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

Epistasia em testecrosses de milho

Diego Velásquez Faleiro e Silva

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

**Piracicaba
2011**

Diego Velásquez Faleiro e Silva
Engenheiro Agrônomo

Epistasia em testecrosses de milho

Orientador:
Prof. Dr. **CLÁUDIO LOPES DE SOUZA JÚNIOR**

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

Piracicaba
2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Silva, Diego Velásquez Faleiro e
Epistasia em testecrosses de milho / Diego Velásquez Faleiro e Silva. - - Piracicaba,
2011.
88 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Cruzamento vegetal - Testes 2. Epistasia 3. Milho 4. Variação genética em plantas
I. Título

CDD 633.15
S586e

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

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Moacir Ferreira da Silva e Ana Maria Faleiro
e às minhas irmãs Letícia Mirelli e Tamara Maria.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida.

À Universidade de São Paulo e ao Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pelo suporte acadêmico.

Ao CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

Ao professor Dr. Cláudio Lopes de Souza Júnior pelo acolhimento, orientação, ensinamentos, amizade e paciência.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Genética pelos ensinamentos e amizades conquistadas ao longo do doutorado.

Ao Prof. Dr. José Branco de Miranda Filho pela amizade e ensinamentos.

Aos funcionários do laboratório de milho do Departamento de Genética, Juscelino, Almir, José e, em especial, ao “Seu Ari”, pela amizade e importantes contribuições nos experimentos.

Aos professores do curso de Genética e Melhoramento de Plantas do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA) pela minha formação inicial, em especial ao Prof. Dr. João Bosco dos Santos e ao Prof. Dr. Magno Antônio Patto Ramalho.

Aos meus pais, Moacir Ferreira da Silva e Ana Maria Faleiro, pela amizade verdadeira, cumplicidade, ensinamentos, amor, apoio e formação.

Às minhas irmãs Tamara Maria Faleiro e Silva e Letícia Mirelli Faleiro e Silva, pela amizade fraterna, pelo apoio, incentivo e ao meu cunhado Júnior pela amizade.

Aos amigos do laboratório de melhoramento de milho: Alexandre, Antônio, Dr. Mateus, Emiliano, Gustavo vulgo “Bastãozão”, Luciana, Manoel, Marcela, Melina, Pedro Belicuas, Pedro Mendoza, Roberto, Ruben Diaz, Sanzio, Thiago, Vítor, pela amizade, apoio e conhecimentos compartilhados.

A todos meus amigos da pós-graduação, em especial, Inocêncio vulgo “Pépe Moreno”, Falda, Marcelinho, Molinare, Gabriel, Marcelo, Maria Marta, Michelle, Fátima, Cristine.

Aos moradores e ex-moradores da república Lesma Lerda-PG, em especial ao Sanzio “Santos”, Dr. Mateus “Kiabo”, Jorge Portela, Endson “Baiano”, Guilherme Pereira, Rodrigo Marques, Luís “Luíse”, Ruben, Mateus, Thiago, Hugo e minha querida Dona Elza, pela amizade, alegrias compartilhadas e ensinamentos de vida.

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
Referências.....	17
2 EPISTASIA EM TESTECROSSES DE MILHO I: PRODUÇÃO DE GRÃOS, PROLIFICIDADE E TOMBAMENTO DE PLANTA.....	21
Resumo.....	21
Abstract.....	22
2.1 Introdução.....	22
2.2 Desenvolvimento.....	24
2.2.1 Material e Métodos.....	24
2.2.1.1 Material genético.....	24
2.2.1.2 Procedimento experimental.....	25
2.2.1.3 Análises de variância.....	26
2.2.1.4 Detecção da epistasia e interação epistasia x testador.....	29
2.2.2 Resultados e Discussão.....	31
2.2.2.1 Análises de variância e médias.....	31
2.2.2.2 Estimativas de parâmetros genéticos.....	34
2.2.2.3 Detecção da epistasia.....	35
2.2.2.4 Detecção da epistasia em plantas F_2	37
2.3 Considerações Finais.....	42
Referências.....	45
3 EPISTASIA EM TESTECROSSES DE MILHO II: CARACTERES DE FLORESCIMENTO E ESTATURA DA PLANTA.....	49
Resumo.....	49
Abstract.....	50
3.1 Introdução.....	50
3.2 Desenvolvimento.....	52
3.2.1 Material e Métodos.....	52

3.2.1.1 Material genético.....	52
3.2.1.2 Procedimento experimental.....	53
3.2.1.3 Análises de variância.....	53
3.2.1.4 Detecção da epistasia e interação epistasia x testador.....	55
3.2.2 Resultados e Discussão.....	57
3.2.2.1 Análises de variância e médias.....	57
3.2.2.2 Estimativas de parâmetros genéticos.....	61
3.2.2.3 Detecção da epistasia.....	64
3.2.2.4 Detecção da epistasia em plantas F_2	65
3.3 Considerações Finais.....	71
Referências.....	73
ANEXOS.....	77

RESUMO

Epistasia em testecrosses de milho

A epistasia já é conhecida desde o início dos estudos em genética, porém sua contribuição para as estimativas dos componentes da variância genética e para o melhoramento genético ainda não é bem entendida. A maioria dos modelos usados para estudar a herança dos caracteres quantitativos considera apenas os efeitos genéticos aditivos e de dominância, assumindo ausência da epistasia, mesmo que as análises não forneçam testes para tal suposição. Portanto, na sua presença, estimativas de variância aditiva e dominância, coeficientes de herdabilidade e respostas esperadas com a seleção estão viesadas. Os objetivos deste estudo foram: (i) verificar se a epistasia está presente na expressão de diversos caracteres em testecrosses; (ii) estimar os efeitos epistáticos em cada planta F_2 para estes caracteres; e (iii) verificar se a epistasia interage com ambientes e testadores. Uma população de 100 progênies $F_{2,3}$ foi obtida do cruzamento das linhagens endogâmicas L-08-05F e L-38-05D e foram retrocruzadas com as linhagens parentais e sua geração F_1 , conforme o delineamento *triple test cross*. As 300 progênies de retrocruzamento foram cruzadas com as linhagens testadoras L-02-03D e L-04-05F. Os testecrosses obtidos foram avaliados em dez ambientes no município de Piracicaba, SP, em delineamento α – látice no esquema fatorial com duas repetições por ambientes. Os caracteres avaliados foram produção de grãos, prolificidade, acamamento e quebramento de plantas, florescimento masculino e feminino, intervalo entre florescimentos, altura de planta e espiga e posição relativa da espiga. A presença de epistasia foi detectada para todos os caracteres nos testecrosses de ambos testadores, exceto para acamamento e quebramento de plantas em que a epistasia foi observada somente nos testecrosses provenientes do testador L-04-05F. Cada testador detectou efeitos epistáticos em diferentes grupos de plantas F_2 e estes não foram unidirecionais para todos os caracteres avaliados. A interação epistasia por testador foi significativa para todos os caracteres, enquanto que a interação epistasia x ambientes não foi observada para nenhum caráter em ambos testadores. A presença de desequilíbrio de ligação na população foi observada para todos os caracteres, exceto para acamamento e quebramento. As estimativas dos componentes de variância e dos coeficientes de herdabilidade diferiram significativamente de zero, com exceção dos parâmetros estimados para os testecrosses do testador L-04-05F para o caráter acamamento e quebramento. Os resultados sugerem que as estimativas da variância aditiva e dos coeficientes de herdabilidade para aqueles caracteres nos quais foi verificada a presença de epistasia estarão viesados, caso a epistasia seja desconsiderada. Além disso, a presença de desequilíbrio de ligação na população gera vieses adicionais nas estimativas desses parâmetros.

