Use of molecular markers to accelerate the breeding of common beans resistant to rust and anthracnose. **Euphytica**, Wageningen, v. 138, n. 3, p. 213-218, 2004.

GROHN, S.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, D.; KHAIRALLAH, M. M.; JIANG, C.; BERGVINSON, M.; BOHN, M.; HOISINGTON, D. A.; MELCHINGER, A. E. QTL mapping in tropical maize: III. Genomic regions for resistance to *Diatraea* spp. and associated traits in two RIL populations. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 4, p. 1062-1072, July/Aug. 1998.

HACKET, C. A.; MEYER, R. C.; THOMAS, W. T. B. Multi-trait QTL mapping in barley using multivariate regression. **Genetical Research**, London, v. 77, n. 1, p. 95-106, 2001.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Principles of population genetics**. 3rd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1997. 542 p.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA-FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2ed. Ames:Iowa State University Press, 1988. 468p.

JANSEN, R. C.; STAM, P. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. **Genetics**, Austin, v. 136, n. 4, p. 1447-1455, Apr. 1994.

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

JUGENHEIMER, R. W. **Corn improvement, seed production and uses**. New York: Wiley-Interscience, 1976. 670 p.

KHAIRALLAH, M. M.; BOHN, M.; JIANG, C.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J. A.; MELCHINGER, A. E.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, 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.

KAO, C. H.; ZENG, Z. B.; TEASDALE, R. D. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v. 152, n. 3, p. 1203-1216, 1999.

KNOTT, S. A.; HALLEY, C. S. Multitrait least squares for quantitative trait loci detection. **Genetics**, Austin, v. 156, n. 2, p. 899-911, Oct. 2000.

KOROL, A. B.; RONIN, Y. I.; NEVO, E.; HAYES, P. Enhanced efficiency of quantitative trait loci mapping analysis based on multivariate complexes of quantitative traits. **Genetics**, Austin, v. 157, n. 4, p. 1789-1803, Apr. 2001.

LANDER, E. S.; BOTSTEIN, D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, Austin, v. 121, n. 1, p. 185-199, Jan. 1989.

LI, Y.; DONG, Y.; NIU, S.; CUI, D. The genetic relationship among plant-height traits found using multiple-trait QTL mapping of a dent corn and popcorn cross. **Genome**, Ottawa, v. 50, n. 4, p. 357-364, 2007.

LIANG, F.; DENG, Q.; WANG, Y.; XIONG, Y.; JIN, D.; LI, J.; WANG, B. Molecular markers-assisted selection for yield-enhancing genes in the progeny of “9311” X *O. rufipogon* using SSR. **Euphytica**, Wageningen, v. 139, n. 2, p. 159-165, 2004.

LIMA, M. L. A.; de SOUZA JÚNIOR, C. L.; BENTO, D. A. V.; SOUZA, A. P.; CARLINI-GARCIA, L. A. Mapping QTL for grain yield and plant traits in a tropical maize population. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 17, n. 3, p. 227-239, 2006.

LÜBBERSTEDT, T.; MELCHINGER, A. E.; SCHÖN, C. C.; UTZ, H. F.; KLEIN, D. mapping in testcrosses of European Flint Lines of maize: I. Comparison of different testers for forage yield traits. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 3, p. 921-931, May/June. 1997.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Massachusetts: Sinauer Sunderland, 1998. 980 p.

MALOSETTI, M.; RIBAUT, J. M.; VARGAS, M.; CROSSA, M.; EEUWIJK, F. A. van. A multi-trait multi-environment QTL mixed model with an application to drought and nitrogen stress trials in maize (*Zea mays* L.). **Euphytica**, Wageningen, 2008. No prelo. Disponível em < <http://www.springerlink.com.w10077.dotlib.com.br/content/x421711368720685/?p=c799df6d069b45448dd8dbbad9386169&pi=0>>. Acesso em: 10 jan. 2008.

MANGIN, B. P.; THOQUET, P.; GRIMSLEY, N. Pleiotropic QTL analysis. **Biometrics**, Washington, v. 54, n. 1, p. 88-99, 1998.

MANGOLIN, C. A.; de SOUZA JÚNIOR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; GARCIA, A. F.; SIBOV, S. T.; SOUZA, A. P. Mapping QTLs for kernel oil content in a tropical maize population. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 2, p. 251-259, 2004.

OPENSHAW, S.; FRASCAROLI, E. QTL detection and marker-assisted selection for complex traits in maize. In: ANNUAL CORN & SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 52., 1997, Washington. **Proceedings...** Washington: ASTA, 1997.

PATERNIANI, E. Métodos tradicionais de melhoramento de milho. In: BULL, L. T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 23-43.

RIBAUT, J. M.; JIANG, C.; GONZÁLEZ-DE-LÉON, D. Identification of quantitative trait loci under drought condition in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 6/7, p. 887-896, June. 1997.

RONIN, Y. I.; KIRZHNER, V. M.; KOROL, A. B. Linkage between loci of quantitative traits and marker loci: multi-trait analysis with a single marker. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 90, n. 6, p. 776-786, May. 1995.

SIBOV, T. S.; de SOUZA, JÚNIOR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; SILVA, A. R.; GARCIA, A. F.; MANGOLIN, C. A.; BENCHIMOL, L. L.; SOUZA, A. P. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. **Hereditas**, Lund, v. 139, n. 2, p. 107-115, 2003 b.

STUBER, C. W.; EDWARDS, M. D.; WENDEL, J. F. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. II. Factors influencing yield and its component traits. **Crop Science**, Madison, v. 27, n. 4, p. 639-648, 1987.

STUBER, C. W.; SISCO, P. Marker-facilitated transfer of QTL alleles between elite inbred lines and responses in hybrids. In: ANNUAL CORN & SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 46., 1991, Chicago. **Proceedings**... Chicago: ASTA, 1991. p. 105–113.

TWARDOWSKA, M.; MASOJC, P.; MILCZARSKI, P. Pyramiding genes affecting sprouting resistance in Ryce by means of markers assisted selection. **Euphytica**, Wageningen, v. 143, n. 3, p. 257-260, 2005.

WELLER, J. I.; WIGGANS, G. R.; VANRADEN, P. M.; RON, M. Application of a canonical transformation to detection of quantitative trait loci with the aid of genetic markers in a multitrait experiment. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 92, n. 8, p. 998-1002, June. 1996.

YOUSELF, G. G.; JUVIK, J. A. Comparison of phenotypic and marker-assisted selection for quantitative traits in sweet corn. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 3, p. 645-655, 2001.

ZENG, Z-B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Austin, v. 136, n. 4, p. 1457-1468, Apr. 1994.

2 MAPEAMENTO DE QTL'S PARA COMPONENTES DE PRODUÇÃO NUMA POPULAÇÃO DE MILHO TROPICAL

Resumo

O mapeamento de QTL's fornece informações importantes para os programas de melhoramento, pois permite identificar regiões ao longo dos cromossomos responsáveis pela expressão de determinado caráter, bem como estimar os efeitos de cada QTL. O objetivo do presente trabalho foi localizar e estimar efeitos dos QTL estáveis em relação a cinco ambientes divergentes. Os caracteres considerados foram peso da espiga (PE), prolificidade (PROL), número de espigas (NE), número de ramificações do pendão (NRP), comprimento e diâmetro da espiga (CE e DE), número de fileiras de grãos (NFI) e número de grãos por fileira na espiga (NGFI). Para tanto, 400 progênies $F_{2:3}$ de milho tropical foram avaliadas em cinco ambientes. O mapa genético previamente construído possui 117 locos microssatélites e distância média de 14 cM entre locos. As análises de mapeamento de QTL foram feitas utilizando Mapeamento por Intervalo Composto (CIM) para cada caráter individualmente. Foram mapeados um total de 36 QTL responsáveis pela expressão dos caracteres PROL (3 QTL), DE (5 QTL), CE (5 QTL), NGFI(5 QTL), NFI (10 QTL), NRP (4 QTL), NE (2 QTL) e PE (2 QTL). O número relativamente pequeno de QTL's mapeados para cada caráter ocorreu em função da grande presença de interação entre genótipos e ambientes, sendo que apenas os QTL's estáveis foram identificados. Os caracteres PROL, NRP, PE e NE, que são altamente correlacionados apresentaram QTL em duas regiões genômicas similares, mas também em cromossomos diferentes. A coincidência de QTL's mapeados no mesmo intervalo para alguns caracteres, aliadas aos valores de correlação elevados, sugerem a presença de possíveis efeitos pleiotrópicos ou ligação entre QTL's, embora testes adicionais usando modelos apropriados para testar essas hipóteses sejam necessários. Seis QTL (*Pe1*, *Ne1*, *Nrp2*, *De3*, *Nfi3* e *Nfi10*) tiveram efeitos relativamente grandes, explicando entre 10,6% (*Nfi3*) e 19,3% (*Nrp2*) da variância fenotípica. Tais QTL's poderiam ser considerados em programas de seleção assistida.

Palavras-chave: Mapeamento por intervalo composto; Seleção assistida por marcadores; Correlação entre caracteres

MOLECULAR MAPPING IN TROPICAL MAIZE (*Zea mays* L.) USING MICROSATELLITE MARKERS. 3. QUANTITATIVE TRAIT LOCI (QTL) FOR YIELD COMPONENTS

Abstract

QTL mapping provides usefull information for breeding programs since it allows the estimation of genomic locations and genetic effects of chromossomal regions related to the expression of quantitative traits. The objective of this study was to map stable QTL in five environments and related to several agronomic important traits associated with graid yield: ear weight (EW), prolificacy (PROL), ear number (EN), tassel branch number (TBN), ear length (EL) and diameter (ED), kernel row number (KRN), kernel number per row (KNR). 400 F_{2:3} tropical maize progenies were evaluated in 5 environments in Piracicaba, Sao Paulo, Brazil. The genetic maps was previously estimated and had 117 microssatelite loci with average distance of 14 cM. Data was analysed using Composite Interval Mapping for each trait. Thirty six QTL were mapped and related to the expression of PROL (3), ED (5), EL (5), KNR (5), KRN (10), TBN (4), EN (2) and EW (2). Few QTL were mapped since there was high G x E interaction and only the stable QTL were considered. Traits PROL, TBN, EW and EN showed high correlation and several QTL on similar genomic regions, which could cause the observed correlation. However, further analysis using apropriate statistical models are required to separate linked and pleiotropic QTL. Six QTL (named *Pe1*, *Ne1*, *Nrp2*, *De3*, *Nfi3* e *Nfi10*) had high genetic effects, explaining from 10,3% (*Nfi3*) to 19,3% (*Nrp2*) of the phenotypic variance, and could be considered for marker assisted selection.

Key-words: Composite interval mapping; Marker assisted selection; Correlation between traits.

2.1 Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas de maior importância econômica, sendo usado na alimentação humana e animal, e também como matéria-prima na indústria de alta tecnologia (WATSON, 1988; PENY, 1988). Em termos de melhoramento genético, é uma das espécies mais estudadas e tem sido usada como modelo em várias situações. Dentre os vários caracteres normalmente considerados no melhoramento, a produção de grãos é geralmente o mais importante, sendo que o mesmo possui usualmente baixo coeficiente de herdabilidade (ROBINSON; COMSTOCK; HARVEY, 1949; MALVAR et al., 1996; AUSTIN; LEE, 1998). Dessa forma, são importantes estudos envolvendo caracteres relacionados à produção, que podem ser usados para praticar seleção indireta. Alguns componentes de produção normalmente considerados são prolificidade, comprimento e diâmetro da espiga, número de fileiras de grãos na espiga, número de grãos por fileira e peso médio do grão (JUGENHEIMER, 1976).

A eficiência de seleção indireta depende da correlação entre caracteres, das condições de avaliação, e da herdabilidade do caráter avaliado (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988). Vários estudos desse tipo foram realizados, e de forma geral os resultados mostram que a prolificidade permite maior resposta à seleção indireta para o caráter produção de grãos, pois apresenta em geral, alto coeficiente de herdabilidade e alta correlação com produção (HALLAUER; SEARS, 1969; COORS; MARDONES, 1989; HOLTHAUS; LAMKEY, 1995; MAITA; COORS, 1996; LOPEZ-REINOZO; HALLAUER, 1998; LEON; COORS, 2002).

Em função da grande disponibilidade de marcadores moleculares que existe atualmente, tem sido possível mapear e estimar os efeitos de QTL's (*Quantitative Trait Loci*) associados a vários caracteres de interesse, dentre eles os componentes de produção (AGRAMA; MOUSSA, 1996a, 1996b; BOHN et al., 1996, 1997; RIBAUT et al., 1997; GROHN et al., 1998; KHAIRALLAH et al., 1998; LÜBBERSTEDT et al., 1998; AGRAMA et al. 1999; AUSTIN; LEE; VELDBOOM, 2001; CARDINAL et al., 2001, FLINT-GARCIA et al., 2003; SIBOV et al., 2003b; MANGOLIM et al., 2004; LIMA et al., 2006; BENTO, 2006; CÂMARA, 2006). A maioria deles, contudo, tem sido realizada usando germoplasma temperado. Em trabalhos anteriores, Sibov et al. (2003a, 2003b) mapearam QTL's para produção de grãos e caracteres de porte (altura da planta e da espiga) numa população de milho tropical. Para produção, foram identificados quatro QTL's, localizados nos cromossomos 2 (um QTL), 7 (um QTL) e 8 (dois

QTL's), explicando em conjunto 32,7% da variância fenotípica. Esses foram os primeiros resultados de mapeamento de QTL's em milho tropical.

Com base no mapeamento de QTL's, ou seja, com estimativas do número, posição, efeitos e interações entre os QTL's, é possível ter um melhor conhecimento da arquitetura genética dos caracteres quantitativos. No caso dos componentes de produção, esse conhecimento deve auxiliar na definição de estratégias para usar tais caracteres em programas de melhoramento. Por exemplo, deve ser possível saber se QTL's para caracteres correlacionados estão próximos (ligados) no genoma, ou se os QTL's têm efeitos pleiotrópicos. Dessa forma, seria possível entender com precisão as causas da correlação genética e assim definir corretamente estratégias de seleção. Ribaut et al. (1997) sugere combinar as informações advindas dos QTL's mapeados para os componentes de produção, fazendo então seleção assistida por marcadores com o intuito de incrementar a produção de grãos.

A seleção assistida por marcadores (SAM) feita com base nos resultados do mapeamento de QTL's, ainda é pouco realizada em programas de melhoramento, tanto para o milho (STUBER; SISCO, 1991; OPENSHAW; FRASCAROLI, 1997; YOUSELF; JUVIK, 2001), como para outras culturas (AHMADI et al., 2001; FALEIRO et al., 2004; LIANG et al., 2004; TWARDOWSKA; MASOJC; MILCZARSKI, 2005). Vários autores citam que os QTL's mapeados podem, eventualmente, ser usados na seleção assistida por marcadores (MAS) (BEAVIS, 1994; RIBAUT et al., 1997; LÜBBERSTEDT et al., 1997; AUSTIN; LEE, 1998; AJMORE-MARSAN et al., 2001; SIBOV et al., 2003b; LIMA et al., 2006; BENTO, 2006; CÂMARA, 2006; LI et al., 2007), mas os resultados ainda são escassos.

Apesar dos resultados promissores obtidos para produção de grãos, Sibov et al. (2003b) não mapearam QTL's para componentes de produção naquela oportunidade. Pelas razões expostas, para que a seleção assistida por marcadores seja implementada de fato, os QTL's dos componentes de produção também deveriam ser considerados, permitindo melhor conhecimento da arquitetura genética dos caracteres quantitativos. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho é detectar e estimar os efeitos dos QTL's de vários componentes de produção nessa população de milho tropical previamente estudada. Os caracteres estudados foram: peso da espiga, prolificidade, número de espigas, número de ramificações do pendão; comprimento e diâmetro da espiga, número de fileiras de grãos e número de grãos por fileira na espiga.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e Métodos

2.2.1.1 Avaliações Experimentais

Os dados fenotípicos e moleculares utilizados neste trabalho são apresentados em maiores detalhes em Sibov et al. (2003a, 2003b). De forma resumida, para obtenção da população segregante foram cruzadas as linhagens endogâmicas L-08-05F e L-14-4B, que possuem comportamento contrastante para produção de grãos. Essas linhagens são oriundas das populações tropicais IG-1 e BR-106, respectivamente. Do cruzamento das linhagens endogâmicas, obteve-se a progênie F_1 sendo que a partir de quatro plantas foram geradas 400 plantas F_2 , das quais foram obtidas 400 progênies $F_{2:3}$, que foram cruzadas entre si e semeadas em linhas com 20 plantas para aumentar o número de sementes necessárias para as avaliações experimentais. As progênies foram avaliadas em três locais, nos anos agrícolas de 1999 e 2000, localizados no município de Piracicaba, estado de São Paulo, Brasil. Uma exceção é o ano de 1999, onde as avaliações fenotípicas foram feitas em apenas 2 locais. Cada combinação local x ano foi tratada como um ambiente nas subseqüentes análises estatísticas, totalizando cinco ambientes. As 400 progênies foram divididas em quatro conjuntos com 100 progênies cada, e cada conjunto foi avaliado num delineamento em látice 10 x 10, com duas repetições. Os caracteres (componentes de produção) avaliados foram: peso da espiga planta⁻¹ (PE), em Mg ha⁻¹; prolificidade (PROL): número de espigas parcela⁻¹; número de espigas planta⁻¹ (NE); número de ramificações do pendão (NRP); comprimento da espiga (CE): em cm; diâmetro da espiga (DE): em cm; número de fileiras da espiga (NFI) e número de grãos por fileira (NGFI). O caráter PROL foi corrigido para o estado médio do experimento. Os caracteres PE, PROL e NE foram avaliados nos 5 ambientes considerados. Os caracteres CE, DE, NFI e NGFI, foram avaliados em quatro ambientes e NRP em 3 ambientes.

2.2.1.2 Análises Fenotípicas

As análises de variâncias para cada látice e caráter foram feitas para cada ambiente, e em seguida as análises foram agrupadas para as 400 progênies. Posteriormente, foi realizada uma análise conjunta entre os ambientes, permitindo estimar o efeito de interação entre progênies e ambientes. Todas as pressuposições da análise de variância (normalidade e independência dos resíduos, homogeneidade de variâncias, presença de *outliers*, etc) foram verificadas. O modelo estatístico empregado foi considerado como aleatório, sendo a média o único efeito fixo. Com base nas esperanças dos quadrados médios, obtiveram-se as estimativas das variâncias referentes à progênies, interação genótipo por ambientes e a variância fenotípica média, além do coeficiente de herdabilidade (BURDICK; GRAYBILL, 1992). Para a herdabilidade foram estimados intervalos de confiança segundo Knapp, Bridges e Birkes (1990). Estimativas dos coeficientes de correlação genética e fenotípica entre todos os caracteres foram obtidos segundo Kempthorne (1966). Foram calculadas as médias ajustadas entre todos os ambientes para cada caráter e progênie, a partir das quais foi feito o mapeamento de QTL's. Essas análises foram realizadas utilizando os módulos *proc glm* e *proc mixed* do programa estatístico SAS® (SAS Institute, 2001).