Palavras-chave: *Zea mays*; *Triple test cross*; Epistasia; Testecrosses

ABSTRACT

Epistasis in maize testcrosses

Epistasis has been known since the beginning of the genetics studies. However its contribution to genetic variance components and to plant breeding is not well understood. Most of the genetic models designed to study the inheritance of the quantitative traits consider the absence of epistasis although most of these analyses don't provide test for such assumption. Therefore in its presence estimates of additive and dominance variances, heritability coefficients and selection responses would be biased. The objectives of this study were: (i) to verify whether epistasis is significant to the expression of several traits in testcrosses; (ii) to estimate the epistatic effects in individual F_2 plants for these traits; and (iii) to verify whether epistasis interacts with environment and with testers. A population of 100 $F_{2,3}$ progenies from the cross of inbred lines L-08-05F and L-38-05D were backcrossed to the parental lines and their F_1 following the triple test cross design. The 300 backcrossed progenies were testcrossed to the inbred lines L-02-03D and L-04-05F. The 600 testcrosses were grown at ten environments in Piracicaba, SP, using the α -lattice design on a factorial scheme with two replications per environment. The traits recorded were grain yield, prolificacy, root and stalk lodging, days to anthesis, days to silk emergence, anthesis-silking interval, plant height, ear height and ear placement. Epistasis was detected for all traits in both testcrosses, but for root and stalk lodging epistasis was detected only in the testcrosses from L-04-05F tester. Each tester detected epistasis in different groups of F_2 plants, and the epistatic effects were not unidirectional for all traits. The epistasis by tester interaction was significant for all traits in both testers, but epistasis by environment interaction was not significant for all traits. Also linkage disequilibrium in the population was detected for all traits, except for root and stalk lodging. Estimates of variance components and heritability coefficients were all significant, except for testcrosses from L-04-05F tester for root and stalk lodging. The results suggested that the estimates of additive variance and heritability coefficients will be biased if the epistasis be unconsidered. Moreover the presences of linkage disequilibrium produce additional biases in the estimative theses parameters.

Keywords: *Zea mays*; Triple test cross; Epistasis; Testcrosses

1 INTRODUÇÃO

O termo epistasia foi proposto por Bateson em 1909 para descrever o efeito de alelos de um gene mascarando o efeito de alelos de outros que controlavam o formato da crista em galinha e, conseqüentemente, ocasionava distorções nas segregações mendelianas. Em 1918, Fisher demonstrou através de um modelo genético-estatístico que a epistasia era parte integrante da variância genética. Desde então, esse termo tem sido usado na genética quantitativa para descrever os desvios que ocorrem quando um modelo aditivo, contendo somente os efeitos aditivos e/ou de dominância, de dois ou mais genes não explicam um fenótipo observado, nesse caso, o efeito combinado desses genes sobre um fenótipo não poderia ser predito a partir da soma dos seus efeitos individuais (FALCONER; MACKAY, 1996). Posteriormente, Cockerham (1954), a partir de um modelo genético digênico, conseguiu decompor a epistasia em componentes epistáticos aditivo x aditivo, aditivo x dominante e dominante x dominante.

Apesar da epistasia já ser conhecida desde o início dos estudos em genética, discussões a respeito da sua importância para os processos evolutivos e para o melhoramento de plantas têm surgido de forma frequente, mas não conclusiva. Cheverud e Routman (1996) reportaram que a epistasia pode exercer importante efeito na dinâmica das populações e no processo evolutivo das espécies. O envolvimento da epistasia na base genética da evolução era parte central dos estudos de Wright (WRIGHT, 1932; WADE 1992). Além disso, estudos envolvendo modelos teóricos indicaram que em populações que sofreram efeito de “gargalo” ou subdivisão, a variância epistática pode ser convertida em variância genética aditiva a qual a seleção natural atua permitindo, assim, uma rápida adaptação dessa população a novos ambientes (GOODNIGHT, 1988; WADE, 1992). A presença da epistasia também tem sido relatada para diversos caracteres de importância agrônômica em várias culturas, entre elas, a do milho (WOLF; HALLAUER, 1997; ETA-NDU; OPENSHAW, 1999), soja (BARONA; COLOMBARI FILHO; GERALDI, 2009), feijão (JOHNSON; GEPTS, 2002), arroz (LI et al., 2001), tomate (CAUSSE et al., 2007), trigo (NANDA et al., 1989), entre outras.

Para Hallauer (2007), em caracteres quantitativos, é evidente que efeitos epistáticos ocorram em virtude do grande número de locos envolvidos. Segundo Melchinger et al. (2007), experimentos clássicos de genética quantitativa tem demonstrado que a epistasia desempenha um papel importante na herança desses caracteres. Causse et al. (2007) comenta que a presença da

epistasia pode ter importantes consequências nos programas de melhoramento genético em relação ao sucesso na detecção, introgressão e caracterização de genes. Alguns trabalhos também têm reportado o envolvimento da epistasia na manifestação de fenômenos biológicos importantes em plantas, como a sobredominância e a heterose (LI et al., 2001; MELCHINGER et al., 2007; GARCIA et al., 2008) e a depressão por endogamia (LI et al., 2001; KELLER; WALLER, 2002).

A maioria dos estudos de herança dos caracteres quantitativos considera apenas os efeitos genéticos aditivos e de dominância nos modelos genético-estatísticos, assumindo ausência da epistasia por essa ser considerada um fenômeno raro e de pouca importância, mesmo que as análises não forneçam teste válido para essa suposição (KEARSEY; JINKS, 1968). Stuber e Moll (1971) comentaram que, embora essa suposição possa ser razoável para algumas populações, é improvável a ausência de interações não alélicas em um sistema genético associado a um caráter quantitativo. Segundo esses autores o grau de importância atribuída aos efeitos epistáticos parece ser prejudicado pelo tipo de abordagem experimental e modelo utilizado.

Naciri-Graven e Goudet (2003) comentaram que um dos fatores que prejudicam a detecção da variância epistática dentro de uma população são as técnicas da análise de variância baseadas no método dos quadrados mínimos que busca maximizar os efeitos principais e minimizar os efeitos da interação, entre eles a epistasia. Outro motivo pelo qual a epistasia tem sido desconsiderada é a grande complexidade associada aos modelos quando os efeitos epistáticos são incluídos, elevando o grau de dificuldade nas análises genético-estatísticas. Dessa forma, a falta de capacidade de se estimar os componentes da variância genética epistática, não implica que os efeitos epistáticos são ausentes ou pouco importantes na herança dos caracteres quantitativos (HALLAUER, 2007).

A grande implicação da epistasia para os programas de melhoramento genético de plantas, é que na sua presença, as estimativas dos componentes de variância genética aditiva e de dominância são viesadas, caso a epistasia não seja considerada no modelo, resultando em imprecisões nas estimativas de parâmetros genéticos importantes, como grau médio de dominância, coeficientes de herdabilidade e respostas esperadas com a seleção (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999). Isso ocorre porque, na presença das interações epistáticas, não se tem ainda um delineamento genético que assegure que as estimativas dos componentes genéticos aditivo e de dominância não sejam influenciadas pela presença dessas interações (SOFI; RATHER; WARSI, 2007).