2.2.1.3 Mapeamento de QTL's

O mapa de ligação usado para a localização dos QTL's contém 117 locos de microssatélites, que foram previamente descritos em Sibov et al. (2003a, 2003b). De uma forma resumida, a construção do mapa genético foi feita utilizando o programa MAPMAKER/EXP versão 3.0 (LANDER et al., 1987), onde um valor de *LOD score* (*lod of odds* – razão de chances) superior a 3 foi utilizado para declarar ligação em análise de dois pontos. Análises multipontos foram empregadas para determinar a ordem e a distância entre os marcadores. O mapa genético tem um tamanho aproximado de 1634 cM, com um intervalo médio de 14 cM entre marcadores adjacentes. Para mapear os QTL's para cada caráter, foi empregado o método de Mapeamento por Intervalo Composto (CIM) (ZENG, 1994), que se baseia na hipótese de que um QTL afetando um caráter se encontra num intervalo flanqueado por duas marcas adjacentes a esse QTL. O CIM considera como covariáveis no modelo marcas ligadas a QTL's fora do intervalo

avaliado, a fim de controlar a variação dos demais QTL's (principalmente QTL's ligados) e reduzir o resíduo do modelo. A cada 1 cM foram obtidas estatísticas de razão de verossimilhança (LR) (convertidos para *LOD score*), para verificar a presença do QTL na posição considerada. O número de cofatores foi obtido a partir do método de seleção de variáveis *stepwise*, com probabilidade de entrada e saída dos cofatores de 0,05%. Como múltiplos testes foram realizados, o nível crítico genômico (*threshold*) para rejeição de H_0 (ausência de QTL) foi obtido com base em 1000 permutações (CHURCHILL; DOERGE, 1994). Todas as análises foram feitas utilizando o modelo 6 do módulo *Zmapqtl* do QTLCartographer versão 1.17 (BASTEN; WEIR; ZENG, 2003), com uma janela (*window size*) de 10 cM. A proporção da variância fenotípica (R^2) explicada por todos os QTL's mapeados para determinado caráter foi obtido a partir do ajuste de um modelo com todos os QTL's simultaneamente, usando a versão Windows do QTLCartographer (WANG; BASTEN; ZENG, 2005). O sinal dos efeitos aditivos foi utilizado para identificar de qual linhagem os alelos favoráveis foram provenientes. Sinais positivos e negativos indicam que os alelos que aumentam dado caráter são provenientes da linhagem L-14-4B e L-08-05F, respectivamente.

2.2.2 Resultados

2.2.2.1 Análise dos Dados Experimentais

Para os oito componentes de produção avaliados (Tabela 2.1), nota-se que as estimativas da variância apresentaram boa acurácia, já que possuem intervalos de confiança relativamente pequenos. Para as estimativas dos coeficientes de herdabilidade (sentido amplo, médias de progênies $F_{2:3}$), foram observados valores altos, variando de 91,0% (NFI) a 70,5% (PROL) e intermediários, que variaram de a 68,0% (PE) a 56,2% (NRP). Esses valores de herdabilidade ocorreram porque os caracteres foram avaliados com boa precisão em cinco ambientes com duas repetições, com conseqüente redução do erro experimental. Isso fica comprovado pelos baixos valores dos coeficientes de variação, que tiveram valores relativamente baixos, variando de 4,3% (DE), a 23,6% (PE). A única exceção foi PE, que é o caráter mais complexo considerado e teve CV de 23,6%, superior aos demais, mas ainda com valor aceitável para esse tipo de caráter.

As magnitudes das estimativas das variâncias da interação progênie x ambientes foram, de um modo geral, de magnitudes similares às estimativas de variâncias entre progênie, com exceção de CE, DE e NFI, e foram todas significativamente diferentes de zero. Quanto aos caracteres CE, DE e NFI as magnitudes das variâncias entre progênie foram maiores que as estimativas da variância da interação progênie x ambiente, evidenciando menor interação; contudo, as interações também foram significativas. Como a interação progênie por ambientes foi geralmente elevada e os QTL's foram mapeados com base nas médias ajustadas dos ambientes, espera-se que apenas os QTL's mais estáveis entre ambientes estudados sejam detectados.

Os coeficientes de correlação genética e fenotípica apresentaram, de forma geral, valores bem próximos (Tabela 2.2) e variaram de muito baixos até muito elevados. Foram constatadas correlações de alta magnitude entre os caracteres PE e PROL ($r_G = 0,90$ e $r_F = 0,87$), PE e NE ($r_G = 0,90$ e $r_F = 0,88$), PROL e NRP ($r_G = -0,98$ e $r_F = -0,85$), NE e NRP ($r_G = -0,92$ e $r_F = -0,82$) e entre PE e NRP ($r_G = -0,86$ e $r_F = -0,77$). Foram observadas correlações de magnitude intermediária entre NGFI e os caracteres PE ($r_G = 0,52$ e $r_F = 0,44$), PROL ($r_G = 0,52$ e $r_F = 0,43$), NE ($r_G = 0,56$ e $r_F = 0,46$) e CE ($r_G = 0,53$ e $r_F = 0,54$) e entre os caracteres NFI e DE ($r_G = 0,57$ e $r_F = 0,55$). Correlações baixas ocorreram, por exemplo, entre PROL e os caracteres CE ($r_G = 0,27$ e $r_F = 0,29$), DE ($r_G = 0,38$ e $r_F = 0,35$) e NFI ($r_G = 0$ e $r_F = 0,02$); entre os caracteres PE e NFI ($r_G = 0,04$ e $r_F = 0,06$), NE e NFI ($r_G = 0,02$ e $r_F = 0$) e NGFI e NFI ($r_G = 0,04$ e $r_F = 0,05$). O caráter PG estudado por Sibov et al. (2003b), que foi considerado para verificarmos suas relações com os componentes de produção, apresentou valores de correlação elevados com os caracteres PE ($r_G = 0,92$ e $r_F = 0,91$), PROL ($r_G = 0,90$ e $r_F = 0,87$), NE ($r_G = 0,79$ e $r_F = 0,77$) e NRP ($r_G = -0,89$ e $r_F = -0,80$); valor intermediário com NGFI ($r_G = 0,51$ e $r_F = 0,43$) e valores baixos com os caracteres CE ($r_G = 0,26$ e $r_F = 0,24$), DE ($r_G = 0,43$ e $r_F = 0,39$) e NFI ($r_G = 0,05$ e $r_F = 0,07$). Os valores altos de correlação genética e fenotípica de PG com PE, PROL, NE e NRP são indicativos de alta dependência entre esses caracteres, indicando que muitos dos QTL's mapeados para tais caracteres estarão ligados, ou terão efeito pleiotrópico.

Tabela 2.1 – Estimativas dos parâmetros: variâncias fenotípicas entre médias (σ_F^2), variância entre progênies (σ_P^2), variância da interação progênies x ambientes ($\sigma_{P \times A}^2$), variância residual (σ_e^2), coeficiente de herdabilidade para médias de progênies (h_F^2) com respectivos intervalos de confiança a 95% (IC)

Parâmetro	Caracteres ^a							
	PE	PROL	NE	NRP	CE	DE	NFI	NGFI
$\hat{\sigma}_F^2$	23,85	1,85	7,27	4,43	61,20	34,00	96,20	4,74
IC	20,85;27,55	1,65;2,19	6,36;8,40	3,88;5,12	53,51;70,7	30,00;39,00	84,09;111,10	4,14;5,47
$\hat{\sigma}_P^2$	16,21	1,33	5,13	2,49	48,94	28,50	87,53	3,59
IC	13,31;20,18	1,10;1,65	4,24;5,24	1,95;3,29	41,38;58,60	24,3;33,9	75,53;102,67	3,01;4,36
$\hat{\sigma}_{P \times A}^2$	18,19	1,55	5,98	3,81	19,98	7,70	8,00	1,62
IC	15,52;21,60	1,35;1,78	5,24;6,88	3,28;4,49	16,12;25,43	5,90;10,30	5,42;13,00	1,27;2,17
$\hat{\sigma}_e^2$	36,40	2,27	8,59	3,65	52,94	26,70	48,45	5,39
IC	34,01;39,04	2,12;2,44	8,03;9,22	3,35;4,00	49,90;57,30	24,80;29,0	44,92;52,40	5,00;5,83
$\hat{h}_P^2$ ^c	68,0	70,5	70,6	56,2	80,0	83,6	91,0	75,8
IC	62,7;74,9	65,6;74,8	65,7;74,9	48,2;63,2	76,5;82,9	80,8;86,1	89,5;92,4	71,6;79,4
CV(%) ^{b, c}	23,6	14,2	14,6	12,8	5,3	4,3	6,1	8,1
Média ^c	4,5	1,1	20,1	15,0	13,8	3,8	11,3	28,6

^a PE=peso da espiga planta⁻¹ (Mg ha⁻¹) x10⁻¹; PROL=prolifidade x10²; NE=número de espigas planta⁻¹; NRP=número de ramificações do pendão; CE=comprimento da espiga (cm) x10²; DE=diâmetro da espiga (cm) x10³; NFI=número de fileiras de grãos na espiga x10²; NGFI=número de grãos por fileira na espiga. ^b Coeficiente de variação. ^c O coeficiente de herdabilidade, CV e média não foram multiplicados por nenhuma potência de 10.

Tabela 2.2 - Valores dos coeficientes de correlação fenotípica (abaixo da diagonal) e genética (acima da diagonal) relativo a todos os caracteres avaliados

Parâmetro^a	PG*	PE	PROL	NE	NRP	CE	DE	NFI	NGFI
PG*	1,00	0,92	0,90	0,79	-0,89	0,26	0,43	0,05	0,51
PE	0,91	1,00	0,90	0,90	-0,86	0,29	0,43	0,04	0,52
PROL	0,88	0,87	1,00	0,44	-0,98	0,27	0,38	0,00	0,52
NE	0,77	0,88	0,45	1,00	-0,92	0,29	0,39	0,02	0,56
NRP	-0,80	-0,77	-0,85	-0,82	1,00	-0,25	-0,34	0,06	-0,49
CE	0,24	0,26	0,29	0,26	-0,21	1,00	-0,13	-0,14	0,53
DE	0,39	0,38	0,35	0,35	-0,30	-0,05	1,00	0,57	0,19
NFI	0,07	0,06	0,02	-0,00	0,01	-0,12	0,55	1,00	0,04
NGFI	0,43	0,44	0,43	0,46	-0,39	0,54	0,22	0,05	1,00

^a Siglas: ver Tabela 2.1. * PG: Produção de grãos (g/planta), caráter avaliado por Sibov et al. (2003b).

2.2.2.2 Mapeamento de QTL's

Os valores críticos (*threshold*) para o *LOD*, com base nas permutações, foram semelhantes entre si e tiveram valores para 3,90 para PE, 3,85 para PROL, 3,66 para NE, 4,00 para NRP, 3,63 para CE, 3,71 para DE, 3,74 para NFI, 3,62 para NGFI. O número de cofatores obtido a partir de regressão múltipla com o método *stepwise*, foi de 17 para PE, 19 cofatores para PROL, 13 para NE, 22 para NRP, 10 para CE, 16 para DE, 17 para NFI e 18 para NGFI. Como o número de progênies avaliado é relativamente alto ($n = 400$), em nenhum caso houve risco de superparametrização do modelo com uso desses cofatores.

Foram mapeados 36 QTL's responsáveis pela expressão dos caracteres PE, PROL, NE, CE, DE, NFI, NGFI e NRP (Figura 2.1, Tabela 2.3). Como esperado, esse número é relativamente pequeno quando cada caráter é considerado separadamente, pois foram utilizadas as médias ajustadas de cinco ambientes, fazendo com que somente os QTL's mais estáveis fossem mapeados. Foram mapeados QTL's em todos os cromossomos, exceto no cromossomo 6.

Para o caráter PE foram mapeados apenas dois QTL's, mapeados nos cromossomos 2 (*Pe1*) e 7 (*Pe2*). Os efeitos aditivos apresentaram somente valores negativos, indicando que a origem dos alelos favoráveis foi a linhagem L-08-05F. O QTL *Pe1* explicou individualmente 10,8% da variância fenotípica (um dos maiores valores). Em conjunto, os QTL's identificados para esse caráter explicaram 21,2% da variância fenotípica total. O QTL do cromossomo 2 está muito próximo ao QTL *Gy2* identificado por Sibov et al. (2003b), o que pode explicar a correlação entre tais caracteres. Para o caráter PROL, foram identificados três QTL's distribuídos ao longo dos cromossomos 2 (*Prol1*), 7 (*Prol2*) e 8 (*Prol3*), explicando 29,5% da variância fenotípica total. O QTL *Gy2* também foi mapeado próximo ao QTL *Prol1*. Os valores dos efeitos aditivos (a) variaram de -0,052 a 0,059, e os efeitos de dominância (d) variaram de -0,030 a 0,053. Os QTL's *Prol1* e *Prol3* explicaram a maior parte da variância fenotípica (cerca de 9,5% cada um) para esse caráter. No caso de NE, foram mapeados 2 QTL's nos cromossomos 2 (*Ne1*) (próximo à *Gy2*) e 7 (*Ne2*) (próximo a *Prol2*). Os efeitos aditivos apresentaram somente valores negativos. Em conjunto, os dois QTL's explicaram 21,8%, da variância fenotípica total. Foram mapeados quatro QTL's para o caráter NRP, que foram localizados nos cromossomos 1 (*Nrp1*), 2 (*Nrp2*) (próximo à *Gy2*), 7 (*Nrp3*) e 9 (*Nrp4*). Os efeitos aditivos foram positivos (concentrados

na linhagem L14-04B) e os de dominância variaram de -1,014 a 0,484. A proporção da variância fenotípica explicada por esses QTL's individualmente variou de 5,2% a 19,3%, sendo esse último o QTL de maior efeito detectado dentre todos os QTL's mapeados neste trabalho. Para o conjunto de QTL's, o valor de R^2 foi de 36,0%.

Com relação à CE e DE, o número de QTL's mapeados (5) foi ligeiramente superior ao encontrado para PE, PROL, NE e NRP. Para CE, os QTL's estão localizados nos cromossomos 1 (*Ce1*), 3 (*Ce2*), 4 (*Ce3*) e 5 (*Ce4* e *Ce5*), não sendo constatadas regiões de concentração de QTL's. Os efeitos aditivos variaram de -0,2035 cm a 0,3275 cm, e os de dominância de -0,051 cm a 0,240 cm. A proporção da variância fenotípica explicada por esses QTL's individualmente variou de 3,1% a 7,9%, sendo que conjuntamente os QTL's explicaram 29,5% de R^2 . Para DE, cinco QTL's foram mapeados nos cromossomos 5 (*De1* e *De2*), 8 (*De3*, próximo à *Gy8a* e *Gy8b*, e *De4*) e 10 (*De5*), explicando em conjunto 30,3% de R^2 . Os QTL's explicaram individualmente de 3,3% a 13,8% da variância fenotípica. Não houve regiões de concentração de QTL's, embora os QTL's *De3* e *De4* se localizem nos mesmos cromossomos, mas distantes entre si. Os QTL's para CE e DE que estão no cromossomo 5 ocorreram em intervalos diferentes.

O caráter NFI foi o que apresentou maior número de QTL's mapeados (10), explicando no total 60% de R^2 . Tais QTL's foram distribuídos ao longo dos cromossomos 1 (*Nfi1* e *Nfi2*), 2 (*Nfi3*, próximo à *Gy2*, e *Nfi4*), 3 (*Nfi5*, próximo à *Ce2*), 7 (*Nfi6*, próximo à *Gy7*), 8 (*Nfi7*, próximo à *Gy8a*, e *De3*, e em intervalo adjacente à *Gy8b* e *Prol3*), 9 (*Nfi8*, em intervalo adjacente à *Nrp4*, e *Nfi9*) e 10 (*Nfi10*, próximo à *De5*). No caso dos QTL's localizados nos cromossomos 1 e 2, os mesmos apresentam-se relativamente distantes entre si. No entanto, os QTL's do cromossomo 9 ocupam bins adjacentes, distando apenas 11,9 cM entre si. Houve predomínio de sinais positivos tanto para os efeitos aditivos como para dominância. Finalmente, foram mapeados cinco QTL's para NGFI, distribuídos nos cromossomos 1 (*Ngfi1* e *Ngfi2*, em intervalos adjacentes à *Nfi1* e *Nfi2*, respectivamente), 5 (*Ngfi3*, em intervalo adjacente à *De1*, e *Ngfi4*) e 10 (*Ngfi5*, intervalo adjacente aos QTL's *De5* e *Nfi10*). Os QTL's do cromossomo 1 ocupam posições distantes entre si (maior que 50 cM), mas os QTL's do cromossomo 5 ocupam posições relativamente próximas, em bins adjacentes; a distância entre eles foi de 41,3 cM. Houve predomínio de sinais negativos para os efeitos aditivos, e positivos para os efeitos de dominância.

Os valores da proporção da variância fenotípica explicada por esses QTL's individualmente variaram de 3,9% a 7,6%, sendo que em conjunto os QTL's detectados explicaram 27,1% de R^2 .

Figura 2.1 - Gráficos da distribuição dos valores de LOD indicando a localização de QTL's detectados pelo CIM. Os triângulos ($\blacktriangle$) indicam a posição das marcas e os triângulos invertidos indicam a posição dos QTL's mapeados. Como os LOD 's do *threshold* foram muito similares, optou-se por apresentar graficamente apenas uma reta na posição com $LOD = 3,70$. Os QTL's para produção de grãos foram previamente mapeados por Sibov et al (2003b) e estão indicados como *Gy2*, *Gy7*, *Gy8a* e *Gy8b*. Foram representados apenas os cromossomos com pelo menos um QTL mapeado. Legenda para os caracteres: ver Tabela 2.1

Tabela 2.3 – QTL's mapeados para os vários caracteres com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d), usando o modelo CIM

						(continua)
Crom/ QTL	Intervalo / Bin ^b	Posição (cM)	LOD	Efeito Genético		R_f^2 ^c
				<i>a</i>	<i>d</i>	
PE (Mg ha ⁻¹) ^a						
2 / <i>Pe1</i>	umc1845-bnlg0166 / 2.03	55,9	6,1	-0,360	0,328	10,8
7 / <i>Pe2</i>	dupssr13-umc1154 / 7.04	124,2	4,7	-0,303	-0,219	7,7
					R_T^2 _d	21,2
PROL ^a						
2 / <i>Prol1</i>	umc1845-bnlg0166 / 2.03	54,9	5,1	-0,052	0,053	9,7
7 / <i>Prol2</i>	dupssr13-umc1154 / 7.04	122,2	4,5	-0,049	-0,021	6,9
8 / <i>Prol3</i>	bnlg1176-bnlg1607 / 8.05	78,7	4,8	0,059	-0,030	9,6
					R_T^2	29,5
NE ^a						
2 / <i>Ne1</i>	umc1845-bnlg0166 / 2.03	53,9	7,8	-1,283	0,933	13,3
7 / <i>Ne2</i>	dupssr13-umc1154 / 7.04	122,2	3,9	-0,889	-0,468	6,2
					R_T^2	21,8
NRP ^a						
1 / <i>Nrp1</i>	bnlg0615-phi0037 / 1.07	152,4	4,8	0,755	0,054	5,2
2 / <i>Nrp2</i>	umc1845-bnlg0166 / 2.03	49,9	6,2	1,277	-1,014	19,3
7 / <i>Nrp3</i>	dupssr13-umc1154 / 7.04	120,2	5,2	0,716	0,484	7,2
9 / <i>Nrp4</i>	umc1893-bnlg0430 / 9.03	3,0	5,2	0,039	-1,013	5,6
					R_T^2	36,0
CE (cm) ^a						
1/ <i>Ce1</i>	umc1630-bnlg1338 / 1.11	235,9	5,0	0,269	-0,043	5,3
3 / <i>Ce2</i>	umc1659-umc1320 / 3.07	150,0	7,1	0,328	0,091	7,9
4 / <i>Ce3</i>	bnlg2291-umc1989 / 4.07	128,4	4,1	0,311	-0,051	7,1
5 / <i>Ce4</i>	bnlg1006-umc1587 / 5.00	39,0	5,7	-0,204	0,240	5,1
5 / <i>Ce5</i>	mmc0081-umc1019 / 5.05	111,0	3,7	-0,191	0,049	3,1
					R_T^2	29,5

Tabela 2.3 – QTL's mapeados para os vários caracteres com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d), usando o modelo CIM.

						(conclusão)
Crom/ QTL	Intervalo / Bin ^b	Posição (cM)	LOD	Efeito Genético		R_f^2 ^c
				<i>a</i>	<i>d</i>	
DE (cm) ^a						
5 / <i>De1</i>	umc1056-bnlg1902 / 5.03	76,1	7,6	0,071	0,004	6,5
5 / <i>De2</i>	phi0128-umc1156 / 5.07	184,2	4,0	0,051	-0,042	4,5
8 / <i>De3</i>	phi0115-bnlg1176 / 8.03	50,9	16,4	0,103	0,033	13,8
8 / <i>De4</i>	dupssr14-umc1893 / 8.09	155,5	4,6	0,047	-0,020	3,3
10 / <i>De5</i>	bnlg0640-bnlg1526 / 10.03	59,2	10,0	0,083	0,020	7,6
					R_T^2	30,3
NFI ^a						
1 / <i>Nfi1</i>	umc1021-bnlg2238 / 1.03-1.04	64,3	8,8	0,383	0,015	5,5
1 / <i>Nfi2</i>	umc2025-umc1601 / 1.05	103,5	7,3	0,324	-0,037	4,3
2 / <i>Nfi3</i>	bnlg0125-umc1845 / 2.02	31,2	17,7	0,508	0,126	10,6
2 / <i>Nfi4</i>	umc1230-umc1394 / 2.09	197,3	4,4	0,226	0,007	2,4
3 / <i>Nfi5</i>	umc1659-umc1320 / 3.07	155,0	5,1	-0,245	0,070	2,9
7 / <i>Nfi6</i>	bnlg1094-bnlg0434 / 7.02-7.03	53,2	8,5	0,324	0,282	7,1
8 / <i>Nfi7</i>	phi0115-bnlg1176 / 8.03	54,9	12,5	0,427	-0,015	8,2
9 / <i>Nfi8</i>	bnlg0430-umc1107 / 9.03	21,2	5,1	-0,315	0,107	3,4
9 / <i>Nfi9</i>	umc1107-bnlg1012 / 9.04	33,1	5,3	-0,241	0,146	2,8
10 / <i>Nfi10</i>	bnlg0640-bnlg1526 / 10.03	60,2	27,6	0,602	0,003	16,9
					R_T^2	60,0
NGFI ^a						
1 / <i>Ngfi1</i>	umc1073-umc1021 / 1.03	55,1	5,6	0,742	0,439	5,3
1 / <i>Ngfi2</i>	umc1601-bnlg1598 / 1.05	112,0	7,8	-0,847	0,676	7,6
5 / <i>Ngfi3</i>	bnlg1879-umc1056 / 5.03	60,0	3,8	-0,578	0,419	3,9
5 / <i>Ngfi4</i>	bnlg1902-umc1221 / 5.03	101,3	4,1	-0,643	-0,213	4,2
10 / <i>Ngfi5</i>	bnlg1526-umc1930 / 10.04	89,0	6,9	-0,505	0,701	5,5
					R_T^2	27,1

^a PE: peso da espiga; PROL: prolificidade; NE: número de espigas; NRP: número de ramificações do pendão; CE: comprimento da espiga; DE: diâmetro da espiga; NFI: número de fileiras na espiga; NGFI: número de grãos por fileira na espiga.

^b Posição do Bin é designada pelo código X.Y, onde X é o grupo de ligação contendo o Bin e Y é a posição do Bin dentro do grupo de ligação (Gardner et al. 1993)

^c Coeficiente de determinação fenotípico, em %. ^d Coeficiente de determinação total, em %.

2.2.3 Discussão

Grande parte dos caracteres de importância agrônômica no milho apresenta natureza quantitativa. Em função dos efeitos ambientais, surgem dificuldades para se determinar corretamente o genótipo dos indivíduos. Para contornar esse problema, métodos quantitativos sofisticados têm sido desenvolvidos, dentre os quais se destaca o mapeamento de QTL's, que através de associações estatísticas entre marcadores e regiões ao longo dos cromossomos, busca entender melhor a arquitetura genética dos caracteres quantitativos.

Nesse trabalho foram detectados 36 QTL's no total, considerando todos os caracteres avaliados. Para cada caráter individualmente esse número pode ser considerado relativamente baixo quando comparado a outros trabalhos observados na literatura (BEAVIS et al., 1994; AUSTIN; LEE, 1996a, 1996b; LU; ROMERO-SEVERSON; BERNARDO, 2003; MELCHINGER et al., 2004; LIMA et al., 2006), mas é importante citar que são escassos os resultados obtidos com milho tropical em ambientes tropicais (BOHN et al., 1996, 1997; RIBAUT et al., 1997; GROHN et al., 1998; KHAIRALLAH et al., 1998; MANGOLIN et al., 2004; SIBOV et al., 2003b; LIMA et al., 2006; BENTO, 2006; CÂMARA, 2006). Para PE, PROL, NE e NRP, que são os caracteres com maior correlação com PG, foram mapeados poucos QTL's porque tais caracteres são os mais influenciados pelo ambiente, possuindo coeficiente de herdabilidade intermediários e os maiores valores dos coeficientes de variação do presente estudo. Já para NFI, que é o caráter onde foram mapeados 10 QTL's que explicaram em conjunto 60% da variação fenotípica, os efeitos ambientais são menores, resultando no alto valor do coeficiente de herdabilidade e baixo CV. Segundo Flint-Garcia (2005), elevados valores do coeficiente de herdabilidade indica que as variações do caráter são devidas em grande parte às variações nos genótipos dos indivíduos, o que parece ter ocorrido para NFI.

A utilização das médias ajustadas nos cinco ambientes avaliados também reduz o número de QTL's identificados, sendo mapeados apenas os que foram mais estáveis. Estudos prévios demonstraram que a utilização das médias ajustadas em populações $F_{2:3}$ são mais eficientes na detecção de QTL's (VELDBOOM; LEE, 1996), mas vale ressaltar que em ambientes tropicais os efeitos da interação geralmente são muito superiores. No caso, a interação progênies x ambientes foi significativa para todos os caracteres, indicando comportamento diferenciado das progênies

nos cinco ambientes avaliados. Com isso, como as condições edafoclimáticas em climas tropicais são bastante variáveis, há uma grande interação genótipo por ambiente, sendo relativamente mais difícil encontrar genótipos estáveis entre vários ambientes e, conseqüentemente, dificultando a localização de QTL's estáveis (RIBAUT et al., 1997), justificando o reduzido número de QTL's mapeados no presente trabalho.

Nem sempre é simples comparar os resultados de mapeamento de QTL's obtidos em diferentes trabalhos. Por exemplo, diferenças em fatores como o delineamento genético e o método de análise empregado dificultam as comparações. Dessa forma, os QTL's aqui mapeados foram comparados com outros, principalmente com base na coincidência dos bins. Para PG, PE, PROL, NE e NRP outros autores também detectaram QTL's entre os bins 2.03 e 2.04 (BEAVIS et al., 1994; RIBAUT et al., 1997; MELCHINGER et al., 1998; LU; ROMERO-SEVERSON; BERNARDO, 2003, BENTO, 2006; CÂMARA, 2006) e entre 7.04 e 7.05 (BEAVIS et al., 1994, AUSTIN; LEE, 1996b; RIBAUT et al., 1997; MELCHINGER et al., 1998; YAN et al., 2006). Para PROL, foi observada coincidências com os QTL's do bin 1.07 (*Prol1*), com os de Veldboom e Lee (1996), do bin 2.03 com os de Bento (2006) e Câmara (2006), e do bin 7.04 (*Prol2*) com os de Ribaut et al. (2007); ainda, o QTL mapeado em intervalo adjacente ao bin 2.03 também foi identificado por Lima et al. (2006). Para o caráter NRP, vários autores mapearam QTL's em regiões próximas aos intervalos aqui mapeados (BERKE; ROCHEFORD, 1999; MICKELSON et al., 2002; LUNDE et al., 2005; UPADYAYULA et al., 2006), não havendo, contudo, coincidências exatas dos intervalos. Para diâmetro da espiga houve coincidência para a posição do QTL *De1*, localizado no bin 5.03 por Bento (2006) e do *De3*, localizado no bin 8.03 por Veldboom e Lee (1994). Para comprimento da espiga, Austin e Lee (1998), também mapearam QTL's no cromossomo 3, embora em diferente intervalo. Em relação ao caráter NFI, houve um QTL coincidente no bin 5.03 identificado por Bento (2006); e nos cromossomos 2 (VELDBOOM AND LEE, 1996) e 3 (AUSTIN; LEE, 1996b), também foram mapeados QTL's (intervalos adjacentes). Para NGFI, QTL's também foram mapeados por outros autores nos cromossomos 1 (BEAVIS et al. 1994; AUSTIN; LEE, 1996b; BENTO, 2006), 5 (BENTO, 2006) e 10 (AUSTIN; LEE, 1996b; BENTO, 2006). Nota-se que foram observados QTL's em todos os cromossomos do milho, exceto o 6, onde não se observou associações significativas entre locos marcadores e QTL's para nenhum caráter. Esse resultado também pode ser observado em vários outros trabalhos na literatura (STUBER et al., 1992; YAN et al., 2006; RIBAUT et al., 2007).

Dessa forma, é possível afirmar que os QTL's aqui mapeados apresentam boa consistência com a literatura, embora existam algumas diferenças por se tratar de material tropical. Com a crescente disponibilidade de informação sobre o genoma do milho, no futuro será possível identificar quais genes dessas regiões estão associados aos QTL's.

Para alguns dos caracteres aqui considerados foram constatadas regiões muito próximas para as posições de vários QTL's mapeados. Tais coincidências são observadas em função da elevada correlação genética presente em alguns casos. No entanto, de forma geral, o número de QTL's mapeados em regiões genômicas muito próximas foi baixo. Para os caracteres PE, PROL, NE e NRP, foram apresentados QTL's em duas regiões genômicas similares nos intervalos umc1845-bnlg0166 no cromossomo 2 (*Ne1*, *Prol1*, *Pe1* e *Nrp2*) e no intervalo dupssr13-umc1154 no cromossomo 7 (*Pe2*, *Prol2*, *Ne2* e *Nrp3*). Uma vez que esses caracteres são altamente correlacionados, há evidências da possível presença dos fenômenos de pleiotropia e/ou ligação gênica entre esses QTL's, como causas da correlação. Tais QTL's apresentaram valores aditivos com mesmo sinal, com exceção do caráter NRP, que apresentou efeitos aditivos com sinal contrário aos demais QTL's mapeados. Isso decorreu do fato desse caráter possuir correlação negativa com os demais caracteres, que são todos positivamente correlacionados entre si. Além disso, os valores de R^2 foram relativamente altos para os QTL's localizados nesses cromossomos, sendo que no cromossomo 2 ocorreram os maiores valores 10,8% para *Pe1*, 9,7% para *Prol1*, 13,3% para *Ne1* e 19,3% para *Nrp2*.

Para DE e NFI, também dois intervalos phi0115-bnlg1176 (*De3* e *Nfi7*) e bnlg0640-bnlg1526 (*De5* e *Nfi10*), localizados nos cromossomos 8 e 10, respectivamente, apresentaram QTL's coincidentes. Esses QTL's apresentaram valores relativamente altos de R^2 , sendo que os efeitos aditivos foram de mesmo sinal para os QTL's coincidentes, o que está de acordo com a correlação genética positiva que tais caracteres apresentam. Alguns caracteres, como CE e NFI, apresentaram apenas uma região coincidente (umc1659-umc1320), mas, no entanto não apresentam elevada correlação genética entre si e os valores de R^2 foram baixos. Os demais caracteres não apresentaram regiões coincidentes entre si. É importante salientar que as coincidências de QTL's observados em alguns intervalos para diferentes caracteres, apenas sugerem a presença de possíveis efeitos pleiotrópicos ou ligação entre QTL's, muito embora,

testes adicionais, usando modelos mais elaborados, como por exemplo, o apresentado por Jiang e Zeng (1995), seja necessário.

Dentre todos os QTL's mapeados, seis deles (*Pe1*, *Ne1*, *Nrp2*, *De3*, *Nfi3* e *Nfi10*) explicaram individualmente mais que 10% da variação fenotípica, sugerindo que os mesmos poderiam ser utilizados em programas de seleção assistida, ainda mais quando se considera que os mesmos são estáveis. A variação não explicada pelos QTL's nesse estudo, pode ter ocorrido por várias razões, também notadas por Sibov et al. (2003b): QTL's em regiões não mapeadas no genoma; QTL's de pequeno efeito não identificados; interações epistáticas entre QTL's.

Como sugerido por Beavis (1994), QTL's que foram detectados em diferentes populações ou são subamostras da mesma população podem ser piramizados num genótipo simples pela utilização da MAS. Nota-se, no entanto que dada a proximidade entre os QTL's *Pe2* e *Ne1*, dificilmente seria possível combinar alelos dos QTL's nesse caso. Em outras palavras, os alelos dos QTL's serão combinados em blocos. Nas demais situações, seria possível teoricamente, combinar apenas alelos dos QTL's que levassem ao aumento da PG.

Modelos do tipo CIM, empregados no presente trabalho, permitem localizar e estimar os efeitos dos QTL's para vários caracteres, e foram empregados com sucesso no presente caso. No entanto, possuem como limitação o fato de não permitirem testes estatísticos das causas da correlação (pleiotropia e ligação), fazendo que as interpretações sejam baseadas apenas em comparações visíveis das posições dos QTL's mapeados. Uma alternativa seria empregar o método proposto por Jiang e Zeng (1995), que permite testar a presença de pleiotropia ou ligação, permitindo um detalhamento ainda maior da correlação genética entre caracteres.

Referências

- AGRAMA, H. A.; MOUSSA, M. E. Identification of RAPD markers tightly linked to the dwarf mosaic virus resistance gene in maize. **Maydica**, Bergamo, v. 41, n. 3, p. 205-210, 1996 a.
- AGRAMA, H. A.; MOUSSA, M. E. Mapping QTL's in breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) **Euphytica**, Wageningen, v. 91, n. 1, p. 89-97, 1996 b.
- AGRAMA, H. A.; ZAKARIA, A. G.; SAID, F. B.; TUINSTRA, M. R. Identification of quantitative trait loci for nitrogen use efficiency in maize. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 5, n. 2, p. 187-195, 1999.
- AHMADI, N.; ALBAR, L.; PRESSOIR, G.; PINEL, A.; FARGETTE, D.; GHESQUIERE, A. Genetics basis and mapping of resistance to *Rice yellow motile virus* III. Analysis of QTL efficiency in introgressed progenies confirmed the hypothesis of complementary epistasis between two resistance QTL's. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 103, n. 6/7, p. 1084-1092, 2001.
- AJMORE-MARSAN, P.; GORNI, C.; CHITTÒ, A.; REDAELLI, R.; VAN VIJK, R.; STAM, P.; MOTTO, M. Identification of QTL's 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**, Berlin, v. 102, n. 2/3, p. 230-243, Feb. 2001.
- AUSTIN, D. F.; LEE, M. Genetic resolution and verification of quantitative trait loci for flowering and plant height with recombinant inbred lines of maize. **Genome**, Ottawa, v. 39, n. 5, p. 957-968, 1996 a.
- AUSTIN, D. F.; LEE, M. Comparative mapping in F_{2:3} and F_{6:7} generations of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 92, n. 7, p. 817-826, May, 1996 b.
- AUSTIN, D. F.; LEE, M. Detection of quantitative loci for grain yield and yield components in maize across generations in stress and no stress environments. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1296-1308, Sep/Oct. 1998.

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

BASTEN, C. J.; WEIR, B. S.; ZENG, Z. B. **QTL Cartographer**: version 1.17. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC, 2003.

BEAVIS, W. D. The power and the deceit of QTL experiments: Lessons from comparative QTL studies. ANNUAL CORN & SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 49., 1991, Washington. **Proceedings...** Washington: ASTA, 1994. p. 250-266.

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, n. 4, p. 882-896, Jul./Aug.1994.

BENTO, D. A. V. **Mapeamento de QTL's para produção e seus componentes em uma população de milho tropical**. 2006. 133 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

BERKE, T. G.; ROCHEFORD, T. R. Quantitative trait loci for tassel traits in maize. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 5, p. 1439-1443, Sep./Oct. 1999.

BOHN, M.; KHAIRALLAH, M. M.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, D.; HOISINGTON, D. A.; UTZ, H. F.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J. A.; MELCHINGER, A. E. QTL's mapping in tropical maize: I. Genomic regions affecting leaf feeding resistance to sugarcane borer and other traits. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 5, p. 1352-1361, Sept./Oct.1996.

BOHN, M.; KHAIRALLAH, M. M.; JIANG, C.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, D.; HOISINGTON, D. A.; UTZ, H. F.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J.; MELCHINGER, A. E. QTL mapping in tropical maize: II. Comparison of genomic regions for resistance to *Diatraea* spp. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 6, p. 1892-1902, Nov./Dec. 1997.

BURDICK, R. K.; GRAYBILL, F. A. **Confidence intervals on variance components**. New York: Marcel Dekker, 1992. v. 127, 211p.

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

CARDINAL, A. J.; LEE, M.; SHAROPOVA, N.; WOODMAN-CLIKERNAN, W. L.; LONG, M. Genetic mapping and analysis of quantitative trait loci for resistance to stalk tunneling by the european corn borer in maize. **Crop Science**, Madison, v. 41, n.3, p. 835-845, May/June. 2001.

CHURCHILL, G. A.; DOERGE, R. W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. **Genetics**, Austin, v. 138, n. 3. p. 963-971, Nov. 1994.