A presença da epistasia também tem sido considerada a razão pela contínua resposta à seleção observada em alguns caracteres em determinadas espécies, sendo a variância epistática do tipo aditiva x aditiva um dos mecanismos pelo qual o progresso com a seleção é mantido (RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997; DUDLEY, 2008).

Nos estudos de epistasia, algumas metodologias têm sido utilizadas para detectá-la. A metodologia proposta por Mather (1949) baseia-se na análise das médias de gerações e tem sido bastante utilizada. Porém, os efeitos genéticos aditivos, de dominância e epistáticos que compõem o modelo não são testados de forma independente, impedindo a interpretação individual de cada efeito (STUBER; MOLL, 1971). Outra limitação dessa abordagem, é que como a análise é realizada com base em médias, os efeitos gênicos podem estar presentes, mas atuando em sentidos opostos nos vários locos, de forma que o efeito final pode ser pequeno ou nulo, dando uma idéia errônea do que realmente ocorre em nível dos efeitos gênicos (RAMALHO; SANTOS; ZIMMERMANN, 1993). A metodologia proposta por Cockerham (1954) tem a vantagem de permitir testar de forma independente os efeitos genéticos do modelo. Entretanto, por se tratar de componentes de variância estes apresentam erros maiores que os componentes de médias. Além disso, esse método envolve uma abordagem genético-estatística mais complexa, o que tem restringido sua utilização. Recentemente, metodologias empregando marcadores moleculares e mapeamento de QTL tem permitido um melhor entendimento dos efeitos e das interações entre genes envolvidos no controle de caracteres complexos (KAO; ZENG; TEASDALE, 1999; DUDLEY, 2008). No entanto, um método que se destaca nos estudos da herança dos caracteres é o método *triple test cross* (TTC) desenvolvido por Kearsey e Jinks (1968). Por se tratar de uma análise altamente informativa esse método tem sido bastante utilizado para estudar a arquitetura genética dos caracteres em diversas culturas, sendo capaz de testar a presença da epistasia e, na sua ausência, fornecer estimativas não viesadas das variâncias aditivas e de dominância.

O TTC é uma extensão do delineamento III de Comstock e Robinson (1952) em que as progêies de retrocruzamento são obtidas pelo cruzamento de uma amostra aleatória de n plantas de uma população F_2 com três testadores L_1 , L_2 e L_3 , sendo os testadores L_1 e L_2 linhagens endogâmicas parentais da população F_2 e o testador L_3 o híbrido simples (F_1) produzido do cruzamento entre L_1 e L_2 . Portanto, desses cruzamentos são produzidos três grupos de

progênies, os quais são denominados como L_{1i} , L_{2i} e L_{3i} , em que L_{1i} representa o primeiro grupo de progênies obtidas do cruzamento entre L_1 e a i -ésima planta F_2 ; L_{2i} representa o segundo grupo de progênies obtidas do cruzamento entre L_2 e a i -ésima planta F_2 e L_{3i} representa o terceiro grupo de progênies obtidas do cruzamento entre L_3 e a i -ésima planta F_2 , com i variando de 1 a n plantas F_2 nos três grupos de cruzamentos. Dessa forma, o experimento será constituído por $3n$ progênies, sendo n o número de plantas F_2 .

A adição de um terceiro testador (L_3) é que diferencia e torna o delineamento TTC uma extensão do delineamento III. No entanto, o TTC apresenta algumas vantagens sobre o delineamento III. A primeira vantagem é a adição de um terceiro testador, permitindo que o método forneça um teste independente para epistasia devido à ortogonalidade existente entre os contrastes $C_1 = L_{1i} + L_{2i} - 2L_{3i}$, $C_2 = L_{1i} + L_{2i} + L_{3i}$ e $C_3 = L_{1i} - L_{2i}$, em que C_1 permite testar a presença de epistasia; C_2 permite testar e estimar a variância aditiva, no entanto, difere do delineamento III o qual usa somente as informações de L_{1i} e L_{2i} para estimar a variância aditiva; C_3 permite testar e estimar a variância de dominância e, ao contrário do contraste C_2 , é o mesmo usado no delineamento III para estimar a variância de dominância (JINKS; PERKINS, 1970). A segunda vantagem é a precisão em que a epistasia é testada, pois independe da frequência alélica, do número de locos, da endogamia e da ocorrência de desequilíbrio de ligação na população. Além disso, permite investigar qualquer população segregante ou não-segregante, pertencentes a diferentes gerações como F_2 , retrocruzamentos e linhagens homozigóticas, independente do sistema de reprodução dessas populações (KEARSEY; JINKS, 1968). Esses autores, quando propuseram o delineamento TTC, destacaram a importância de se utilizar linhagens parentais divergentes (L_1 e L_2), uma vez que a epistasia medida refere somente aos locos para os quais as duas linhagens testadoras diferem. A utilização de linhagens altamente divergentes para os caracteres em estudo permite maximizar o número de locos segregantes na população F_2 de forma que a amostragem desses locos seja a mais representativa possível, permitindo maior confiabilidade na identificação dos efeitos gênicos envolvidos na arquitetura genética dos caracteres que se desejam estudar em uma população.

Modificações do delineamento TTC de Kearsey e Jinks (1968) foram propostas (JINKS; PERKINS; BREESE, 1969; JINKS; PERKINS, 1970) e esse delineamento tem sido usado para

detectar epistasia em populações de plantas (WOLF; HALLAUER, 1997) e animais (GOODWILL; WALKER, 1978) baseadas apenas em dados de desempenho *per se*.

No entanto, no melhoramento de híbridos, linhagens endogâmicas são produzidas e selecionadas tanto por suas performances *per se* como pelo desempenho de seus híbridos, sendo a seleção de linhagens superiores baseada na sua capacidade geral e específica de combinação. Dessa forma, geralmente, essas linhagens são avaliadas em testecrosses, utilizando-se para tanto uma linhagem endogâmica como testadora, oriunda de outro grupo heterótico daquele do qual as linhagens, que serão avaliadas, foram obtidas. Assim, Eta-Ndu e Openshaw (1999) propuseram uma modificação do TTC de Kearsey e Jinks (1968) para utilizá-lo em testecrosses. Nessa modificação eles avaliaram, em vez das progênies *per se* obtidas dos três retrocruzamentos (L_{1i} , L_{2i} e L_{3i}), os testecrosses dessas progênies com dois testadores, sendo esses testadores linhagens endogâmicas divergentes. Eles demonstraram de forma detalhada que essa modificação do TTC utilizando testadores segue o mesmo princípio do TTC original proposto por Kearsey e Jinks (1968). O cruzamento das progênies provenientes do TTC com testadores fornece informações sobre a importância da epistasia no desempenho dos testecrosses, permitindo um melhor entendimento da herança dos caracteres quantitativos. Com isso, o presente estudo teve como objetivos: (i) verificar se a epistasia está presente na expressão de diversos caracteres em testecrosses; (ii) estimar os efeitos epistáticos em cada planta F_2 para estes caracteres; e (iii) verificar se a epistasia interage com ambientes e testadores.

Referências

- BARONA, M.A.A., COLOMBARI FILHO, J.M.; GERALDI, I.O. Epistasia para a produção de grãos em soja. **Bragantia**, Campinas, v.68, n.2, p.313-318, 2009.
- BATESON, W. **Mendel's principles of heredity**. Cambridge: Cambridge University Press, 1909. 396 p.
- CAUSSE, M.; CHAIB, J.; LECOMTE, L.; BURET, M.; HOSPITAL, F. Both additivity and epistasis control the genetic variation for fruit quality traits in tomato. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 115, p. 429–442, 2007.
- CHEVERUD, J.M.; ROUTMAN, E.J. Epistasis as a source of increased additive genetic variance at population bottlenecks. **Evolution**, Cambridge, v. 50, p. 1042-1051, 1996.

COCKERHAM, C.C. An extension of the concept of partitioning hereditary variance for analysis of covariance among relatives when epistasis is present. **Genetics**, Austin, v. 39, p. 859-882, 1954.

COMSTOCK, R.E.; ROBINSON, H.F. Estimation of average dominance of genes. **Heterosis**, Iowa, p. 494-512, 1952.

DUDLEY, J.W. Epistatic interactions in crosses of illinois high oil x illinois low oil and of illinois high Protein x illinois low protein corn strains. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 59-68, 2008.

ETA-NDU, J.T.; S.J. OPENSHAW. Epistasis for grain yield in two F_2 populations of maize. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 346-352, 1999.

FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F. **Introduction to quantitative genetics**. 4th ed. London: Longman Scientific and Technical, 1996. 464 p.

FISHER, R.A. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. **Transactions of the Royal Society of Edinburgh**, Edinburgh, v. 52, p. 399-433, 1918.

GARCIA A.A.F.; WANG, S.; MELCHINGER, A.E.; ZENG, Z.B. Quantitative trait loci mapping and the genetic basis of heterosis in maize and rice. **Genetics**, Austin, v. 180, p. 1707-1724, 2008.

GOODNIGHT, C. Epistasis and the effect of founder events on the additive genetic variance. **Evolution**, Cambridge, v. 42, p. 441-454, 1988.

GOODWILL, R.E.; WALKER, R.D. Epistatic contributions to quantitative traits in *Tribolium castaneum*. I. Traits not closely related to fitness. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 51, p. 193-198, 1978.

HALLAUER, A.R. History, contribution, and future of quantitative genetics in plant breeding: lessons from maize. **Crop Science**, Madison, v.47, p. 4-19, 2007.

JINKS, J.L.; PERKINS, J.M. A general method for the detection of additive, dominance and epistatic components of variation: III. F_2 and backcross populations. **Heredity**, London, v. 25, p. 419-429, 1970.

JINKS, J. L.; PERKINS, J. M.; BREESE, E. L. A general method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits: II. Application to inbred lines. **Heredity**, London, v. 24, p. 45-57, 1969.

JOHNSON, W.C.; P. GEPTS. The role of epistasis in controlling seed yield and other agronomic traits in an Andean x Mesoamerican cross of common bean (*Phaseolus vulgaris* L). **Euphytica**, Wageningen, v. 125, p. 69-79, 2002.

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

KEARSEY, M. J.; JINKS, J. L. A general method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits. I. Theory. **Heredity**, London, v. 23, p. 403- 409, 1968.

KELLER, L.F.; WALLER, D.M. Inbreeding effects in wild populations. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v.17, p.230-241, 2002.

LI, Z.K., LUO, L.J.; MEI, H.W.; WANG, D.L.; SHU, Q.Y.; TABIEN, R.; ZHONG, D.B.; YING, C.S.; STANSEL, J.W.; KHUSH, G.S.; PATERSON, A.H. Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice. I. Biomass and grain yield. **Genetics**, Austin, v. 158, p.1737–1753, 2001.

MATHER, K. **Biometrical Genetics**: the study of continuous variation. London: Dour Publications, 1949. 162 p.

MELCHINGER, A.E.; UTZ, H.F.; PIEPHO, H.P.; ZENG, Z.B.; SCHÖN, C.C. The role of epistasis in the manifestation of heterosis: a systems-oriented approach. **Genetics**, Austin, v. 177, p. 1815–1825, 2007.

NACIRI-GRAVEN, Y.; GOUDET, J. The additive genetic variance after bottlenecks is affected by the number of loci involved in epistatic interactions. **Evolution**, Cambridge, v. 57, p. 706–716, 2003.

NANDA, G. S.; SINGH, G.; CHAND, K. Detection of components of genetic variation and prediction of the frequencies of transgressive in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Genetics & Breeding**, Roma, v. 44, p. 63-66, 1989.

RAMALHO, M.A.; SANTOS, J.; ZIMMERMANN, M. **Genética quantitativa em plantas autógamas**: aplicações ao melhoramento do feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RASMUSSEN, D.C.; PHILLIPS R.L. Plant breeding progress and genetic diversity from de nova variation and elevated epistasis. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 303-310, 1997.

SOFI, P.A.; RATHER, A.G.; WARSI, M.Z.K. Implications of epistasis in maize breeding. **International Journal of Plant Breeding and Genetics**, New York, v. 1, p. 1-11, 2007.

STUBER, C.W.; MOLL, R.H. Epistasis in maize (*Zea mays* L.). II: Comparison of selected with unselected populations. **Genetics**, Austin, v. 67, p. 137–149, 1971.

WADE, M. J. Sewall Wright: gene interaction and the shifting balance theory. **Oxford Surveys in Evolutionary Biology**, Oxford, v. 8, p. 33-62, 1992.

WOLF, P.; HALLAUER, A.R. Triple testcross analysis to detect epistasis in maize. **Crop Science**, Madison, v.37, p.763-770, 1997.

WRIGHT, S. The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding, and selection in evolution. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF GENETICS, 6, 1932, New York. **Proceedings...** New York, Genetics Society of America, 1932. p. 356-366.

2 EPISTASIA EM TESTECROSSES DE MILHO I: PRODUÇÃO DE GRÃOS, PROLIFICIDADE E TOMBAMENTO DE PLANTA

Resumo

A contribuição da epistasia para as estimativas dos componentes da variância genética e para o melhoramento genético ainda não é bem entendida. Os objetivos deste estudo foram: (i) verificar se a epistasia é um componente genético importante na herança dos caracteres produção de grãos, prolificidade e acamamento e quebramento de plantas; e (ii) verificar se a epistasia interage com ambientes e testadores. A partir do delineamento *triple test cross*, uma população de 100 progênies $F_{2:3}$ obtida do cruzamento das linhagens endogâmicas L-08-05F e L-38-05D foram retrocruzadas com as linhagens parentais e sua geração F_1 . As 300 progênies de retrocruzamento foram cruzadas com as linhagens testadoras L-02-03D e L-04-05F. Os testecrosses obtidos foram avaliados em dez ambientes no município de Piracicaba, SP, em delineamento α -látice no esquema fatorial com duas repetições por ambiente. Os caracteres avaliados foram produção de grãos (PG), prolificidade (PROL) e acamamento e quebramento de plantas (ACQ). A presença de epistasia foi detectada para PG e PROL nos testecrosses de ambos testadores e para ACQ somente nos testecrosses provenientes do testador L-04-05F. Cada testador detectou efeitos epistáticos em diferentes grupos de plantas F_2 e estes não foram unidirecionais para todos os caracteres. A interação epistasia por testador foi significativa para todos os caracteres, enquanto que a interação epistasia x ambientes não foi observada para nenhum caráter em ambos testecrosses. A presença de desequilíbrio de ligação na população foi observada para todos os caracteres, exceto ACQ. As estimativas dos componentes de variância e dos coeficientes de herdabilidade diferiram significativamente de zero, com exceção dos parâmetros estimados para os testecrosses do testador L-04-05F para o caráter ACQ. Os resultados sugerem que as estimativas da variância aditiva e dos coeficientes de herdabilidade estão viesados para aqueles caracteres nos quais foi verificada a presença de epistasia e de desequilíbrio de ligação.