COORS, J. G.; MARDONES, M. C. Twelve cycles of mass selection for prolificacy in maize I. Direct and correlated responses. **Crop Science**, Madison, v. 29, n. 2, p. 262-266, Mar./Apr. 1989.

FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Use of molecular markers to accelerate the breeding of common beans resistant to rust and anthracnose. **Euphytica**, Wageningen, v. 138, n. 3, p. 213-218, 2004.

FLINT-GARCIA, S. A.; DARRAH, L. L.; MCMULLEN, M. D.; HIBBARD, B. E. Phenotypic versus marker-assisted selection for stalk strength and second-generation european corn borer resistance in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 7, p. 1331-1336, 2003.

FLINT-GARCIA, S. A.; THUILLET, A. C.; YU, J. M.; PRESSOIR, G.; ROMERO, S. 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. **Plant Journal**, Oxon, v. 44, n. 6, p. 1054-1064, 2005.

GARDNER, J.; COE, E. H.; MELIA-HANCOCK, S.; HOISINGTON, D. A.; CHAO, S. Development of a core RFLP map in maize using an immortalized-F2 population. **Genetics**, Austin, v. 134, n.3, 917-930, July. 1993.

GROHN, S.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, D.; KHAIRALLAH, M. M.; JIANG, C.; BERGVINSON, M.; BOHN, M.; HOISINGTON, D. A.; MELCHINGER, A. E. QTL mapping in tropical maize: III. Genomic regions for resistance to *Diatraea* spp. and associated traits in two RIL populations. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 4, p. 1062-1072, July/Aug. 1998.

HALLAUER, A. R.; SEARS, J. H. Mass selection for grain yield in two varieties of maize. **Crop Science**, Madison, v. 9, n. 1, p. 47-50, Jan./Feb. 1969.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA-FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2ed. Ames:Iowa State University Press, 1988. 468p.

HOLTHAUS, J. F.; LAMKEY, K. R. Response to selection and changes in genetic parameters for 13 plant and ear traits in two maize recurrent selection programs. **Maydica**, Bergamo, v. 40, n. 4, p. 357-370, 1995.

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

JUGENHEIMER, R. W. **Corn improvement, seed production and uses**. New York: Wiley-Interscience, 1976. 670 p.

KEMPTHORNE, O. **An Introduction to Genetic Statistics**. New York: John Wiley, 1966. 545 p.

KHAIRALLAH, M. M.; BOHN, M.; JIANG, C.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J. A.; MELCHINGER, A. E.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, 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.

KNAPP, S.J.; BRINDGES, W. C.; BIRKES, D. Mapping quantitative trait loci using molecular marker linkage maps. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 79, n. 3, p. 583-592, 1990.

LANDER, E. S.; GREEN, P.; ABRAHANSON, J.; BARLOW, A.; DALY, M. J.; LINCON, S. E.; NEWBURG, L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. **Genomics**, San Diego, v. 1, n. 2, p. 174-181, 1987.

LEON, N.; COORS, J. G. Twenty-four cycles of mass selection for prolificacy in the Golden Glow maize population. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 2, p. 325-333, Mar./Apr. 2002.

LI, Y.; DONG, Y.; NIU, S.; CUI, D. The genetic relationship among plant-height traits found using multiple-trait QTL mapping of a dent corn and popcorn cross. **Genome**, Ottawa, v. 50, n. 4, p. 357-364, 2007.

LIANG, F.; DENG, Q.; WANG, Y.; XIONG, Y.; JIN, D.; LI, J.; WANG, B. Molecular markers-assisted selection for yield-enhancing genes in the progeny of “9311” X *O. rufipogon* using SSR. **Euphytica**, Wageningen, v. 139, n. 2, p. 159-165, 2004.

LIMA, M. L. A.; de SOUZA JÚNIOR., C. L.; BENTO, D. A. V.; SOUZA, A. P.; CARLINI-GARCIA, L. A. Mapping QTL for grain yield and plant traits in a tropical maize population. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 17, n. 3, p.: 227-239, 2006.

LOPEZ-REYNOSO, J. de J.; HALLAUER, A. R. Twenty-seven cycles of divergent mass selection for ear length in maize. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 4, p. 1099-1107, July/Aug. 1998.

LU, H.; ROMERO-SEVERSON, J.; BERNARDO, R. Genetic basis of heterosis explored by simple sequence repeat markers in a random-mated maize population. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 3, p. 494-502, 2003.

LUNDE, C.; SCHULTZ, J.; BOMMERT, P.; REZAPOUR, M.; ROCHEFORD, T.; HAKE, S. Zmkin1, a CLAVATA1-like sequence from maize, maps near two QTL for tassel long branch number. **Maize genetics cooperation newsletter**, Columbia, n.79, 2005, p. 2.

LÜBBERSTEDT, T.; MELCHINGER, A. E.; SCHÖN, C. C.; UTZ, H. F.; KLEIN, D. mapping in testcrosses of European Flint Lines of maize: I. Comparison of different testers for forage yield traits. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 3, p. 921-931, May/June. 1997.

LÜBBERSTEDT, T.; MELCHINGER, A. E.; FAHR, A. E.; KLEIN, D.; DALLY, A.; WETHOFF, P. QTL mapping in testcrosses of flint lines of maize: III. Comparison across populations for forage traits. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1278-1289, Set./Oct. 1998.

MAITA, R.; COORS, J. G. Twenty cycles of biparental mass selection for prolificacy in the open-pollinated maize population golden-Glow. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 6, p. 1527-1532, Nov./Dez. 1996.

MALVAR, R. A.; ORDÁS, A.; REVILLA, P.; CARTEA, M.E. Estimates of genetic variance in two Spanish populations of maize. **Crop Science**, Madison, v. 36; n. 2; p. 291-295, Mar./Apr. 1996.

MANGOLIN, C. A.; de SOUZA JÚNIOR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; GARCIA, A. F.; SIBOV, S. T.; SOUZA, A. P. Mapping QTL's for kernel oil content in a tropical maize population. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 2, p. 251-259, 2004.

MELCHINGER, A. E.; UTZ, H.; SCHÖN, C. C. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent Population Samples in Maize Reveals Low Power of QTL Detection and Large Bias in Estimates of QTL Effects. **Genetics**, Austin, v. 149, n. 1, p. 383-343, May. 1998.

MELCHINGER, A. E.; UTZ, H. F.; SCHÖN, C. C. QTL analysis of complex traits with cross validation, bootstrapping and other biometric methods. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 1-11, 2004.

MICKELSON, S. M.; STUBER, C. S.; SENIOR, L.; KAEPLER, S. M. Quantitative trait loci controlling leaf tassel in a B73 x Mo17 population of maize. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 6, p. 1902-1909, Nov./Dec. 2002.

OPENSHAW, S.; FRASCAROLI, E. QTL detection and marker-assisted selection for complex traits in maize. In: ANNUAL CORN & SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 52., 1997, Washington. **Proceedings...** Washington: ASTA, 1997.

PENY, T. W. Corn as a Livestock Feed. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. (Eds). **Corn and corn improvement**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1988. pp. 941-963.

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

RIBAUT, J. M.; FRACHEBOUD, Y.; MONNEVEUX, F.; BANZIGER, M.; VARGAS, M.; JIANG, C. Quantitative trait loci for yield and correlated traits under high and low soil nitrogen conditions in tropical maize. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 20, n. 1, p. 15-29, 2007.

ROBINSON, H. F.; COMSTOCK, R. E.; HARVEY, P.H. Estimates of heritability and the degree of dominance in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 41, n. 6, p. 353-359, Jun. 1949.

SAS Institute. SAS/STAT user's guide v. 8.2. SAS Institute. Cary, N.C., 2001. 1028p.

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

SIBOV, T. S.; de SOUZA, JÚNIOR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; SILVA, A. R.; GARCIA, A. F.; MANGOLIN, C. A.; BENCHIMOL, L. L.; SOUZA, A. P. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. **Hereditas**, Lund, v. 139, n. 2, p. 107-115, 2003 b.

STUBER, C. W.; SISCO, P. Marker-facilitated transfer of QTL alleles between elite inbred lines and responses in hybrids. In: ANNUAL CORN & SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 46, 1991, Chicago. **Proceedings...** Chicago: ASTA, 1991. p. 105-113.

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**, Austin, v. 132, n. 3, p. 823-839, Nov. 1992.

TWARDOWSKA, M.; MASOJC, P.; MILCZARSKI, P. Pyramiding genes affecting sprouting resistance in Ryce by means of markers assisted selection. **Euphytica**, Wageningen, v. 143, n. 3, p. 257-260, 2005.

UPADYAYULA, N.; WASSOM, J.; BOHN, M. O.; ROCHEFORD, T. R. quantitative trait loci analysis of phenotypic of maize tassel inflorescence architecture. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 113, n. 8, p. 1395-1407, Nov. 2006.

VELDBOOM, L. R.; LEE, M. Molecular-marker-facilitated studies of orphological traits in maize. II. Determination of QTL's for grain yield and yield components. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 89, n. 4, p. 415-458, Oct. 1994.

VELDBOOM, L. R.; LEE, M. Genetic mapping of quantitative trait loci in maize in stress and nonstress environments: I. Grain yield and yield components. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 5, p. 1310-1319, Sep./Oct. 1996.

WANG, S.; BASTEN, C. J.; ZENG, Z. B. **Windows QTL Cartographer**: version 2.5. North Carolina State University, Raleigh, NC: Department of Statistic, 2005.

YAN, J. B, TANG, H.; HUANG, Y. Q.; ZHENG, Y. L.; LI, J. S. Quantitative trait loci mapping and epistatic analysis for grain yield and yield components using molecular markers with an elite maize hybrid. **Euphytica**, Wageningen, v. 149, n. 1, p. 121-131, 2006.

YOUSELF, G. G.; JUVIK, J. A. Comparison of phenotypic and marker-assisted selection for quantitative traits in sweet corn. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 3, p. 645-655, 2001.

WATSON, S. A. Corn marketing, processing and utilization. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. (Eds). **Corn and corn improvement**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1988. pp. 881-940.

ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Austin, v. 136, n. 4, p. 1457-1468, Apr. 1994.

3 MAPEAMENTO DE QTL'S E BASE GENÉTICA DA CORRELAÇÃO ENTRE CARACTERES EM UMA POPULAÇÃO DE MILHO TROPICAL

Resumo

Nos programas de melhoramento genético normalmente muitos caracteres são considerados simultaneamente, dado que a presença de correlações entre eles pode causar respostas correlacionadas à seleção desfavoráveis em alguns caracteres. Dessa forma, é importante ter um melhor entendimento sobre as causas dessa correlação (ligação ou pleiotropia) caso de deseje realizar seleção assistida por marcadores. O presente trabalho teve como objetivo detectar e estimar os efeitos dos QTL responsáveis pela expressão de vários caracteres importante para o milho e, além disso, estudar as causas da correlação genética entre eles. Para tanto, foram utilizadas 400 progênies F_{23} de milho tropical, avaliadas em cinco ambientes. O mapa genético foi constituído por 117 locos microssatélites com distância média de 14 cM entre locos. Os caracteres avaliados foram: produção de grãos (PG), peso da espiga (PE), prolificidade (PROL), número de espigas (NE), número de ramificações do pendão (NRP), rendimento (REND), altura de planta (AP), altura da espiga (AE), comprimento da espiga (CE), diâmetro da espiga (DE), número de fileiras da espiga (NFI), número de grãos por fileira (NGFI), número de folhas acima da primeira espiga (NFO), posição relativa da espiga (PR), porcentagem de quebramento do colmo (QUE) e porcentagem de acamamento de plantas (ACP). Os dados foram analisados usando o Mapeamento por Intervalo Composto (CIM, para os caracteres não correlacionados) e uma expansão do CIM para análise de vários caracteres simultaneamente (mCIM). Foram identificados QTL's em regiões distintas e responsáveis por REND (3), NFO (7), PR (1) e QUE (1), que não são correlacionados. Para os caracteres correlacionados e mapeados com o mCIM, foram mapeados 5 QTL's controlando simultaneamente PG, PE, NE, PROL, NRP, AP e AE, sendo que haviam tanto QTL's ligados como pleiotrópicos nesse grupo. De forma geral, quanto maior a correlação (como por exemplo, entre PG e AP), maior a presença de QTL's pleiotrópicos. No caso de CE e NGFI, e DE e NFI, menos correlacionados entre si, foram mapeados 9 e 11 QTL's em cada caso, respectivamente, com predomínio de ligação como principal causa da correlação. Os resultados permitiram identificar regiões genômicas que poderiam ser manipuladas em programas de seleção assistida por marcadores. O número relativamente baixo de QTL's mapeados possivelmente ocorreu em função da elevada presença de interação entre genótipos e ambientes.

Palavras-chave: Mapeamento de QTL's multivariado; Ligação genética; Pleiotropia; Seleção assistida por marcadores

QTL MAPPING AND THE GENETIC BASIS OF CORRELATION BETWEEN TRAITS IN A TROPICAL MAIZE POPULATION

Abstract

It is important to consider several traits simultaneously when designing breeding strategies, since correlation between traits can result in unfavorable responses. The objective of this work was to estimate the location and effects of QTL related to several economic important traits in a tropical maize population, and also to study the genetic basis of the correlation between traits (linkage or pleiotropy). 400 F₂₃ tropical maize progenies were evaluated in 5 environments in Piracicaba, Sao Paulo, Brazil. The genetic maps was previously estimated and had 117 microsatellite loci with average distance of 14 cM. Traits evaluated were grain yield (GY), ear weight (EW), prolificacy (PROL), plant height (PH), ear height (EH), ear number (EN), tassel branch number (TBN), ear length (EL) and diameter (ED), kernel row number (KRN), kernel number per row (KNR), leaf number (LN), ear position (EP) and stalk lodging (SL). Data was analysed using Composite Interval Mapping (CIM, for non-correlated traits) and its extension for considering several traits simultaneously (mCIM). For non-correlated traits (LN, EP, SL), QTL were mapped in different chromossomic regions. Using mCIM, 5 QTL associated with GY, EW, EN, PROL, TBN, PH and EH were mapped. For traits with higher correlation (such as GY and PH), there were more pleiotropic than linked QTL causing the correlation. For EL and KNR, and for ED and KRN, that have low correlation, 9 and 11 QTL were mapped, respectively, and linked QTL was the major cause of correlation. Several genomic regions that could be used for marker assisted selection were identified.

Key-words: Multitrait QTL mapping; Linkage; Pleiotropy; Marker assisted selection

3.1 Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas mais estudadas do ponto de vista genético, e serve de modelo para o melhoramento de muitas espécies vegetais. Seu valor econômico total é definido por uma série de caracteres de importância agronômica, dentre os quais destaca-se a produção de grãos, que tem natureza quantitativa e é função de diferentes caracteres, como prolificidade, número de espigas, número de fileiras na espiga, número de grãos por fileira na espiga e peso médio do grão (JUGENHEIMER, 1976). Tais caracteres possuem herança complexa, e os genes que os controlam normalmente sofrem grande influência dos efeitos do ambiente. Muitos estudos foram realizados em milho tentando localizar QTL's e, com isso, fornecer um melhor entendimento da arquitetura genética dos caracteres quantitativos (p. ex. STUBER; EDWARDS; WENDEL, 1987; VELDBOOM; LEE; WOODMAN, 1994; AJMORE-MARSAN et al., 1995, 1996; BERKE; ROCHEFORD, 1995; AUSTIN; LEE, 1996, 1998; MELCHINGER et al., 1998; FROVA et al., 1999; TANG et al., 2007). No entanto, poucos estudos desse tipo foram realizados em germoplasmas tropicais, que possuem peculiaridades diferentes das populações usadas em clima temperado (BOHN et al., 1996, 1997; RIBAUT et al., 1997; GROHN et al., 1998; KHAIRALLAH et al., 1998; SIBOV et al., 2003b; MANGOLIM et al., 2004; LIMA et al., 2006; BENTO, 2006; CÂMARA, 2006; SABADIN et al.¹).

Dentre várias aplicações, o mapeamento de QTL's permite entender melhor as causas da correlação genética entre os caracteres quantitativos. Tal entendimento é muito importante para os programas de melhoramento, uma vez que a seleção não pode ser feita para os caracteres de forma isolada, pois isso pode causar respostas à seleção indesejadas em alguns caracteres. A correlação genética entre caracteres pode ser devida a efeitos de pleiotropia e/ou por ligação genética (FALCONER; MACKAY, 1996). Pleiotropia surge quando a ação de um gene afeta simultaneamente dois ou mais caracteres, sendo, portanto uma associação permanente e que não pode ser manipulada via seleção. Ligação genética ocorre quando dois genes são transferidos como blocos, em função da proximidade dos mesmos nos cromossomos. Nesse segundo caso, a ocorrência de recombinação entre eles permite que os mesmos segreguem de forma independente, e por isso é uma causa transitória da correlação, que pode ser manipulada via seleção. Dessa forma, descobrir quais são as causas da correlação é muito importante para os programas de seleção assistida, permitindo definir estratégias para contornar esse problema, atuando, por

exemplo, para quebrar ligações quando for o caso. No caso de programas de seleção assistida por marcadores, tais informações poderiam ser usadas na definição de índices de seleção que levem em consideração múltiplos caracteres simultaneamente, mas agora ao nível dos QTL's.

Ao longo dos anos, vários métodos estatísticos para mapear QTL foram desenvolvidos, sendo que atualmente é bastante empregado o Mapeamento por Intervalo Composto (ZENG, 1994; JANSEN; STAM, 1994) para cada caráter individualmente. Após localizar os QTL's, as posições são comparadas e as evidências de ligação e pleiotropia usualmente são discutidas sem a realização de testes estatísticos (por exemplo, RIBAUT et al., 1997; AUSTIN; LEE, 1998; BERKE; ROCHEFORD, 1999; SIBOV et al., 2003b; MIHALJEVIC et al., 2005; LIMA et al., 2006; BENTO, 2006; CÂMARA, 2006; ZHANG et al., 2006; SABADIN et al.¹). No entanto, quantos múltiplos caracteres são avaliados, pode haver grande aumento do poder de detecção de QTL's e diminuição da variância das estimativas dos efeitos se as correlações entre os caracteres forem consideradas em modelos multivariados (JIANG; ZENG, 1995), além de ser possível testar estatisticamente as hipóteses de ligação ou pleiotropia entre os QTL's mapeados.

Há vários modelos estatísticos com enfoque multivariado para o mapeamento de QTL's (JIANG; ZENG, 1995; RONIN et al., 1995; EAVES et al., 1996; WELLER et al., 1996; MANGIN et al., 1998; KNOTT; HALLEY, 2000; HACKET; MEYER; THOMAS, 2001; KOROL et al., 2001; MALOSETTI et al., 2008, entre outros). Dentre eles, destaca-se o modelo apresentado por Jiang e Zeng (1995), que consiste numa expansão do método CIM (ZENG, 1993, 1994) para a análise de caracteres individuais. Tal modelo tem a vantagem de melhorar o poder e a precisão dos testes estatísticos, explicando melhor o controle genético dos caracteres envolvidos nesse tipo de estudo. Além disso, é possível também a utilização de procedimentos apropriados para testar várias hipóteses biologicamente importantes envolvendo múltiplos caracteres, tais como pleiotropia, pleiotropia x ligação e interação entre QTL's e ambientes.

Recentemente, Sabadin et al.¹ mapearam QTL's para componentes de produção numa população de milho tropical, encontrando 36 QTL's associados aos caracteres peso da espiga, prolificidade, número de espiga, número de ramificações do pendão, comprimento e diâmetro da espiga, número de fileiras de grãos na espiga e número de grãos na espiga. No entanto, o objetivo de tal trabalho era identificar os QTL's desses vários caracteres, e foram empregados modelos CIM univariados, não permitindo portanto conhecer em detalhes as causas da correlação entre os caracteres. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar estudos sobre a

arquitetura genética de caracteres quantitativos (incluindo produção de grãos) numa população de milho tropical previamente estudada sob outros enfoques (SIBOV et al., 2003a, 2003b; SABADIN et al.¹). Buscou-se entender os mecanismos responsáveis pelas correlações, separando, quando possível, os efeitos de ligação e pleiotropia entre os diversos QTL's mapeados.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e Métodos

3.2.1.1 Avaliações Fenotípicas

Os dados fenotípicos utilizados neste trabalho são apresentados em maiores detalhes em Sibov et al. (2003a, 2003b). Resumidamente, uma população segregante F_2 foi gerada a partir do cruzamento das linhagens endogâmicas L-08-05F e L-14-4B. Do cruzamento de quatro plantas F_1 foram geradas 400 plantas F_2 , das quais foram obtidas 400 progênies $F_{2:3}$, que foram cruzadas entre si e semeadas em linhas com 20 plantas para aumentar o número de sementes necessárias para as avaliações experimentais. As progênies foram avaliadas em cinco locais, em Piracicaba, SP, Brasil: Estação Experimental Fazenda Areão (1999 e 2000), Estação Experimental Fazenda Caterpillar (1999 e 2000), e Estação Experimental Departamento de Genética (2000). Cada combinação lugar x ano foi tratada como um ambiente, sendo que no Departamento de Genética não foram feitas avaliações no ano 1999, resultando em 5 ambientes no total. As 400 progênies foram divididas em quatro conjuntos com 100 progênies cada, e cada grupo foi avaliado num delineamento em látice 10 x 10, com duas repetições. A parcela foi constituída de uma linha de 4m de comprimento e 0,80m entre linhas. O estande apresentava 20 plantas por linha, o que corresponde a uma densidade de plantio de 62.500 plantas por hectare.

Os caracteres avaliados foram: produção de grãos (PG): peso de grãos em Mg hectare⁻¹; peso da espiga planta⁻¹ (PE): Mg hectare⁻¹; prolificidade (PROL): número de espigas planta⁻¹ para cada parcela, sendo o quociente entre o número de espigas por planta e o número total de plantas de cada parcela; número de espigas planta⁻¹ (NE); número de ramificações do pendão (NRP); rendimento (REND): quociente entre o peso de grãos e o peso da espiga, em %; altura de planta

(AP): em cm; altura da espiga (AE): em cm; comprimento da espiga (CE): em cm; diâmetro da espiga (DE): em cm; número de fileiras da espiga (NFI); número de grãos por fileira (NGFI); número de folhas acima da primeira espiga (NFO); posição relativa da espiga (PR): quociente entre a altura de espiga e a altura da planta; porcentagem de quebramento do colmo (QUE): em % e porcentagem de acamamento de plantas (ACP): quociente entre o acamamento e o estande multiplicado por 100. Os caracteres PROL e PG foram corrigidos para o estande médio do experimento, e, além disso, o caráter PG foi corrigido para o teor de umidade padrão de 15%. Os caracteres PROL, PG, PE, NE e REND foram avaliados nos 5 ambientes considerados; AP, AE, CE, DE, NFI, NGFI, QUE e PR não foram avaliados Fazenda Areão 1999 (total de 4 ambientes); NFO e NRP não foram avaliados na Fazenda Areão em 1999 e 2000 (total de 3 ambientes).

As análises estatísticas dos dados fenotípicos foram feitas como apresentado por Sabadin et al.¹. De forma resumida, foi usado um modelo linear aleatório, considerando efeitos de ambientes, progênies e interação entre progênies e ambientes. Todas as pressuposições da análise de variância foram verificadas, e transformações de dados foram investigadas quando necessário. Foram estimados os coeficientes de herdabilidades de acordo com Burdick e Graybill (1992), bem como seus intervalos de confiança (KNAPP; BRINDGES; BIRKES, 1990). Além das correlações genéticas e fenotípicas obtidas segundo Kempthorne (1966) e apresentadas por Sabadin et al.¹ para vários caracteres, também foram incluídos nesse trabalho os caracteres, rendimento, altura de planta e de espiga, acamamento, quebramento, posição relativa e número de folhas acima da primeira espiga. Para os caracteres QUE e ACP, as correlações genéticas e fenotípicas foram estimadas usando a transformação $\sqrt{x + 0,5}$, mas para o mapeamento os resultados foram apresentados na unidade original, visto que os resultados não foram diferentes dos obtidos com a transformação. As análises foram realizadas utilizando os módulos *proc mixed* e *proc glm* do programa estatístico SAS[®] (SAS Institute, 2001).

3.2.1.2 Correlação entre Caracteres

Com a finalidade de identificar quais grupos de caracteres foram mais correlacionados entre si, foi realizada uma análise de agrupamentos. Para tanto, a matriz de correlações fenotípicas foi transformada em matriz de distâncias, usando (eq. 1):

$$d_{cd} = \sqrt{1 - |r_{cd}|} \quad (1)$$

em que d_{cd} : distância entre os caracteres c e d ($0 \leq d_{cd} \leq 1$); r_{cd} : coeficiente de correlação fenotípica de Pearson entre c e d . A partir da matriz de distâncias, construiu-se um dendrograma, usando o método UPGMA (SNEATH; SOKAL, 1973). Os dendrogramas foram construídos utilizando o programa computacional R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2005).

3.2.1.3 Mapa Genético

O mapa de ligação usado para a localização dos QTL's contém 117 locos de microssatélites, que foram previamente descritos em Sibov et al. (2003a, 2003b). De uma forma resumida, o mapa genético tem um tamanho aproximado de 1634 cM, com um intervalo médio de 14 cM entre marcadores adjacentes. Para a construção do mapa genético utilizou-se o programa MAPMAKER/EXP versão 3.0 (LANDER et al., 1987). Um valor de *LOD score* (*lod of odds* – razão de chances) superior a 3 foi utilizado para declarar ligação em análise de dois pontos, e análises multipontos foram empregadas para determinar a ordem e a distância entre os marcadores. Unidades de recombinação foram convertidas em distâncias genéticas pela aplicação da função de Kosambi (KOSAMBI, 1944).

3.2.1.4 Mapeamento por Intervalo Composto (CIM)

Com base no dendrograma, foi possível verificar grupos de caracteres pouco correlacionados entre si. Para esses caracteres, o mapeamento foi realizado empregando o Mapeamento por Intervalo Composto (CIM) (ZENG, 1994; JANSSEN; STAM, 1994), de forma similar ao que foi apresentado por Sabadin et al.¹. Dada a baixa correlação, não haveria ganhos fazendo mapeamento multivariado (JIANG; ZENG, 1995). O CIM se baseia na hipótese de que um QTL se encontra num intervalo entre dois marcadores adjacentes a ele, sendo que os efeitos dos QTL's que se encontram fora do intervalo considerado são controlados usando marcadores como cofatores, num modelo de regressão múltipla. Isso permite controlar a variação dos demais

QTL's e, conseqüentemente, aumentar a precisão das estimativas no intervalo sendo mapeado (ZENG, 1994; JANSEN; STAM, 1994). O modelo estatístico usado para cada caráter foi (eq. 2):

$$y_j = b_0 + b^* x_j^* + d^* z_j^* + \sum_k (b_k x_{jk} + d_k z_{jk}) + e_j \quad (2)$$

em que, y_j é o valor fenotípico da progênie j ($j=1,2,...,400$); b_0 é a média do modelo; b^* e d^* são os efeitos aditivos e de dominância do possível QTL, respectivamente; x_j^* e z_j^* são variáveis indicadoras do genótipo do QTL calculadas a partir das marcas flanqueadoras e associadas aos efeitos b^* e d^* , respectivamente; x_{jk} e z_{jk} são os cofatores (marcadores) correspondentes aos genótipos da k -ésima marca fora do intervalo considerado, selecionados para controlar a variação genética residual; b_k e d_k são os coeficientes de regressão parcial do k -ésimo cofator; e_j é o efeito residual tal que $e_j \sim N(0, \sigma^2)$.

Os k cofatores foram selecionados usando o método de seleção de variáveis *stepwise*, com probabilidade de entrada e saída dos cofatores de 5%. Usando o modelo CIM, a cada 1 cM foram feitos testes da razão de verossimilhança (LR) (e convertidos em *LOD score*) para verificar a presença do QTL na posição considerada. Como múltiplos testes foram realizados, o nível crítico para rejeição de H_0 (ausência de QTL) foi obtido com base em 1000 permutações (CHURCHILL; DOERGE, 1994). Todas as análises foram feitas utilizando o modelo 6 do módulo *Zmapqtl* do QTLCartographer versão 1.17 (BASTEN; WEIR; ZENG, 2003), com uma janela (*window size*) de 10 cM. Os valores de R^2 (proporção da variância fenotípica explicada pelos QTL's mapeados) para cada caráter foi obtido a partir do ajuste de um modelo com todos os QTL's simultaneamente, usando a versão *Windows* do QTLCartographer (WANG; BASTEN; ZENG, 2005). Os sinais dos efeitos aditivos indicam a origem do alelo que aumenta cada caráter: se positivo, os alelos são provenientes da linhagem L-14-4B; se negativo, da linhagem L-08-05F.

3.2.1.5 Mapeamento por Intervalo Composto para Múltiplos Caracteres simultaneamente (mCIM)

Para os caracteres correlacionados, foi empregado o modelo mCIM proposto por Jiang e Zeng (1995). Esse método é uma extensão do modelo CIM para análise de caracteres individuais, e permite análises de múltiplos caracteres simultaneamente. Para testar se há um QTL em um intervalo entre dois marcadores controlando pelo menos um dos m caracteres avaliados, foi usado o seguinte modelo (eq. 3):

$$\begin{aligned}
 y_{j1} &= b_{01} + b_1^* x_j^* + d_1^* z_j^* + \sum_k (b_{k1} x_{jk} + d_{k1} z_{jk}) + e_{j1} \\
 y_{j2} &= b_{02} + b_2^* x_j^* + d_2^* z_j^* + \sum_k (b_{k2} x_{jk} + d_{k2} z_{jk}) + e_{j2} \\
 &\vdots \\
 y_{jm} &= b_{0m} + b_m^* x_j^* + d_m^* z_j^* + \sum_k (b_{km} x_{jk} + d_{km} z_{jk}) + e_{jm}
 \end{aligned} \tag{3}$$

em que, y_{jm} é o valor fenotípico da progênie j para o caráter m ($j = 1, 2, \dots, 400$); b_{0m} é a média do modelo para o caráter m ; b_m^* e d_m^* são os efeitos aditivos e de dominância, respectivamente, do provável QTL sobre o caráter m ; x_j^* e z_j^* são variáveis indicadoras dos genótipos do QTL's associadas aos efeitos aditivos e de dominância, respectivamente, e determinadas com base nas marcas flaqueadoras (probabilidades condicionais); x_{jk} e z_{jk} são variáveis correspondentes ao marcador k (cofator, análogo ao CIM); b_{km} e d_{km} são os efeitos correspondentes aos genótipos do k -ésimo marcador; e_{jk} é o efeito residual associado ao caráter k para a progênie j (com distribuição normal multivariada).

O número de cofatores utilizado foi obtido somando-se os cofatores que foram selecionados para cada caráter individualmente empregando o método *stepwise*, com probabilidade de entrada e saída de 5%. Os efeitos de usar probabilidades 10% (mais cofatores) e 1% (poucos cofatores) foram considerados, e o valor 5% foi escolhido uma vez que permitiu selecionar um número razoável do cofatores para diminuir a variação residual sem levar à superparametrização do modelo. As hipóteses consideradas para a presença de QTL's em cada posição foram $H_0 : b_1 = \dots = b_m = 0; d_1 = \dots = d_m = 0$ vs $H_1 : \text{pelo menos um efeito diferente de}$

zero, sendo portanto um modelo que busca QTL's com efeitos exclusivamente pleiotrópicos. Tais hipóteses foram testadas com base na estatística razão de verossimilhança $LR = -2\log_e[L(H_0)/L(H_1)]$, em que $L(H_0)$ e $L(H_1)$ são as verossimilhanças sob H_0 e H_1 , respectivamente. Para tanto, utilizou-se o modelo 6 do módulo *JZmapqtl* do QTLCartographer versão 1.17 (BASTEN; WEIR; ZENG, 2003), e as análises foram feitas a cada 1 cM do mapa de ligação, com uma janela (*window size*) de 10 cM. Para determinar o *threshold* para detecção de QTL's, foram realizadas 1000 permutações (CHURCHILL; DOERGE, 1994) a nível genômico, usando para tanto *script* próprio desenvolvido no sistema GNU/Linux. Em cada região com evidência de QTL, testes marginais para verificar o efeito desse QTL sob cada caráter foram empregados, considerando o fato que nessas posições a estatística segue uma distribuição aproximada de chi-quadrado com 2 graus de liberdade. Nas posições com QTL's identificados, foram realizados testes para distinguir efeitos de ligação e pleiotropia, seguindo o que foi apresentado por Jiang e Zeng (1995) e Knott e Halley (2000). Basicamente, foram ajustados modelos permitindo diferentes posições para os QTL's para cada caráter, sendo tais posições sugeridas pelo exame das curvas de mapeamento de cada caráter (análises marginais). Esse novo modelo foi comparado com o modelo de mapeamento original (pleiotrópico) com base no teste da razão de verossimilhança e, quando foi detectada significância, assumiu-se evidências de que existem QTL's ligados (e não apenas um único QTL com efeito pleiotrópico) naquela região. Essas análises foram feitas usando códigos próprios utilizando o programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2005) em ambiente GNU/Linux.

3.2.2 Resultados

3.2.2.1 Avaliações Fenotípicas

Todos os resíduos da análise de variância, para todos os caracteres avaliados, apresentaram uma distribuição aproximadamente normal, não foram observados dados discrepantes, houve homogeneidade de variâncias e, portanto, não foi necessário fazer transformação de dados. Sem transformação, os caracteres QUE e ACP apresentaram alto coeficiente de variação e estimativas não consistentes para o coeficiente de correlação genética.

Nesse caso, foi então empregada a transformação $\sqrt{x + 0,5}$. Para todos os caracteres, as análises de variâncias conjuntas mostraram significância para os efeitos de ambientes (A), progênies (P) e interação P x A, demonstrando existência de variabilidade genética para todos os caracteres, bem como forte presença de interação com o ambiente (Tabela 3.1). Como foram usadas as médias dos ambientes para realizar o mapeamento, espera-se que apenas os QTL's mais estáveis tenham sido mapeados. De modo geral, as estimativas dos CVs para todos os caracteres apresentaram boa precisão experimental, com exceção dos caracteres PG e PE (CV por volta de 30%, mas ainda dentro do aceitável para a experimentação agrícola). No caso dos caracteres QUE e ACP, que são de difícil avaliação, os valores foram bastante elevados (114,0% e 130,1%, respectivamente). Com a transformação de dados, esses valores reduziram-se para 61,4% e 65,4%. No entanto, como as pressuposições do modelo não foram violadas e o resultado do mapeamento pouco diferiu com a transformação (curvas de *LOD* com aproximadamente mesmo comportamento), optou-se por manter esses caracteres na unidade original. Com relação aos coeficientes de herdabilidade, foram observados valores altos, variando de 91,0% (NFI) a 70,5% (PROL); médios (variando de 67,5% para AE e 56,2% para NRP) e baixos, que variaram de 30,2% (PR) a 12,3% (QUE). Notou-se com isso que foi possível controlar os efeitos ambientais para os caracteres associados à produção (especialmente PG, PE e PROL), o que não ocorreu para os caracteres relacionados ao acamamento e quebramento (ACP e QUE), que são de difícil avaliação e tiveram os maiores CV's.

Tabela 3.1 - Valores dos quadrados médios (QM) das análises de variâncias conjuntas, coeficiente de variação experimental (CV), médias e coeficientes de herdabilidade (h_p^2 , nível de médias) com seus respectivos intervalos de confiança a 95%, para todos os caracteres avaliados

Caracteres	QM ^a			CV (%) ^b	Médias ^b	$\hat{h}_P^2$ ^b
	Ambientes (A)	Progênes (P)	A x P			
PG	11,48	0,42	0,13	23,4	3,4	69,0 (63,8;73,5)
PE	58,03	2,17	0,70	23,6	4,5	67,7 (62,7;74,9)
PROL	1,82	0,17	0,05	14,2	1,1	70,5 (65,6;74,8)
NE	9,40	0,66	0,19	14,6	20,1	70,6 (65,7;74,9)
NRP	2,80	0,24	0,10	12,8	15,0	56,2 (48,2;63,2)
REND	2,03	0,04	0,02	4,2	0,2	28,5 (16,7;39,0)
AP	22,62	0,07	0,02	5,7	171,7	66,3 (60,5;71,4)
AE	68,17	0,33	0,11	8,0	85,6	67,5 (61,9;72,4)
CE	19,45	0,44	0,09	5,3	13,8	80,0 (76,5;82,9)
DE	7,58	0,24	0,04	4,3	3,8	83,6 (80,8;86,1)
NFI	2,93	0,70	0,06	6,1	11,3	91,0 (89,5;92,4)
NGFI	3,44	0,34	0,08	8,1	28,6	75,8 (71,6;79,4)
NFO	19,39	0,50	0,20	3,0	5,9	58,5 (50,9;65,1)
PR	8,91	0,24	0,17	6,4	0,5	30,2 (18,3;40,8)
QUE	23,07	0,86	0,75	114,0	5,3	12,3 (-2,7;25,6)
ACP	3,90	0,10	0,08	130,1	5,0	17,4 (3,3;30,0)

^a Quadrados Médios para os 16 caracteres avaliados (PG=produção de grãos em Mg hectare⁻¹; PE=peso da espiga planta⁻¹ em Mg hectare⁻¹; PROL=prolificidade; NE=número de espigas planta⁻¹; NRP=número de ramificações do pendão; REND=rendimento (%); AP=altura de planta (cm); AE=altura de espiga (cm); CE=comprimento da espiga (cm); DE=diâmetro da espiga (cm); NFI=número de fileiras de grãos na espiga; NGFI=número de grãos por fileira na espiga; NFO=número de folhas acima da primeira espiga; PR=posição relativa da espiga; QUE=quebramento (%) e ACP=acamamento (%)). Os quadrados médios de PG, CE e NFI estão multiplicados por 10⁻¹; NE, NGFI e NRP por 10⁻²; REND e QUE por 10⁻²; AP por 10⁻⁴; PE e AE por 10⁻³; PR por 10⁻². Os graus de liberdade (GL) para as análises de 4 Ambientes dos caracteres AP, AE, CE, DE, NFI, NGFI, PR, QUE e ACP foram 12, 396 e 1188 para (A), (P) e AxP, respectivamente. Para os caracteres PG, PE, PROLIF, NE e REND, avaliados em 5 Ambientes, os GLs são 16, 396 e 1584, para (A), (P) e AxP, respectivamente. Os caracteres avaliados em 3 ambientes foram NRP e NFO, cujos GLs são 8, 396 e 792, para (A), (P) e AxP, respectivamente. Todos os QM's são significativos à 1% de probabilidade pelo teste F.