Palavras-chave: *Zea mays*; *Triple test cross*; Epistasia; Testecrosses

Abstract

The contribution of epistasis to genetic variance components and to plant breeding is not well understood. The objectives of this study were: (i) to verify if epistasis is an important genetic component in the inheritance of grain yield, prolificacy and root and stalk lodging; and (ii) to investigate if epistasis interacts with environments and testers. The triple test cross design was used and a population of 100 $F_{2,3}$ progenies from the cross of inbred lines L-08-05F and L-38-05D were backcrossed to the parental lines and to their F_1 . The 300 backcrossed progenies were testcrossed to the inbred lines L-02-03D and L-04-05F. The 600 testcrosses were grown at ten environments in Piracicaba, SP, in an α -lattice design on a factorial scheme with two replications per environment. The traits recorded were grain yield (GY), prolificacy (PRO), root and stalk lodging (PL). Epistasis was detected for GY and PRO in both testcrosses and for PL only in the testcrosses from L-04-05F tester. Each tester detected epistasis in different groups of F_2 plants, and the epistatic effects were not unidirectional for all traits. Epistasis by tester interaction was significant for all traits, but epistasis by environment interaction was not significant for all traits in both testcrosses. Also linkage disequilibrium in the population was detected for all traits, except for PL. Estimates of variance components and heritability coefficients were all significant, except for testcrosses from L-04-05F tester for PL. The results suggested that the estimates of additive variance and heritability coefficients are biased by the presence of both epistasis and linkage disequilibrium.

Keywords: *Zea mays*; Triple test cross; Epistasis; Testcrosses

2.1 Introdução

A epistasia já é conhecida desde o início dos estudos em genética (BATESON, 1909), porém sua contribuição para os componentes da variância genética e para o melhoramento genético ainda não é bem entendida. De acordo com Hallauer (2007), é evidente que efeitos epistáticos estão envolvidos na herança dos caracteres quantitativos em virtude do grande número de locos que os controlam. Na literatura, estudos têm relatado que a epistasia desempenha um papel importante na expressão de diversos caracteres em várias culturas (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999; JOHNSON; GEPTS, 2002; CAUSSE et al., 2007) e outros estudos têm verificado o seu envolvimento na manifestação de fenômenos biológicos importantes como a heterose (MELCHINGER et al., 2007; KUSTERER et al., 2007) e a depressão por endogamia (LI et al., 2001; KELLER; WALLER, 2002). A maioria dos estudos de herança dos caracteres quantitativos, porém, tem desconsiderado a epistasia nos modelos genético-estatísticos, considerando apenas os efeitos genéticos aditivos e de dominância. No entanto, quando a epistasia está presente ela ocasiona vieses nas estimativas dos componentes da variância aditiva e

de dominância resultando, conseqüentemente, em imprecisões nas estimativas de parâmetros genéticos importantes como o coeficiente de herdabilidade e a resposta esperada com a seleção (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999).

O delineamento *triple test cross* (TTC), proposto por Kearsey e Jinks (1968), é uma extensão do delineamento III de Comstock e Robinson (1952) e permite detectar a presença da epistasia de forma precisa fornecendo, na sua ausência, estimativas não viesadas das variâncias aditivas e de dominância. Dessa forma, o TTC é um delineamento genético cuja utilidade principal é investigar a arquitetura genética dos caracteres na população, possibilitando determinar os tipos de ações e interações gênicas envolvidas e a sua relação com o melhoramento vegetal. O TTC tem sido bastante empregado em estudos de herança dos caracteres quantitativos em diversas culturas (WOLF; HALLAUER, 1997; SALEEM et al., 2005; BARONA; COLOMBARI FILHO; GERALDI, 2009). Em milho, o TTC tem sido utilizado para detectar a presença da epistasia em algumas populações baseando-se apenas em dados de desempenho *per se*. No entanto, no melhoramento de híbridos, linhagens endogâmicas são produzidas e selecionadas tanto por suas performances *per se* como pelo desempenho de seus híbridos, sendo a seleção de linhagens superiores baseada na sua capacidade geral e específica de combinação. Dessa forma, geralmente, essas linhagens são avaliadas em testecrosses, utilizando-se para tanto uma linhagem endogâmica como testadora, oriunda de outro grupo heterótico daquele do qual as linhagens, que serão avaliadas, foram obtidas. Assim sendo, Eta-Ndu e Openshaw (1999) propuseram uma modificação do TTC de Kearsey e Jinks (1968) para utilizá-lo em testecrosses. Segundo os autores o cruzamento das progênies provenientes do TTC com testadores fornece informações sobre a importância da epistasia no desempenho dos testecrosses, permitindo associá-las de forma direta com os resultados dos programas de melhoramento. Deste modo, os objetivos deste estudo foram: (i) verificar se a epistasia está presente na expressão dos caracteres produção de grãos (PG), prolificidade (PROL) e acamamento e quebramento de plantas (ACQ) em testecrosses; (ii) estimar os efeitos epistáticos em cada planta F_2 para estes caracteres; e (iii) verificar se a epistasia interage com ambientes e testadores.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e Métodos

2.2.1.1 Material genético

A população utilizada neste estudo foi obtida do cruzamento entre duas linhagens endogâmicas de milho, L-08-05F e L-38-05D, as quais pertencem a grupos heteróticos distintos, apresentam divergência genética para vários caracteres e alta capacidade específica de combinação para produção de grãos. A linhagem L-08-05F apresenta grãos duros de coloração alaranjada e foi extraída da população IG-1. A linhagem L-38-05D apresenta grãos amarelos dentados e foi extraída de um híbrido simples (AGUIAR et al., 2003). As plantas da geração F_1 foram autofecundadas para obter uma população F_2 . Uma amostra de 100 plantas da população F_2 foi autofecundada para dar origem a 100 progênies $F_{2,3}$, as quais, foram retrocruzadas com as linhagens parentais L-08-05F e L-38-05D e sua geração F_1 , dando origem a 300 progênies de retrocruzamento, segundo o delineamento *triple test cross* (KEARSEY; JINKS, 1968). Os retrocruzamentos foram realizados no ano agrícola 2007/2008 em três lotes isolados de despendoamento na Estação Experimental Anhembi pertencente ao Departamento de Genética da ESALQ/USP, em que as progênies $F_{2,3}$ foram utilizadas como fêmeas e as duas linhagens parentais e a F_1 como machos, as quais foram semeadas em linhas de 6 m, que após desbaste, continha 30 plantas espaçadas a cada 0,2 metros. Foi utilizada uma proporção de três linhas de fêmeas para uma linha de macho, em cada lote isolado. Para que houvesse coincidência entre florescimentos, as linhas de macho foram semeadas em três épocas, cinco dias antes, no dia e cinco dias depois da semeadura das linhas de fêmeas, sendo dois metros para cada época de semeadura. O despendoamento foi feito de maneira manual, retirando o pendão de todas as plantas fêmeas, antes da ocorrência da antese, tendo-se, portanto, as linhas de macho como única doadora de pólen. Foram utilizadas progênies $F_{2,3}$ ao invés de plantas F_2 , para facilitar os cruzamentos, realizados em lotes isolados de despendoamento, e para obter sementes suficientes dos testecrosses das progênies de retrocruzamento para as avaliações experimentais em diversos

ambientes. Deve-se ressaltar que a constituição gamética das progênies $F_{2,3}$ é, em média, a mesma da planta F_2 que lhe deu origem.