^b As médias, o CV e o coeficiente de herdabilidade não foram multiplicados por nenhuma potência de 10.

3.2.2.2 Correlações entre Caracteres

Os valores das correlações genéticas e fenotípicas foram semelhantes entre si (Tabela 3.2), apresentando correlação de *rank* 0,90. Dada essa semelhança e também porque o mapeamento foi feito com base nas médias fenotípicas entre os ambientes, serão discutidos aqui apenas os resultados das correlações fenotípicas. As correlações fenotípicas variaram de muito baixas (próximas de zero), a muito altas, tendo o maior valor entre os caracteres PG e PE (0,91). Com relação à produção de grãos (PG), que é o caráter mais importante, foram observadas correlações altas entre PG e os caracteres), PE (0,91), PROL (0,88), NE (0,77), NRP (-0,80), AP (0,72) e AE (0,71). Entre os caracteres DE e NFI, e CE e NGFI foram observadas correlações de médias a altas (0,55 e 0,54, respectivamente). Os demais caracteres, REND, ACP, QUE, PR e NFO, apresentaram pouca ou nenhuma correlação entre si e com os demais caracteres anteriormente citados. A ampla variação dos valores da correlação é muito interessante, pois permite estudar vários tipos de associações, o que é objeto de estudo do presente trabalho.

Com base no dendrograma construído a partir da matriz de correlações fenotípicas, notou-se clara tendência para agrupamento dos caracteres NRP, AE, AP, NE, PROL, PE e PG (Figura 3.1), que são os mais correlacionados entre si. A média dos valores absolutos das correlações entre tais caracteres foi de 0,75. No caso dos demais caracteres, percebem-se dificuldades para definir algum ponto de corte no dendrograma e determinar os grupos formados. Nesses casos, optou-se por aliar informações do número de cofatores para a análise de mapeamento usando o mCIM e os caracteres a serem agrupados, com o intuito de evitar a obtenção de grupos muitos grandes, o que implicaria em modelos com número elevado de cofatores, já que para caracteres com baixa correlação os cofatores selecionados tendem a ser diferentes. Com isso, buscou-se evitar a superparametrização dos modelos mCIM. Assim, optou-se por usar como ponto de corte arbitrário o valor de distância 0,7 no dendrograma. Isso resultou no final em 3 grupos de caracteres: GI, contendo sete caracteres e 46 cofatores no total (PG, PE, PROLIF, NE, NRP, AP e AE); GII com dois caracteres e 27 cofatores (CE e NGFI); GIII com dois caracteres e 27 cofatores (DE e NFI). Os caracteres REND, NFO, PR, QUE e ACP não se agruparam e foram analisados individualmente usando o CIM, conforme descrito anteriormente. Com os grupos formados foi possível investigar a natureza das correlações, identificando QTL's que possuam

efeitos pleiotrópicos ou de ligação e que afetam a expressão dos vários caracteres simultaneamente.

Tabela 3.2 - Valores dos coeficientes de correlação fenotípica (abaixo da diagonal) e genética (acima da diagonal) relativo a todos os caracteres avaliados

Caráter^a	PG	PE	PROL	NE	NRP	REND	AP	AE	CE	DE	NFI	NGFI	NFO	PR	QUE	ACP
PG	1,00	0,92	0,90	0,79	-0,89	0,72	0,77	0,81	0,26	0,43	0,05	0,51	-0,05	0,68	0,62	0,82
PE	0,91	1,00	0,89	0,90	-0,86	0,70	0,91	0,88	0,29	0,43	0,04	0,53	-0,04	0,66	0,63	0,87
PROL	0,88	0,87	1,00	0,44	-0,98	0,70	0,25	0,54	0,27	0,39	0,00	0,52	-0,06	0,67	0,57	0,85
NE	0,77	0,88	0,45	1,00	-0,93	0,72	0,91	0,88	0,29	0,39	0,00	0,56	-0,06	0,67	0,55	0,75
NRP	-0,80	-0,77	-0,85	-0,82	1,00	-0,84	-0,85	-0,85	-0,25	-0,34	0,06	-0,49	0,11	-0,73	-0,19	-0,76
REND	0,43	0,34	0,37	-0,37	-0,36	1,00	0,66	0,68	-0,09	0,32	0,11	0,31	-0,06	0,67	0,22	-0,36
AP	0,72	0,84	0,31	0,83	-0,75	0,33	1,00	0,89	0,31	0,41	0,04	0,54	-0,05	0,71	0,61	0,92
AE	0,71	0,77	0,48	0,77	-0,73	0,33	0,82	1,00	0,30	0,43	0,06	0,54	-0,10	0,81	0,62	0,82
CE	0,24	0,26	0,30	0,26	-0,21	0,00	0,28	0,27	1,00	-0,13	-0,14	0,53	0,04	0,23	0,28	0,31
DE	0,39	0,39	0,35	0,35	-0,30	0,18	0,37	0,38	-0,05	1,00	0,57	0,19	0,13	0,33	0,49	0,35
NFI	0,07	0,06	0,02	0,02	0,00	0,06	0,06	0,08	-0,12	0,55	1,00	0,04	-0,01	0,13	0,12	0,09
NGFI	0,43	0,44	0,43	0,46	-0,39	0,19	0,46	0,46	0,54	0,22	0,05	1,00	-0,05	0,49	0,38	0,35
NFO	0,01	0,02	0,01	0,02	0,03	-0,05	0,01	-0,04	0,02	0,09	0,00	-0,04	1,00	0,00	-0,48	-0,19
PR	0,34	0,33	0,34	0,34	-0,40	0,21	0,32	0,65	0,13	0,18	0,09	0,27	-0,04	1,00	0,56	0,41
QUE	0,26	0,27	0,24	0,23	-0,02	0,00	0,20	0,17	0,10	0,15	0,12	0,11	-0,07	0,04	1,00	0,01
ACP	0,37	0,39	0,39	0,34	-0,17	-0,07	0,32	0,27	0,12	0,14	0,05	0,12	0,04	0,05	0,04	1,00

^a Siglas: ver Tabela 3.1.

Figura 3.1 - Dendrograma mostrando o agrupamento de todos os caracteres avaliados (Legenda para os caracteres: ver Tabela 3.1)

3.2.2.3 QTL's mapeados usando CIM

Os valores críticos do *LOD* a 5% para os caracteres que não se agruparam no dendrograma foram: 3,47 para REND, 3,65 para NFO, 3,60 para PR, 4,33 para QUE e 9,36 para ACP. Dado que o mapeamento foi feito apenas para os QTL's estáveis, optou-se por usar um nível de significância de 10% para os caracteres REND, NFO e QUE, sendo que tais posições foram consideradas como sugestivas para a presença de QTL's. Nesse caso, os valores de *LOD* foram 3,22, 3,32 e 3,74, respectivamente. Para REND e QUE, dois QTL's com p-valores próximos à 10% foram incluídos na Tabela 3.3 apenas como “indicativos” de possíveis QTL's. Isso ocorreu porque tais caracteres exibem baixo valor do coeficiente de herdabilidade, sendo muito influenciados pela ação ambiental; conseqüentemente, há uma maior dificuldade em se mapear QTL's nestes casos. Além disso, o caráter QUE apresenta alto valor de CV, dificultando ainda mais a identificação de QTL's. O número de cofatores selecionados para esses caracteres foi de 11 para REND, 17 para NFO, 10 para PR, 5 para QUE, e 2 para ACP.

Dentro desses critérios, foram identificados 12 supostos QTL's responsáveis pela expressão dos caracteres REND, NFO, PR e QUE, não sendo constatadas regiões genômicas com concentração de QTL's (Tabela 3.3, Figura 3.3), o que explica a baixa correlação que os caracteres apresentam entre si (média dos valores absolutos das correlações com valor 0,07) e mostra que a estratégia de usar o CIM para cada um desses caracteres individualmente foi acertada. Para o caráter ACP não foi identificado nenhum QTL, o que pode ser explicado pelo fato de ser este um caráter de baixa herdabilidade (17,4%), sendo, portanto muito influenciado pelo ambiente e de difícil avaliação. Conforme exposto anteriormente, o número reduzido de QTL's mapeados ocorreu porque foram utilizadas nas análises as médias ajustadas dos ambientes, e como houve grande presença de interação entre progênies e ambientes, apenas os QTL's mais estáveis foram mapeados.

Para o caráter REND, três QTL's foram mapeados nos cromossomos 1 (*Rend1*), 6 (*Rend2*) e 8 (*Rend3*), que individualmente explicaram 3,8% a 5,1% valores da variância fenotípica (R^2), sendo que em conjunto, explicaram 12,2%. Destes, apenas o suposto QTL *Rend1*, não excedeu o limite crítico e apresentou p-valor 0,108. Os efeitos aditivos foram muito pequenos e variaram de -0,002 % a 0,003 %, e os de dominância variaram de -0,003% a 0%. Para

o caráter NFO foram identificados sete QTL distribuídos ao longo dos cromossomos 1 (*Nfo1* e *Nfo2*), 2 (*Nfo3*), 3 (*Nfo4*), 7 (*Nfo5* e *Nfo6*) e 8 (*Nfo7*). Os efeitos aditivos variaram de -0,137 a 0,185, sendo 2 alelos com efeitos positivos e concentrados na linhagem L-14-04B. Os efeitos de dominância (*d*) variaram de -0,087 a 0,056, com quatro QTL's apresentando efeitos negativos. Os valores de R^2 explicado por esses QTL's individualmente variaram de 3,3% a 15,5%, sendo que o QTL com maior efeito (*Nfo3*) explicou 15,5% da variância fenotípica. O QTL com maior efeito para NFO (*Nfo3*) apresenta alelos provenientes da linhagem L-14-04B. Apenas um QTL para o caráter PR, localizado no cromossomo cinco (*Pr1*), ultrapassou o limite crítico, sendo que seus efeitos aditivos e de dominância foram -0,006 e -0,004, respectivamente, e o valor de R^2 explicado por ele foi de apenas 4,7%, com alelos favoráveis provenientes da linhagem L-08-05F. Finalmente, para QUE, apenas um suposto QTL foi identificado, localizado no cromossomo nove (*Que1*), mas com p-valor igual a 0,177, o que implica em estudos adicionais para comprovar se esse é de fato um QTL ou apenas um falso positivo. O efeito aditivo de tal QTL foi -1,008% e o efeito e dominância foi -0,628%. Tal QTL explicou apenas 4,5% de R^2 .

Não houve regiões específicas de maior concentração de QTL's para um único caráter, resultado coincidente com diversos trabalhos relatados na literatura (BEAVIS et al., 1994; VELDBOOM; LEE, 1994; RIBAUT et al., 1997; VELDBOOM; LEE, 1996a, 1996b; AJMONE-MARSAN et al., 2001; SIBOV et al., 2003b; LIMA et al., 2006; TANG et al., 2007). Para o caráter NFO, outros autores identificaram QTL's no bin 1.06 (KOESTER; SISCO; STUBER, 1993; TANG et al., 2007) e no bin.6.02 (KOESTER; SISCO; STUBER 1993), e também em intervalo adjacente ao bin 8.03 (KOESTER; SISCO; STUBER 1993; TANG et al., 2007). BEAVIS et al. (1994) também não identificou QTL's para o caráter ACP.

Tabela 3.3 - QTL's mapeados com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d) usando modelo CIM para os caracteres REND, NFO, PR e QUE

Crom/ QTL	Intervalo / Bin ^b	Posição (cM)	LOD	Efeito Genético		R_f^2 ^c
				<i>a</i>	<i>d</i>	
REND (%) ^a						
1 / <i>Rend1</i> ^e	umc1035-bnlg0615 / 1.06	144,3	3,2	-0,002	0,000	3,8
6 / <i>Rend2</i>	umc1257-umc1887 / 6.02	52,1	4,0	0,000	-0,003	3,8
8 / <i>Rend3</i>	phi0115-bnlg1176 / 8.03	55,9	4,1	0,003	0,000	5,1
					R_T^2 ^d	12,2
NFO ^a						
1 / <i>Nfo1</i>	umc2025-umc1601 / 1.05	111,0	6,3	-0,100	-0,050	5,5
1 / <i>Nfo2</i>	umc1431-phi0120 / 1.10	192,3	4,6	-0,087	0,056	4,2
2 / <i>Nfo3</i>	umc1845-bnlg0166 / 2.03	50,9	11,7	0,185	0,004	15,5
3 / <i>Nfo4</i>	mmc0022-bnlg1798 / 3.05	93,0	7,6	-0,135	-0,087	10,2
7 / <i>Nfo5</i>	bnlg0434-dupssr13 / 7.03	75,7	3,6	-0,080	0,007	3,3
7 / <i>Nfo6</i>	umc1407-phi0116 / 7.05	139,5	10,0	0,125	-0,023	7,4
8 / <i>Nfo7</i>	bnlg1176-bnlg1607 / 8.05	73,7	5,1	-0,137	-0,011	6,8
					R_T^2	43,9
PR ^a						
5 / <i>Pr1</i>	bnlg1879-umc1056 / 5.03	53,0	4,6	-0,006	-0,004	4,7
					R_T^2	4,7
QUE (%) ^a						
9 / <i>Que1</i> ^f	bnlg0430-umc1107 / 9.03	19,2	3,4	-1,008	-0,628	4,5
					R_T^2	4,5

^a Siglas: ver Tabela 3.1.

^b Posição do Bin é designada pelo código X.Y, onde X é o grupo de ligação contendo o Bin e Y é a posição do Bin dentro do grupo de ligação (Gardner et al. 1993).

^c Coeficiente de determinação fenotípico.

^d Coeficiente de determinação total, obtidos com o ajuste de modelo uni (CIM) e multivariado (mCIM) com todos os QTL's simultaneamente. No caso do mCIM, o valor apresentado é a média do R^2 total obtido para cada caráter.

^e QTL mapeado com p-valor 0,108.

^f QTL mapeado com p-valor 0,177.

3.2.2.4 QTL's mapeados usando mCIM

Os valores de *threshold* (5%) para o *LOD* obtidos com base nas permutações foram: 10,39 para o grupo GI (caracteres PG, PROLIF, AP, AE, NE, NRP e PE), 4,96 para o grupo GII (caracteres CE e NGFI) e 5,07 para o grupo GIII (caracteres DE e NFI). Vale ressaltar que, para cada grupo, foram ajustados modelos contendo todos os caracteres e cofatores simultaneamente, sendo o mapeamento realizado em todas as posições buscando QTL's que tenha efeito significativo para pelo menos um dos caracteres (efeito pleiotrópico). Tal análise permitiu o mapeamento de 25 QTL's associados aos caracteres dos três grupos. Foram identificados apenas os QTL's supostamente estáveis entre os ambientes considerados.

GI: Foram mapeados cinco QTL's que controlam os sete caracteres simultaneamente (Tabela 3.4, Figuras 3.2 e 3.3). Tais QTL's estão localizados ao longo dos cromossomos 1 (*7Caract1* e *7Caract2*), 2 (*7Caract3*) e 7 (*7Caract4* e *7Caract5*). Foi considerado *threshold* com probabilidade 10%, dada a dificuldade em localizar QTL's em situação de elevada presença de interação progênes x ambientes, e assim sendo alguns dos QTL's mapeados são apenas sugestivos e investigações futuras são necessárias para comprovar sua real presença. Os QTL's *7Caract2* e *7Caract3*, não excederam o limite crítico, possuindo p-valor de 0,127 e 0,102, respectivamente. Os cinco QTL's mapeados explicaram apenas cerca de 12,7% da variação fenotípica total (Tabela 3.4), reiterando a dificuldade em se mapear QTL's na presença de elevada interação entre progênes e ambientes.

Com base no modelo de mapeamento, nota-se que sempre que um QTL é identificado conjuntamente, ele possui efeito em todos os caracteres considerados. Os caracteres mais importantes do grupo são PG e PE. No caso do caráter PG, os QTL's identificados apresentam efeitos aditivos variando de -0,262 Mg hectare⁻¹ a -0,051 Mg hectare⁻¹, com alelos provenientes da linhagem L-08-05F e efeitos dominantes variando de -0,155 Mg hectare⁻¹ a 0,334 Mg hectare⁻¹. Individualmente, os QTL's mapeados para PG, apresentaram valores de *R*² variando de menos de 0,01% a 3,61%, enquanto que o *R*² total foi de 12,7%. O caráter PE apresentou efeitos aditivos variando de -0,323 Mg hectare⁻¹ a -0,046 Mg hectare⁻¹, e efeitos dominantes variando de -0,211 Mg hectare⁻¹ a 0,401 Mg hectare⁻¹, com alelos oriundos da linhagem L-08-05F. Os valores de *R*² foram semelhantes aos observados para PG. Nenhum dos 5 QTL's mapeados teve

exclusivamente efeito pleiotrópico, sempre havendo também o fenômeno da ligação como causa da correlação.

Há concordâncias entre os QTL's aqui mapeados e alguns QTL's mapeados na literatura. Para fazer tal correspondência, considerou-se as posições dos bins cromossômicos, que devem ser, portanto apenas interpretadas como suspeitas de se tratar dos mesmos QTL's. Isso ocorre em funções de diferenças nas populações, número de indivíduos, tipo de marcador genético e método de mapeamento empregado, nos diferentes trabalhos realizados. Para o caráter PG, também foram mapeados QTL's por outros autores (BOHN et al., 1996; LIMA et al., 2006; SIBOV et al., 2003b). Para esse mesmo caráter, no bin 1.07, Tang et al. (2007) também identificaram QTL's. Outros autores, como Beavis et al. (1994), Ribaut et al. (1997), Melchinger et al. (1998), Lu, Romero-Severson e Bernardo (2003), Bento (2006) e Sabadin et al.¹ também identificaram QTL's no bin 2.03. Lima et al. (2006) também identificou um QTL no bin 7.02, e Beavis et al. (1994), Agrama e Moussa (1996) e Austin e Lee (1996) também relataram QTL's no bin 7.04 para PG. Para PE, Sabadin¹ et al. identificaram QTL's nos bins 2.03 e 7.04. Várias posições coincidentes também foram observadas para prolificidade (QTL relatado no bin 1.07 por VELDBOOM e LEE (1996a), no bin 2.03 por BENTO, (2006) e nos bins 2.03 e 7.04 por SABADIN et al.¹), altura de planta (QTL no bin 1.07 relatado por SCHÖN et al. (1994); e nos cromossomos 1 e 2 por SCHÖN et al., (1994), VELDBOOM, LEE e WOODMAN (1994), VELDBOOM e LEE (1996b), KHAIRALLAH et al. (1998), SIBOV et al. (2003b), LU, ROMERO-SEVERSON e BERNARDO (2003) e LIMA et al. (2006). Para altura de espiga, QTL's foram coincidentes com outros autores nos cromossomos 1 e 7 (VELDBOOM; LEE, 1996b; SIBOV et al., 2003b).

GII: Foram identificados um total de nove QTL's para esses caracteres (CE e NGFI), localizados ao longo dos cromossomos 1, 3, 5, 6 e 10 (Tabela 3.5, Figura 3.3). Desse total, dois QTL's são exclusivamente responsáveis pela expressão do caráter CE e foram mapeados nos cromossomos 5 (*Ce1*) e 6 (*Ce2*). Da mesma forma, outros dois QTL's foram mapeados exclusivamente para o caráter NGFI, nos cromossomos 1 (*Ngfi1*) e 10 (*Ngfi2*). Houve predomínio de ligação entre os QTL's que controlaram ambos os caracteres, havendo apenas um caso de pleiotropia no cromossomo 5 (Tabela 3.5). Os efeitos aditivos e de dominância, para o caráter CE, variaram, respectivamente, de -0,250 cm a 0,315 cm, e -0,186 cm a 0,225 cm, com alelos aumentando CE predominantemente presentes na linhagem L-08-05F. Para o caráter NGFI, os

efeitos aditivos variaram de -0,836 a 0,770, e os efeitos de dominância variando de -0,178 a 0,770, com a maior parte dos alelos para aumento de NGFI também presentes na linhagem L-08-05F. Cada QTL explicou pouco da variação fenotípica e o R^2 total foi de 13,9%.

Outros autores também identificaram QTL's em regiões próximas as aqui relatadas. Para o caráter CE, Veldboom e Lee (1996a) identificaram um QTL nos bins 5.03; Bento (2006) identificaram no bin 5.07; Veldboom, Lee e Woodman (1994) e Veldboom e Lee (1996a) identificaram no bin 6.05. Austin; Lee (1996) também identificaram QTL's em intervalos adjacentes aos bins 1.5 e 6.05. Para NGFI, Beavis et al. (1994) identificaram QTL's em intervalo adjacente ao bin 5.03. Outros autores também identificaram QTL's no cromossomo 1 (YAN et al. 2006).

GIII: Foram mapeados onze QTL's localizados em todos os cromossomos, exceto 6 e 9, para os caracteres DE e NFI (Tabela 3.5, Figura 3.3). Três QTL's, localizados nos cromossomos 3 (*De1*), 4 (*De2*) e 5 (*De3*) são responsáveis pela expressão apenas do caráter DE e outros três QTL's, apenas pelo caráter NFI (1 (*Nfi1*) e 2 (*Nfi2* e *Nfi3*)). Desses, apenas o QTL *De3*, foi considerado como “indicativo” da presença de um QTL, pois não excedeu o limite crítico, (p-valor de 0,101). Para o caráter DE os efeitos aditivos variaram de -0,270 cm a 0,100 cm, com maior parte dos alelos favoráveis proveniente da linhagem L-14-04B; os efeitos de dominância variaram de -0,040 cm a 0,049 cm. Já para o caráter NFI, os efeitos aditivos variaram de 0,201 a 0,586, e os de dominância de -0,084 a 0,203, também com alelos provenientes da linhagem L-14-04B. Os valores de R^2 explicados pelos QTL's individualmente, foram baixos, e o R^2 total foi de apenas 13,6%.

Alguns QTL's para o caráter DE também foram identificados por outros autores nos bins 4.06 (AUSTIN; LEE, 1996), 3.08 (BENTO, 2006), 5.03 (BENTO, 2006) e 10.04 (AUSTIN; LEE, 1996). Para NGFI, Bento (2006) também identificou QTL's nos bins 1.05 e 5.03. Outros autores mapearam QTL's nos mesmos cromossomos (YAN et al. 2006) que alguns QTL's mapeados no presente trabalho para NGFI.

Tabela 3.4 - QTL's mapeados com respectivos efeitos genéticos aditivos (*a*) e de dominância (*d*) usando o modelo mCIM para os caracteres PG, PE, PROL, NE, NRP, AP e AE

(continua)								
Crom/ QTL	Intervalo / Bin ^b	Análise ^a	Posição (cM)	LOD	Efeito			Ligação vs Pleiotropia
					<i>a</i>	<i>d</i>	<i>R</i> ² (%) ^e	
1 / 7 <i>Caract</i> 1	umc1601-bnlg1598 / 1.05	Conjunta	118,0	10,9				Há evidências (p-valor=1,64x10 ⁻⁶) de um QTL com efeitos pleiotrópicos para PG, PROL e AP, ligado com 4 QTL's responsáveis por PE, NRP, AE e NE.
		PG	102,4	3,0	-0,051	0,227	1,76	
		PE	99,4	3,0	-0,046	0,298	1,42	
		PROL	102,4	4,3	-0,015	0,054	1,32	
		NE	110,0	4,2	-0,331	1,024	1,17	
		NRP	106,0	2,5	0,208	-0,542	1,48	
		AP	102,4	2,3	-0,465	3,041	0,90	
		AE	109,0	3,1	-0,298	2,241	0,84	
1 / 7 <i>Caract</i> 2 ^c	bnlg0615-phi0037 / 1.07	Conjunta	147,4	9,6				Há evidências (p-valor= 1,45x10 ⁻⁵) de um QTL com efeitos pleiotrópicos para PG, PE, PROL, NE e AE, ligado com 2 QTL's responsáveis por AP e NRP.
		PG	147,4	3,6	-0,168	-0,016	<0,01	
		PE	147,4	3,1	-0,197	-0,033	<0,01	
		PROL	147,4	2,4	-0,027	-0,006	0,17	
		NE	147,4	2,4	-0,537	-0,090	0,23	
		NRP	152,4	6,0	0,715	-0,207	0,01	
		AP	149,4	5,2	-3,190	0,126	<0,01	
		AE	147,4	4,3	-1,742	-0,526	0,16	
2 / 7 <i>Caract</i> 3 ^d	umc1845-bnlg0166 / 2.03	Conjunta	54,9	9,8				Há evidências (p-valor=6,70x10 ⁻⁵) de um QTL com efeitos pleiotrópicos para AP, AE e NRP, ligado a outro QTL com efeitos pleiotrópicos para NE, PROL e PG, e um QTL com efeito apenas para PE.
		PG	59,9	7,1	-0,236	0,334	1,64	
		PE	61,9	7,0	-0,292	0,401	1,58	
		PROL	58,9	7,2	-0,053	0,060	1,46	
		NE	58,9	7,2	-1,024	1,206	1,50	
		NRP	51,9	6,6	0,933	-0,804	3,34	
		AP	54,9	4,7	-3,077	4,689	2,51	
		AE	53,9	5,0	-2,162	3,170	1,80	

Tabela 3.4 - QTL's mapeados com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d) usando o modelo mCIM para os caracteres PG, PE, PROL, NE, NRP, AP e AE

								(conclusão)
Crom/ QTL	Intervalo / Bin ^b	Análise ^a	Posição (cM)	LOD	Efeito			Ligação vs Pleiotropia
					a	d	R^2 (%) ^e	
7 / 7Caract4	bnlg1094-bnlg0434 / 7.04	Conjunta	41,2	12,5				
		PG	39,7	3,0	-0,054	0,229	0,71	Há evidências (p-valor=5,01x10 ⁻⁹) de um QTL com efeitos pleiotrópicos para PG, PE, PROL, NE e NRP, ligado a dois outros QTL's com efeitos sobre AP e AE.
		PE	39,7	3,1	-0,086	0,283	0,88	
		PROL	39,7	3,2	-0,011	0,048	0,68	
		NE	39,7	3,0	-0,211	0,898	0,67	
		NRP	39,7	3,3	-0,087	-0,768	0,80	
		AP	38,7	3,0	-1,540	2,974	0,73	
		AE	34,7	4,7	-1,864	1,589	0,26	
7 / 7Caract5	dupssr13-umc1154 / 7.04	Conjunta	119,2	11,5				
		PG	125,2	4,9	-0,262	-0,155	3,61	Há evidências (p-valor=1,56x10 ⁻⁸) de um QTL com efeitos pleiotrópicos sobre PROL, NE e AP, um QTL com efeitos pleiotrópicos sobre PG e PE, um QTL controlando NRP e um QTL controlando AE.
		PE	125,2	4,7	-0,323	-0,211	3,98	
		PROL	123,2	4,0	-0,050	-0,017	4,21	
		NE	123,2	3,8	-0,935	-0,422	4,17	
		NRP	124,2	4,3	0,750	0,121	2,72	
		AP	123,2	3,5	-3,135	-2,498	3,26	
		AE	118,2				2,89	
				3,4	-2,194	0,098		

^a Siglas: ver Tabela 3.1; ^b Posição do Bin é designada pelo código X.Y, onde X é o grupo de ligação contendo o Bin e Y é a posição do Bin dentro do grupo de ligação (Gardner et al. 1993); ^c QTL mapeado com p-valor 0,127; ^e QTL mapeado com p-valor 0,102; ^e QTL mapeado com p-valor 0,102; R^2 total= 12,7%: média dos R^2 conjuntos de cada caráter (12,7% para PG, 13,0% para PE, 12,5% para PROL, 12,17% para NE, 10,7% para NRP, 10,6% para AP e 10,1% para AE).

Figura 3.2 - Gráficos da distribuição dos valores do *LOD* indicando a localização de QTL's associados aos caracteres detectados pelo mCIM. Optou-se por apresentar o *LOD* do *threshold* apenas na posição com $LOD = 10,4$ à 5%. No eixo das distâncias, a linha pontilhada em cinza indica região com distância acima de 50 cM, os triângulos ($\blacktriangle$) indicam a posição das marcas e os triângulos invertidos indicam a posição dos QTL's mapeados. Foram representados apenas os cromossomos com pelo menos um QTL mapeado. Legenda para os caracteres: ver Tabela 3.1

Tabela 3.5 - QTL's mapeados com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d) usando o modelo mCIM em duas situações: com os caracteres CE e NGFI, e com os caracteres DE e NFI

(continua)								
Crom/ QTL	Intervalo / Bin ^b	Análise ^a	Posição (cM)	LOD	Efeito			Ligação vs Pleiotropia
					a	d	R^2 (%) ^d	
1 / <i>CeNgfi1</i>	umc1601-bnl1598 / 1.05	Conjunta	113,0	8,4				
		CE	112,0	3,6	-0,150	0,225	1,40	Evidência de ligação (p-valor=0,0036)
		NGFI	113,0	8,2	-0,780	0,770	4,30	
3 / <i>CeNgfi2</i>	bnlg1452-bnl0602 / 3.04	Conjunta	51,0	9,2				
		CE	51,0	2,5	-0,174	0,040	0,02	Evidência de ligação (p-valor=2,82x10 ⁻⁷)
		NGFI	36,8	2,3	0,429	0,592	0,63	
3 / <i>CeNgfi3</i>	umc1659-umc1320 / 3.07	Conjunta	148,1	7,3				
		CE	148,1	6,4	0,315	0,136	0,64	Evidência de ligação (p-valor=0,0028)
		NGFI	133,6	2,8	0,424	0,647	0,21	
5 / <i>CeNgfi4</i>	bnlg1879-umc1056 / 5.03	Conjunta	59,0	5,4				
		CE	62,0	2,3	-0,173	0,131	0,18	Evidência de ligação (p-valor=0,0079)
		NGFI	60,0	5,3	-0,768	0,419	0,37	
5 / <i>CeNgfi5</i>	bnlg1902-umc1221 / 5.03	Conjunta	93,3	5,7				
		CE	93,3	3,5	-0,250	0,015	5,90	Pleiotropia
		NGFI	93,3	5,2	-0,836	-0,178	0,24	
5 / <i>Ce1</i>	phi0128-umc1153 / 5.07	CE	176,2	1,6	-0,161	0,118	1,59	Efeito não significativo para NGFI
6 / <i>Ce2</i>	nc0013-umc1520 / 6.05	CE	125,0	5,1	0,283	-0,186	7,31	Efeito não significativo para NGFI
1 / <i>Ngfi1</i>	bnlg1083-umc1073 / 1.02	NGFI	56,1	6,5	0,770	0,270	6,23	Efeito não significativo para CE
10 / <i>Ngfi2</i>	bnlg1526-umc1930 / 10.04	NGFI	88,0	5,2	-0,609	0,605	4,28	Efeito não significativo para CE

Tabela 3.5 - QTL's mapeados com respectivos efeitos genéticos aditivos (a) e de dominância (d) usando o modelo mCIM em duas situações: com os caracteres CE e NGFI, e com os caracteres DE e NFI

(conclusão)								
Crom/ QTL	Intervalo / Bin ^b	Análise ^a	Posição (cM)	LOD	Efeito			Ligação vs Pleiotropia
					a	d	R^2 (%) ^d	
1 / <i>DeNfi1</i>	umc1601-bnl1598 / 1.05	Conjunta	106,0	11,9				
		DE	119,2	4,7	0,049	0,005	0,76	Evidência de ligação (p-valor=0,0012)
		NFI	108,0	11,4	0,393	0,021	2,74	
5 / <i>DeNfi2</i>	phi0128-umc1153 / 5.07	Conjunta	182,2	5,2				
		DE	180,2	4,9	0,063	-0,040	0,03	Evidência de ligação (p-valor=0,0085)
		NFI	189,2	2,4	0,203	-0,084	0,57	
7 / <i>DeNfi3</i>	bnlg1094-bnl0434 / 7.02	Conjunta	53,2	5,9				
		DE	58,2	1,4	0,022	0,049	2,15	Evidência de ligação (p-valor=1,75x10 ⁻⁶)
		NFI	52,2	5,5	0,351	0,203	0,52	
8 / <i>DeNfi4</i>	phi0115-bnl1176 / 8.03	Conjunta	53,9	13,7				
		DE	52,9	12,7	0,100	0,043	0,63	Não há evidência de ligação (p-valor=0,55), logo, pleiotropia
		NFI	56,9	6,8	0,396	0,012	<0,01	
10 / <i>DeNfi5</i>	bnlg1526-umc1930 / 10.04	Conjunta	70,0	16,9				
		DE	58,2	8,8	0,090	0,017	0,13	Evidência de ligação (p-valor=3,23x10 ⁻¹⁶)
		NFI	64,0	15,4	0,586	0,031	1,23	
3 / <i>De1</i>	umc1320-bnl1536 / 3.08	DE	157,1	4,4	-0,270	0,027	0,06	Efeito não significativo para NFI
4 / <i>De2</i>	bnlg0252-bnl2291 / 4.06	DE	82,8	2,7	-0,053	0,008	2,10	Efeito não significativo para NFI
5 / <i>De3</i> ^c	umc1056-bnl1902 / 5.03	DE	76,1	6,4	0,064	-0,012	7,16	Efeito não significativo para NFI
1 / <i>Nfi1</i>	umc1021-bnl2238 / 1.03	NFI	63,3	8,6	0,364	0,009	7,71	Efeito não significativo para DE
2 / <i>Nfi2</i>	bnlg0125-umc1845 / 2.02	NFI	32,2	15,4	0,511	0,146	12,64	Efeito não significativo para DE
2 / <i>Nfi3</i>	umc1560-umc1633 / 2.07	NFI	184,4	2,3	0,201	0,045	0,93	Efeito não significativo para DE

^a Siglas: ver Tabela 3.1; ^b Posição do Bin é designada pelo código X.Y, onde X é o grupo de ligação contendo o Bin e Y é a posição do Bin dentro do grupo de ligação (Gardner et al. 1993); ^c QTL mapeado com p-valor 0,101; ^d R^2 total=13,9% (CE e NGFI) e média dos R^2 conjuntos de cada caráter (13,9% para CE e 12,8% para NGFI); R^2 total=13,6% (DE e NFI): média dos R^2 conjuntos de cada caráter (13,6% para DE e 15,4% para NFI).

Figura 3.3 - Gráficos mostrando a localização de todos os QTL's mapeados no presente trabalho (ver Tabelas 3.3, 3.4 e 3.5 para detalhes e nomenclatura). No eixo das distâncias, a linha pontilhada em cinza indica região com distância acima de 50 cM (não considerada nas análises) e os triângulos (▲) indicam a posição das marcas. Triângulos invertidos indicam a posição dos QTL's mapeados. Legenda para os caracteres: ver Tabela 3.1

3.2.3 Discussão

No presente trabalho, foram mapeados QTL's para diversos caracteres de importância econômica e agrônômica. Optou-se por realizar o mapeamento considerando as correlações entre tais caracteres, realizando-se o mapeamento univariado para os caracteres com baixa correlação, e modelos multivariados para os caracteres relacionados entre si. Com isso, foi possível considerar esse complexo cenário e fazer inferências a respeito das causas genéticas das correlações observadas, evitando super-parametrizações dos modelos (muitos cofatores) ou reduzido controle da variação fora do intervalo considerado para o mapeamento (poucos cofatores).

Um dos grandes desafios para mapear QTL's em ambientes tropicais é encontrar formas de lidar com elevada presença de interação entre genótipos e ambientes. No presente caso, isso levou ao mapeamento de reduzido número de QTL's, usando modelos CIM ou mCIM, e foi necessário fixar níveis de significância com valores diferentes do usualmente empregados (10%). Ainda assim, alguns QTL's não ultrapassaram o limiar, mas foram incluídos nos resultados apenas como indicativos, necessitando estudos mais elaborados para verificar se são ou não falsos positivos. No entanto, segundo Doerge², é pertinente mencionar que o método usado para determinar o limiar foi baseado em permutações, que geralmente fornece a valores conservativos (informação verbal). Dessa maneira, esses procedimentos adotados no presente trabalho possivelmente foram acertados para controle do erro tipo I.

O mapeamento foi feito com base nas médias ajustadas dos cinco ambientes. Segundo Veldboom e Lee (1996a) e Austin e Lee (1998), a utilização das médias dos ambientes é muito eficiente, pois permite a identificação apenas dos QTL's mais estáveis, que possivelmente são os de maior interesse nos programas de melhoramento genético. Por outro lado, em situações de elevada interação, isso implica em redução do número de QTL's identificados, como parece ser o que ocorreu no presente estudo. Notou-se ainda que os QTL's (individualmente e no conjunto) explicaram pouco da variação fenotípica, o que está de acordo com essa situação descrita.

Com relação à base genética das correlações, os 12 QTL's mapeados para os caracteres pouco correlacionados entre si e com os demais (REND, NFO, PR, QUE e ACP) localizaram-se de forma dispersa ao longo dos cromossomos, não havendo nenhum padrão de concentração dos

² DOERGE, R. W. North Caroline State University, 2005.

mesmos, que geralmente também não estão próximos dos QTL's mapeados para os outros caracteres (Figura 3.3). Isso indica que a seleção para esses caracteres pode ser feita de forma independente dos demais, não havendo risco de respostas correlacionadas desfavoráveis em outros caracteres. No caso de se desejar efetuar programas de seleção assistida por marcadores para os caracteres relacionados ao acamamento e quebramento, nota-se claramente que as avaliações fenotípicas devem ser realizadas em condições bem planejadas, havendo inclusive o risco de não localizar nenhum QTL.