No inverno de 2008, as 300 progênies de retrocruzamento foram cruzadas com dois testadores (L-02-03D e L-04-05F) conforme proposto por Eta-Ndu e Openshaw (1999), obtendo-se assim 300 testecrosses com a linhagem endogâmica L-02-03D (TC1) e 300 testecrosses com a linhagem endogâmica L-04-05F (TC2). A linhagem L-04-05F apresenta grãos duros de coloração alaranjada e foi extraída da população IG-1 e a linhagem L-02-03D apresenta grãos amarelos dentados e foi extraída da população IG-2. Essas duas linhagens pertencem a grupos heteróticos distintos e são consideradas genótipos elites por apresentarem boas performances *per se* e em cruzamentos (SANTOS, 2008). As linhagens L-08-05F, L-38-05D, L-02-03D e L-04-05F e as populações IG-1 e IG-2 foram desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento de Milho do Departamento de Genética da ESALQ/USP. Os cruzamentos foram realizados em dois lotes isolados de despendoamento, na Estação Experimental do Departamento de Genética da ESALQ/USP, de maneira análoga àquela usada para obter as progênies de retrocruzamento, em que as progênies de retrocruzamento foram utilizadas como fêmeas e as linhagens testadoras, L-02-03D e L-04-05F, como machos. As sementes de cada linha de fêmea foram colhidas separadamente, misturadas e identificadas para montagem dos experimentos, obtendo-se assim 600 testecrosses.

2.2.1.2 Procedimento experimental

A avaliação dos testecrosses foi realizada em dez ambientes para os caracteres produção de grãos e prolificidade e em oito ambientes para o caráter acamamento e quebramento, nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, sendo cada combinação local x época de semeadura x ano considerada como um ambiente distinto. Os testecrosses foram avaliados nas Estações Experimentais Anhembi, Areão e Caterpillar todas pertencentes ao Departamento de Genética da ESALQ/USP e localizadas no município de Piracicaba, São Paulo, mas com diferentes tipos de solos (Anexo A). Os 300 testecrosses provenientes de cada testador foram plantados em experimentos separados, porém em áreas adjacentes no mesmo ambiente. O delineamento experimental utilizado foi o α -látice 15×20 no esquema fatorial com duas repetições por ambiente. Nesse esquema, o primeiro fator correspondeu ao testecross referente à i -ésima

planta F_2 ($i = 1, \dots, 100$) e o segundo fator ao testecross referente à j -ésima geração de retrocruzamento ($j = 1, 2, 3$). Cada parcela foi constituída de uma linha de 4 m semeadas com 40 sementes restando, após o desbaste, 20 plantas em cada parcela. O espaçamento entre plantas foi de 0,20 m e 0,80 m entre parcelas, correspondendo a uma população de 62.500 plantas ha^{-1} . Os caracteres analisados foram: produção de grãos (PG, em t ha^{-1} , ajustada para 15,5% de umidade), prolificidade (PROL= n° espiga por parcela/estande) e acamamento e quebramento de plantas (ACQ= % de plantas acamadas + quebradas) na parcela, ajustados para estande médio. Além disso, o caráter ACQ foi transformado para $\sqrt{x\% + 0,5}$, em que $x\%$ é a porcentagem de plantas acamadas e quebradas na parcela.

2.2.1.3 Análises de variância

Todas as análises genético-estatísticas foram realizadas utilizando-se o PROC GLM do SAS (SAS INSTITUTE, 2003). A normalidade dos resíduos foi testada pelo teste de *Shapiro–Wilk* antes de proceder cada análise. As análises de variância individuais foram realizadas para cada experimento em cada ambiente. O teste de *Hartley* (HARTLEY, 1950) foi utilizado para testar a homogeneidade das variâncias dos resíduos entre ambientes e foram observadas homogeneidades para todos os caracteres em ambos testadores e, posteriormente, foram realizadas as análises conjuntas utilizando as médias ajustadas e os quadrados médios dos erros efetivos de cada experimento, considerando um modelo em que o efeito de gerações de retrocruzamento (g_j) foi fixo e os demais aleatórios eq. (1):

$$Y_{ijkl} = \mu + p_i + a_l + (pa)_{il} + g_j + (ga)_{jl} + (pg)_{ij} + (pga)_{ijl} + \bar{e}_{ijkl} \quad (1)$$

em que, Y_{ijkl} : é o valor referente ao testecross proveniente da i -ésima planta F_2 , na j -ésima geração de retrocruzamento, na k -ésima repetição, dentro do l -ésimo ambiente; μ : efeito da média geral; p_i : efeito de testecross referente à i -ésima planta F_2 , sendo $i = 1, \dots, 100$; a_l : é o efeito do l -ésimo ambiente, sendo $l = 1, \dots, 10$; $(pa)_{il}$: é o efeito da il -ésima interação plantas F_2 x ambientes; g_j : efeito de testecross referente à j -ésima geração de retrocruzamento, sendo

$j = 1, 2, 3$; $(ga)_{jl}$: efeito da jl -ésima interação gerações x ambientes; $(pg)_{ij}$: efeito da ij -ésima interação plantas F_2 x gerações; $(pga)_{ijl}$: efeito da ijl -ésima interação plantas F_2 x gerações x ambientes; e_{ijkl} : é o erro efetivo médio.

O teste F aproximado por Satterthwaite (1946) foi utilizado para testar gerações de retrocruzamento (Anexo B). Os componentes da variância dos testecrosses foram estimados para cada caráter e testador com base nas esperanças matemáticas dos quadrados médios da análise conjunta, de acordo com os procedimentos sugeridos por Searle; Casela e MacCulloch (1992). Foram estimados os seguintes componentes da variância eq. (2, 3, 4, 5 e 6):

$$\hat{\sigma}_{TC}^2 = (QM_P - QM_{PxE}) / rgl \quad (2)$$

em que, $\hat{\sigma}_{TC}^2$ é a variância genética de testecrosses referentes às plantas F_2 , QM_P é o quadrado médio da fonte de variação testecrosses referentes às plantas F_2 , QM_{PxE} é o quadrado médio da fonte de variação da interação plantas F_2 x ambientes, r é o número de repetições, g é o número de gerações de retrocruzamento e l é o número de ambientes;

$$\hat{\sigma}_{TCxE}^2 = (QM_{PxE} - QM_{Erro}) / rg \quad (3)$$

em que, $\hat{\sigma}_{TCxE}^2$ é a variância da interação testecrosses referentes às plantas F_2 x ambientes, QM_{Erro} é o quadrado médio do erro efetivo;

$$\hat{\sigma}_{TCxGer}^2 = (QM_{PxGer} - QM_{PxGerxE}) / rl \quad (4)$$

em que, $\hat{\sigma}_{TCxGer}^2$ é a variância da interação testecrosses referentes às plantas F_2 x gerações de retrocruzamento, QM_{PxGer} é o quadrado médio da fonte de variação da interação plantas F_2 x gerações, $QM_{PxGerxE}$ é o quadrado médio da fonte de variação da interação plantas F_2 x gerações x ambientes;

$$\hat{\sigma}_{TC \times Ger \times E}^2 = (QM_{PxGer \times E} - QM_{Erro}) / r \quad (5)$$

em que, $\hat{\sigma}_{TC \times Ger \times E}^2$ é a variância da interação testecrosses referentes às plantas F_2 x gerações x ambientes;

$$\hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2 = \frac{QM_P}{rgl} = \hat{\sigma}_{TC}^2 + \frac{\hat{\sigma}_{TC \times E}^2}{rg} + \frac{\hat{\sigma}_{Erro}^2}{rgl} \quad (6)$$

em que, $\hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2$ é a variância fenotípica com base em médias de testecrosses referentes às plantas F_2 e $\hat{\sigma}_{Erro}^2$ é o erro efetivo médio da análise conjunta;