Com relação aos caracteres altamente correlacionados entre si e com produção de grãos (PG, PE, PROLIF, NE, NRP, AP e AE), notou-se claras evidências de que os QTL's que os controlam ou são pleiotrópicos ou localizam-se em regiões muito próximas no genoma. Sempre que um QTL foi identificado para um desses caracteres, houve presença de QTL's controlando todos os demais (Tabela 3.4). Isso ressalta a importância de estudos desse tipo, uma vez que para realizar seleção assistida, isso deve ser considerado. Dentro desse grupo de caracteres, NRP apresenta correlação negativa com os demais, o que fica comprovado observando-se os valores dos efeitos aditivos dos QTL's: para todos os QTL's (exceto o do cromossomo 7), sempre o sinal dos efeitos aditivos para NRP é o oposto dos demais. Com relação as causas das correlações, foram encontrados vários casos de ligação e de pleiotropia mudando de acordo com o QTL. Por exemplo, o QTL *7Caract1* tem ação pleiotrópica sobre PG e AP, o que não pode ser mudado com seleção. No entanto, caso se deseje elevar PG e reduzir AP (como usualmente é feito nos programas de melhoramento), é possível considerar na seleção a combinação dos alelos dos QTL's ligados que estão nas regiões *7Caract2*, *7Caract3*, *7Caract4* e *7Caract5*, procurando indivíduos recombinantes na população segregante que contenham alelos com sinais opostos (elevando PG e reduzindo AP). No caso do melhoramento ser feito apenas com base em avaliações fenotípicas, como ocorre usualmente, é impossível ter esse tipo de controle sobre o processo, ou seja, não é possível manipular os QTL's individualmente de forma a conseguir combinar os alelos desejáveis. No caso de PG e PROL, que sabidamente são altamente correlacionados (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988; MAITA; COORS, 1996; LEON; COORS, 2002), houve predomínio do fenômeno de pleiotropia e alelos com mesmo sinal, mostrando que de fato as práticas de realizar seleção para PROL com intuito de obter ganhos indiretos em PG é acertada. PROL e NE também mostraram predomínio de serem controlados por QTL's de efeitos pleiotrópicos.

No caso dos caracteres menos correlacionados com os demais e também entre si (DE e NFI; CE e NGFI), os resultados observados também foram consistentes. Alguns QTL's mapeados controlaram apenas um dos caracteres individualmente, não tendo efeito sobre o outro (Tabela 3.5), e a maioria dos QTL's mapeados mostrou efeitos de ligação como causa das correlações. Isso indica que, caso desejado, é possível manipular esses QTL's com mais facilidade em programas de seleção assistida. Apesar da correlação desses caracteres com PG não ser tão elevada, é possível que o efeito acumulativo de se combinar alelos favoráveis em genótipos selecionados resulte em bons aumentos em PG ou em algum outro caractere de interesse.

É prática comum nos programas de melhoramento realizar seleção para vários caracteres simultaneamente, sendo que os caracteres correlacionados freqüentemente exibem QTL's comuns (EDWARDS et al. 1992; VELDBOOM et al. 1994; VELDBOOM; LEE, 1994). No entanto, relativamente poucos trabalhos têm sido relatados a respeito do mapeamento de QTL's multivariado usando o método mCIM proposto por Jiang e Zeng (1995) (HALL; BASTEN; WILLIS, 2006; KUMAR et al. 2007; LI et al. 2007). Ao permitir melhor entendimento das causas da correlação entre caracteres, esse tipo de estudo pode auxiliar na elaboração de programas de seleção assistida por marcadores. Possivelmente, tais informações podem ser combinadas na forma de índices de seleção que considerem não somente as correlações genéticas entre os caracteres, mas também as causas das mesmas, dando ênfase nas quebras de ligação entre alelos dos QTL's ou na seleção de QTL's pleiotrópicos que tenham efeitos favoráveis sobre vários caracteres de interesse. Os resultados aqui apresentados contribuem para que isso possa ser implementado num futuro próximo.

Referências

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 b.

AJMONE-MARSAN, P.; MONFREDINI, G.; BRANDOLINI, A.; MELCHINGER, A. E.; GARAY, G.; MOTTO, M. Identification of QTL's for grain yield in an elit 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.; MONFREDINI, G.; LUDWIG, W. F.; MELCHINGER, A. E.; FRANCESCHINI, P.; PAGNOTTO, G.; MOTTO, M. In an elite cross of maize a major quantitative trait locus controls one-fourth of the genetic variation for grain yield. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 90, n. 3/4 p. 415-424, Mar. 1995.

AJMORE-MARSAN, P.; GORNI, C.; CHITTÒ, A.; REDAELLI, R.; VAN VIJK, 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 cofator analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 102, n. 2/3, p. 230-243, Feb. 2001.

AUSTIN, D. F.; LEE, M. Comparative mapping in $F_{2:3}$ and $F_{6:7}$ generations of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 92, n. 7, p. 817-826, May. 1996.

AUSTIN, D. F.; LEE, M. Detection of quantitative loci for grain yield and yield components in maize across generations in stress and nostress environments. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1296-1308, Sep/Oct. 1998.

BAKER, R. J. **Selection indices in plant breeding**. Boca Raton, CRC Press, 1986. 216p.

BASTEN, C. J.; WEIR, B. S.; ZENG, Z-B. **QTL Cartographer**: version 1.17. North Carolina State University, Raleigh, NC: Department of Statistics, 2003.

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, n. 4, p. 882-896, Jul./Aug. 1994.

BENTO, D. A. V. **Mapeamento de QTLs para produção e seus componentes em uma população de milho tropical**. 2006. 133 p. Tese (doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

BERKE, T. G.; ROCHERFORD, T. R. Quantitative trait loci for flowering, plant and ear height, and kernel traits in maize. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 6, p. 1542-1549, Nov./Dec. 1995.

BERKE, T. G.; ROCHERFORD, T. R. Quantitative trait loci for tassel traits in maize. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 5, p. 1439-1443, Sep./Oct. 1999.

BOHN, M.; KHAIRALLAH, M. M.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, D.; HOISINGTON, D. A.; UTZ, H. F.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J. A.; MELCHINGER, A. E. QTLs mapping in tropical maize: I. Genomic regions affecting leaf feeding resistance to sugarcane borer and other traits. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 5, p. 1352-1361, Sept./Oct. 1996.

BOHN, M.; KHAIRALLAH, M. M.; JIANG, C.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, D.; HOISINGTON, D. A.; UTZ, H. F.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J.; MELCHINGER, A. E. QTL mapping in tropical maize: II. Comparison of genomic regions for resistance to *Diatraea* spp. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 6, p. 1892-1902, Nov./Dec. 1997.

BURDICK, R. K.; GRAYBILL, F. A. **Confidence intervals on variance components**. New York: Marcel Dekker, 1992. v. 127, 211p.

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

CHURCHILL, G. A.; DOERGE, R. W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. **Genetics**, Austin, v. 138, n. 3, p. 963-971, Nov. 1994.

EAVES, L. J.; NEALE, M. C.; MAES, H. Multivariate multipoint linkage analysis of quantitative trait loci. **Behavior Genetics**, New York, v. 26, n. 5, p. 519–525, 1996.

EDWARDS, M. D.; HELENTJARIS, T.; WRIGHT, S.; STUBER, C. W. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 83, n. 6-7, p. 765-774, 1992.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to Quantitative Genetics**. 4 ed. London: Longman scientific e Technical, 1996. 464p.

FROVA, C.; KRAJEWSKI, P.; DI FONZO, N.; VILLA, M.; SARI-GORLA, M. Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers – I. Yield components. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 99, n. 2, p. 280-288, Feb. 1999.

GARDNER, J.; COE, E. H.; MELIA-HANCOCK, S.; HOISINGTON, D. A.; CHAO, S. Development of a core RFLP map in maize using an Immortalized-F2 population. **Genetics**, Austin, v. 134, n.3, 917-930, July. 1993.

GROHN, S.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, D.; KHAIRALLAH, M. M.; JIANG, C.; BERGVINSON, M.; BOHN, M.; HOISINGTON, D. A.; MELCHINGER, A. E. QTL mapping in tropical maize: III. Genomic regions for resistance to *Diatraea* spp. and associated traits in two RIL populations. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 4, p. 1062-1072, July/Aug. 1998.

HACKET, C. A.; MEYER, R. C.; THOMAS, W. T. B. Multi-trait QTL mapping in barley using multivariate regression. **Genetical Research**, London, v. 77, n. 1, p. 95-106, 2001.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA-FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468p.

JANSEN, R. C.; STAM, P. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. **Genetics**, Austin, v. 136, n. 4, p. 1447-1455, Apr. 1994.

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

JUGENHEIMER, R. W. **Corn improvement, seed production and uses**. New York: Wiley-Interscience, 1976. 670 p.

KEMPTHORNE, O. **An Introduction to Genetic Statistics**. New York: John Wiley, 1966. 545 p.

KHAIRALLAH, M. M.; BOHN, M.; JIANG, C.; DEUTSCH, J. A.; JEWELL, D. C.; MIHM, J. A.; MELCHINGER, A. E.; GONZÁLEZ-DE-LEÓN, 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.

KNAPP, S.J.; BRINDGES, W. C.; BIRKES, D. Mapping quantitative trait loci using molecular marker linkage maps. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 79, n. 3, p. 583-592, May. 1990.

KNOTT, S. A.; HALLEY, C. S. Multitrait least squares for quantitative trait loci detection. **Genetics**, Austin, v. 156, n. 2, p. 899-911, Oct. 2000.

KOESTER, R. P.; SISCO, P. H.; STUBER, C. W. Identification of quantitative trait loci controlling days to flowering and plant height in two near isogenic lines of maize. **Crop Science**, Madison, v. 33, n. 6, p. 1209-1216, 1993.

KOROL, A. B.; RONIN, Y. I.; NEVO, E.; HAYES, P. Enhanced efficiency of quantitative trait loci mapping analysis based on multivariate complexes of quantitative traits. **Genetics**, Austin, v. 157, n. 4, p. 1789-1803, Apr. 2001.

KOSAMBI, D. D. The estimation of map distance from recombination values. **Annal of Eugenics**, London, v. 12, p. 172-175, 1994.

HALL, M. C.; BASTEN, C. J.; WILLS, J. H. Pleiotropic quantitative trait loci contribute to population divergence in traits associated with life-history variation in *Mimullus guttatus*. **Genetics**, Austin, v. 172, n. 3, p. 1829-1844, Mar. 2006.

KUMAR, N.; KULWAL, P. L.; BALYAN, H. S.; GUPTA, P. K. QTL mapping for yield and yield contributing traits in two mapping populations of bread wheat. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 19, n. 2, p. 163-177, 2007.

LANDER, E. S.; GREEN, P.; ABRAHANSON, J.; BARLOW, A.; DALY, M. J.; LINCON, S. E.; NEWBURG, L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. **Genomics**, San Diego, v. 1, n. 2, p. 174-181, 1987.

LEON, N.; COORS, J. G. Twenty-four cycles of mass selection for prolificacy in the Golden Glow maize population. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 2, p. 325-333, Mar./Apr. 2002.

LI, Y.; DONG, Y.; NIU, S.; CUI, D. The genetic relationship among plant-height traits found using multiple-trait QTL mapping of a dent corn and popcorn cross. **Genome**, Ottawa, v. 50, n. 4, p. 357-364, 2007.

LIMA, M. L. A.; de SOUZA JÚNIOR, C. L.; BENTO, D. A. V.; SOUZA, A. P.; CARLINI-GARCIA, L. A. Mapping QTL for grain yield and plant traits in a tropical maize population. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 17, n. 3, p.: 227-239, 2006.

LU, H.; ROMERO-SEVERSON, J.; BERNARDO, R. Genetic basis of heterosis explored by simple sequence repeat markers in a random-mated maize population. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 3, p. 494-502, 2003.

MAITA, R.; CORRS, J. G. Twenty cycles of biparental mass selection for prolificacy in the open-pollinated maize population golden-Glow. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 6, p. 1527-1532, Nov./Dez. 1996.

MALOSETTI, M.; RIBAUT, J. M.; VARGAS, M.; CROSSA, M.; EEUWIJK, F. A. van. A multi-trait multi-environment QTL mixed model with an application to drought and nitrogen stress trials in maize (*Zea mays* L.). **Euphytica**, Wageningen, 2008. No prelo. Disponível em <<http://www.springerlink.com.w10077.dotlib.com.br/content/x421711368720685/?p=c799df6d069b45448dd8dbbad9386169&pi=0>>. Acesso em 10 jan. 2008.

MANGIN, B. P.; THOQUET, P.; GRIMSLEY, N. Pleiotropic QTL analysis. **Biometrics**, Washington, v. 54, n. 1, p. 88-99, 1998.

MANGOLIN, C. A.; de SOUZA JÚNIOR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; GARCIA, A. F.; SIBOV, S. T.; SOUZA, A. P. Mapping QTLs for kernel oil content in a tropical maize population. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 2, p. 251-259, 2004.

MELCHINGER, A. E.; UTZ, H.; SCHÖN, C. C. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent Population Samples in Maize Reveals Low Power of QTL Detection and Large Bias in Estimates of QTL Effects. **Genetics**, Austin, v. 149, n. 1, p. 383-343, May. 1998.

MIHALJEVIC, R.; SCHÖN, C. C.; UTZ, H. F.; MELCHINGER, A. E. Correlations and QTL correspondence between line per se and testcross performance for agronomic traits in four populations of european maize. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 1, p. 114-122, 2005.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R foundation for Statistical Computing. Vienna, 2005. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 09 jan. 2005.

RIBAUT, J. M.; JIANG, C.; GONZÁLEZ-DE-LÉON, D. Identification of quantitative trait loci under drought condition in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 6/7, p. 887-896, June. 1997.

RONIN, Y. I.; KIRZHNER, V. M.; KOROL, A. B. Linkage between loci of quantitative traits and marker loci: multi-trait analysis with a single marker. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 90, n. 6, p. 776-786, May. 1995.

SAS Institute. SAS/STAT user's guide v. 8.2. SAS Institute. Cary, N.C., 2001. 1028p.

SCHÖN, C. C.; MELCHINGER, A. E.; BOPPENMAIER, J.; BRUNKLAUS-JUNG, E.; HERRMANN, R. G.; SEITZER, J. F. RFLP mapping in maize: Quantitative trait loci affecting testcross performance of elite European flint lines. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 2, p. 378-389, Mar./Apr, 1994.

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

SIBOV, T. S.; de SOUZA, JÚNIOR, C. L.; GARCIA, A. A. F.; SILVA, A. R.; GARCIA, A. F.; MANGOLIM, C. A.; BENCHIMOL, L. L.; SOUZA, A. P. Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. **Hereditas**, Lund, v. 139, n. 2, p. 107-115, 2003 b.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical Taxonomy**: the principles and practice of numerical classification. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573 p.

STUBER, C. W.; EDWARDS, M. D.; WENDEL, J. F. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. II. Factors influencing yield and its component traits. **Crop Science**, Madison, v. 27, n. 4, p. 639-648, 1987.

TANG, J. H.; TENG, W. T.; YAN, J. B.; MA, X. Q.; MENG, Y. I.; DAI, J. I.; LI, J. S. Genetic dissection of plant height by molecular markers using a population using recombinant inbred lines in maize. **Euphytica**, Wageningen, v. 155, n. 1/2, p. 117-124, 2007.

VELDBOOM, L. R.; LEE, M. Molecular-marker-facilitated studies of orphological traits in maize. II. Determination of QTLs for grain yield and yield components. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 89, n. 4, p. 415-458, Oct. 1994.

VELDBOOM, L. R.; LEE, M. Genetic mapping of quantitative trait loci in maize in stress and nonstress environments: I. Grain yield and yield components. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 5, p. 1310-1319, Sep./Oct. 1996 a.

VELDBOOM, L. R.; LEE, M. Genetic mapping of quantitative trait loci in maize in stress and nonstress enviroments: II. Plant height and flowering. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 6, p. 1320-1327. 1996 b.

VELDBOOM, L. R.; LEE, M.; WOODMAN, W. L. Molecular marker-facilitated studies in an elite maize population: I. Linkage analysis and determination of QTL for morphological traits. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 88, n. 1, p. 7-16, Apr. 1994.

WANG, S.; BASTEN, C. J.; ZENG, Z-B. **Windows QTL Cartographer**: version 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC, 2005.

WELLER, J. I.; WIGGANS, G. R.; VANRADEN, P. M.; RON, M. Application of a canonical transformation to detection of quantitative trait loci with the aid of genetic markers in a multitrait experiment. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 92, n. 8, p. 998-1002, June. 1996.

YAN, J. B.; TANG, H.; HUANG, Y. Q.; ZHENG, Y. L.; LI, J. S. Quantitative trait loci mapping and epistatic analysis for grain yield and yield components using molecular markers with an elite maize hybrid. **Euphytica**, Wageningen, v. 149, n. 1, p. 121-131, 2006.

ZENG, Z. B. Theoretical basis of separation of multiple linked gene effects on mapping quantitative trait loci. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 90, p. 10972-10976, 1993.

ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Austin, v. 136, n. 4, p. 1457-1468, Apr. 1994.

ZHANG, Z. M.; ZHAO, M. J.; DING, H. P.; RONG, T. Z.; PAN, G. T. Quantitative Trait Loci Analysis of Plant Height and Ear Height in Maize (*Zea mays* L.). **Russian Journal of Genetics**, Moscow, v. 42, n. 3, p. 306–310, 2006.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesta pesquisa levaram as seguintes conclusões:

- 1) A utilização de modelos do tipo CIM (univariado) e mCIM (multivariado) possibilitou a identificação de QTL's associados a caracteres importantes (incluindo produção de grãos) numa população de milho tropical. Foram localizados QTL's em todos os cromossomos, resultados esses consistentes com os apresentados na literatura.
- 2) Em situações de elevada presença de interação entre genótipos e ambientes, como ocorre nos ambientes tropicais, o mapeamento de QTL's é bastante dificultado, e novas alternativas devem ser estudadas no futuro.
- 3) O uso do CIM para caracteres pouco correlacionados permitiu a identificação de QTL's importantes para o melhoramento, e os resultados foram consistentes com trabalhos anteriores realizados na mesma população.
- 4) A estratégia de agrupar caracteres correlacionados antes de empregar o mCIM permitiu um balanço entre número de parâmetros a serem estimados e controle da variação residual, evitando modelos superparametrizados.
- 5) O modelo mCIM, apesar de ser bastante complexo, permitiu identificar e testar hipóteses sobre ligação e pleiotropia entre QTL's, fornecendo informações muito úteis para o entendimento da base genética das correlações, o que pode ser usado no futuro para realizar seleção assistida por marcadores.