As estimativas das variâncias aditiva de testecrosses referentes às plantas F_2 ($\hat{\sigma}_{A_{TC}}^2$) e suas interações com ambientes ($\hat{\sigma}_{A_{TC} \times E}^2$) foram obtidas segundo Hallauer e Miranda Filho (1988) pelas eq. (7) e eq. (8), respectivamente:

$$\hat{\sigma}_{A_{TC}}^2 = 4\hat{\sigma}_{TC}^2 \quad (7)$$

$$\hat{\sigma}_{A_{TC} \times E}^2 = 4\hat{\sigma}_{TC \times E}^2 \quad (8)$$

Os coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses ($\hat{h}_{\bar{X}_{TC}}^2 = \hat{\sigma}_{TC}^2 / \hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2$) foram estimados para cada testador. Os intervalos de confiança dos componentes da variância e dos coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses foram calculados a 0,95 de probabilidade, seguindo os procedimentos descritos por Burdick e Graybill (1992) e Knapp; Stroup e Ross (1985), respectivamente. Os intervalos de confiança foram utilizados na comparação das estimativas dos componentes da variância e dos coeficientes de herdabilidade, sendo que as estimativas obtidas foram consideradas diferentes ($P \leq 0,05$) entre si, somente quando uma estimativa não estivesse dentro do intervalo de confiança da outra e vice-versa.

2.2.1.4 Detecção da epistasia e interação epistasia x testador

O teste de *Hartley* foi também utilizado para testar a homogeneidade das variâncias dos resíduos entre as gerações de retrocruzamento e indicou homogeneidade para todos os caracteres em ambos testadores. Assim, foi utilizada a estimativa da variância do erro efetivo da análise conjunta para detectar a epistasia nos testecrosses para cada caráter e testador conforme sugerido por Eta-Ndu e Openshaw (1999), baseando no seguinte contraste eq. (9):

$$I_i = G_{RC_{1i}} + G_{RC_{2i}} - 2G_{RC_{3i}} \quad (9)$$

em que, I_i é o efeito epistático no testecross referente à i –ésima planta F_2 que difere de zero, na presença de epistasia; $G_{RC_{1i}}$ é a média do testecross referente à i –ésima planta F_2 na geração de retrocruzamento 1 (parental L-08-05F); $G_{RC_{2i}}$ é a média do testecross referente à i –ésima planta F_2 na geração de retrocruzamento 2 (parental L-38-05D); e $G_{RC_{3i}}$ é a média do testecross referente à i –ésima planta F_2 na geração de retrocruzamento 3 (geração F_1 das linhagens parentais), sendo $i = 1, \dots, 100$. Nessa modificação do TTC para dados de testecrosses apenas a epistasia do tipo aditiva x aditiva pode ser detectada, uma vez que a variância genética de testecrosses contém apenas a variância aditiva (BERNARDO, 2002).

A presença da epistasia e suas interações com os ambientes foram testadas na análise de variância do delineamento TTC através da decomposição das fontes de variação gerações de retrocruzamento (G_{RC}), plantas F_2 x gerações ($P \times G_{RC}$), gerações x ambientes ($G_{RC} \times A$) e plantas F_2 x gerações x ambientes ($P \times G_{RC} \times A$). A fonte de variação (G_{RC}) foi decomposta em dois contrastes ortogonais, sendo um deles ($G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3}$) que testa o valor médio desse contraste (efeito epistático médio). A fonte de variação ($P \times G_{RC}$) foi decomposta em duas outras fontes, sendo uma delas a interação [$P \times (G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3})$] que testa a variação do contraste (efeito epistático) entre as plantas F_2 . A soma das somas de quadrados das fontes de variação ($G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3}$) e [$P \times (G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3})$] foram calculadas para obter a soma de quadrados da epistasia total (SQI), que corresponde a expressão envolvendo o contraste (I_i)

apresentado por Eta-Ndu e Openshaw (1999). As interações $[(G_{RC1} + G_{RC2} \text{ vs } 2G_{RC3}) \times A]$ e $[P \times (G_{RC1} + G_{RC2} \text{ vs } 2G_{RC3}) \times A]$ foram obtidas da decomposição das fontes de variação $(G_{RC} \times A)$ e $(P \times G_{RC} \times A)$, respectivamente, e foram somadas para testar a interação epistasia total x ambientes.

O teste F para epistasia na população foi realizado da seguinte forma eq. (10):

$$F_{(GL_{Epistasia\ Total}, GL_{Erro})} = QM_{Epistasia\ Total} / QM_{Erro} \quad (10)$$

em que, $QM_{Epistasia\ Total} = SQI/n$ é o quadrado médio da epistasia total, sendo SQI a soma de quadrados da epistasia total, n é o número de graus de liberdade e corresponde ao número de plantas F_2 e QM_{Erro} é o quadrado médio do erro efetivo, que foi considerado uma vez que o quadrado médio da interação epistasia x ambientes não diferiu de zero.

Além disso, o teste t foi utilizado para testar a epistasia em cada planta F_2 da seguinte maneira eq. (11):

$$t_i = |G_{RC_{1i}} + G_{RC_{2i}} - 2G_{RC_{3i}}| / \sqrt{(6QM_{Erro})/rl} \quad (11)$$

em que, o numerador do teste t é o valor, em módulo, do contraste, ou seja, refere-se à contribuição epistática do testecross referente à i -ésima planta F_2 ($i=1, \dots, 100$), r é o número de repetições e l o número de ambientes, sendo t_i o teste t bi-caudal para a i -ésima planta F_2 .

Para testar a interação epistasia x testadores para cada caráter, foram realizadas análises de variâncias considerando um modelo em que o efeito de testador (t_k) foi fixo e os demais aleatórios eq. (12):

$$I_{ikl} = \mu + p_i + t_k + a_l + (pt)_{ik} + (pa)_{il} + (ta)_{kl} + e_{ikl} \quad (12)$$

em que, I_{ikl} é o efeito epistático estimado para o testecross referente à i -ésima planta F_2 , para o k -ésimo testador, no l -ésimo ambiente; μ é a média geral; p_i é o efeito do testecrosse

referente à i -ésima planta F_2 , sendo $i = 1, \dots, 100$; t_k é o efeito do k -ésimo testador, sendo $k = 1, 2$; a_l é o efeito do l -ésimo ambiente, sendo $l = 1, \dots, 10$; $(pt)_{ik}$ é o efeito da ik -ésima interação plantas F_2 x testadores; $(pa)_{il}$ é o efeito da il -ésima interação plantas F_2 x ambientes; $(ta)_{kl}$ é o efeito da kl -ésima interação testadores x ambientes; e_{ikl} é o efeito da ikl -ésima interação plantas F_2 x testadores x ambientes, sendo o erro do modelo.

O teste F para testar a interação epistasia x testadores foi realizado da seguinte forma eq. (13):

$$F_{(GL_{PxT}, GL_{Re\ s\acute{d}uo})} = QM_{PxT} / QM_{Re\ s\acute{d}uo} \quad (13)$$

em que, QM_{PxT} é o quadrado médio da interação testecrosses referentes às plantas F_2 x testadores e corresponde à interação epistasia x testadores; $QM_{Re\ s\acute{d}uo}$ é o quadrado médio da interação plantas F_2 x testadores x ambientes e corresponde à interação epistasia x testadores x ambientes; GL_{PxT} é o grau de liberdade associado ao quadrado médio da interação plantas F_2 x testadores; $GL_{Re\ s\acute{d}uo}$ é o grau de liberdade associado ao quadrado médio da interação plantas F_2 x testadores x ambientes.

2.2.2 Resultados e Discussão

2.2.2.1 Análises de variância e médias

Diferenças altamente significativas ($P \leq 0,01$) foram detectadas entre testecrosses referentes às plantas F_2 para produção de grãos (PG) e prolificidade (PROL) nos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) e para acamamento e quebramento de plantas (ACQ) somente para o TC1, indicando que as linhagens parentais L-08-05F e L-38-05D foram divergentes para maioria dos caracteres gerando assim, uma população com ampla variabilidade genética. As fontes de variação ambientes, gerações de retrocruzamento (G_{RC}) e a interação plantas F_2 por ambientes foram altamente significativas ($P \leq 0,01$) para todos os caracteres para os TC1 e TC2,

mostrando, respectivamente, que houve diferenças entre os ambientes de avaliação, entre as gerações de retrocruzamento e que os testecrosses referentes às plantas F_2 , apresentaram um comportamento diferencial entre os ambientes. Já a fonte de variação gerações de retrocruzamento por ambiente só não foi significativa para PROL no TC1. A interação plantas F_2 por gerações de retrocruzamento foi altamente significativa ($P \leq 0,01$) para a maioria dos caracteres, exceto para ACQ, indicando que os testecrosses referentes às plantas F_2 comportaram-se de forma diferencial nas gerações de retrocruzamento, enquanto que as interações triplas, plantas F_2 por gerações por ambientes, não foram significativas para nenhum caráter, indicando que a performance dos testecrosses referentes às plantas F_2 nos diferentes retrocruzamentos se mantiveram através dos ambientes de avaliação (Tabela 2.1).

Os coeficientes de variação experimental (CV) para produção de grãos variaram de 9,90% a 19,36% entre os experimentos, sendo 14,16% para os TC1 e 12,98% para os TC2 na análise conjunta. Da mesma forma que para PG, os valores dos CVs para os demais caracteres estão dentro dos limites considerados adequados para estudos de herança de caracteres quantitativos (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988; SILVA et al., 2004; LIMA et al., 2006). As médias gerais para PG dos testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) foram de 7,81 t ha⁻¹ e 7,29 t ha⁻¹, respectivamente, e variaram de 5,81 a 8,80 t ha⁻¹ para os TC1, e de 5,82 a 8,50 t ha⁻¹ para os TC2. Para PROL, a média geral dos TC1 foi de 0,85 espigas planta⁻¹, variando de 0,72 a 0,93 espigas planta⁻¹, enquanto que para TC2 foi de 0,90 espigas planta⁻¹, variando de 0,73 a 0,99 espigas planta⁻¹. Para ACQ, a média geral foi de 4,40% para os TC1 e 4,93% para os TC2 e variaram de 0,80 a 12,46% (TC1) e de 0,94% a 11,75% (TC2). As médias entre TC1 e TC2 diferiram significativamente entre si ($P \leq 0,05$) apenas para os caracteres PG e ACQ. Comparando os intervalos de variação das médias entre os dois grupos de testecrosses, verificou-se que os TC1 apresentaram maior variação para PG e ACQ, enquanto que para PROL os intervalos de variação de ambos testecrosses (TC1 e TC2) foram semelhantes (Tabelas 2.1).

Tabela 2.1 – Quadrados médios (QM) e respectivas significâncias (teste *F*) da análise de variância conjunta seguindo o delineamento *triple test cross* (TTC) para os caracteres produção de grãos (PG), prolificidade (PROL) e acamamento e quebramento de plantas (ACQ), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) avaliados em diversos ambientes

FV	GL	QM						
		PG (t ha ⁻¹)		PROL (espigas planta ⁻¹) ^a		GL	ACQ (%)	
		TC1	TC2	TC1	TC2		TC1	TC2
Ambientes (A)	9	3.553,70 ^{**}	2.301,55 ^{**}	3.495,16 ^{**}	1.689,51 ^{**}	7	529,92 ^{**}	875,92 ^{**}
Plantas F ₂ (P)	99	12,96 ^{**}	4,34 ^{**}	49,44 ^{**}	39,90 ^{**}	99	3,94 ^{**}	3,00 ^{ns}
P x A	891	2,82 ^{**}	2,08 ^{**}	18,10 ^{**}	18,33 ^{**}	693	2,74 ^{**}	2,82 ^{**}
Gerações (G _{RC})	2	21,63 ^{**}	87,84 ^{**}	143,34 ^{**}	692,33 ^{**}	2	83,57 ^{**}	84,14 ^{**}
G _{RC1} vs G _{RC2}	1	30,13 [*]	159,27 ^{**}	280,50 ^{**}	1.066,74 ^{**}	1	167,10 ^{**}	166,72 ^{**}
G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3}	1	13,12 ^{**}	16,40 ^{**}	6,19 ^{ns}	317,92 ^{**}	1	0,03 ^{ns}	1,56 ^{ns}
G _{RC} x A	18	3,43 ^{**}	4,95 ^{**}	8,93 ^{ns}	18,72 ^{**}	14	4,51 ^{**}	3,16 ^{**}
(G _{RC1} vs G _{RC2}) x A	9	5,94 ^{**}	8,30 ^{**}	8,25 ^{ns}	31,57 ^{**}	7	7,49 ^{**}	6,09 ^{**}
(G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3}) x A	9	0,93 ^{ns}	1,59 ^{ns}	9,62 ^{ns}	5,87 ^{ns}	7	1,53 ^{ns}	0,23 ^{ns}
P x G _{RC}	198	1,89 ^{**}	1,57 ^{**}	15,14 ^{**}	19,72 ^{**}	198	1,55 ^{ns}	1,57 ^{ns}
P x (G _{RC1} vs G _{RC2})	99	2,10 ^{**}	1,69 ^{**}	15,77 ^{**}	20,17 ^{**}	99	1,57 ^{ns}	1,42 ^{ns}
P x (G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3})	99	1,69 ^{**}	1,44 ^{**}	14,50 ^{**}	19,27 ^{**}	99	1,53 ^{ns}	1,71 [*]
P x G _{RC} x A	1782	1,01 ^{ns}	0,79 ^{ns}	8,21 ^{ns}	9,77 ^{ns}	1386	1,31 ^{ns}	1,25 ^{ns}
P x (G _{RC1} vs G _{RC2}) x A	891	0,95 ^{ns}	0,75 ^{ns}	7,88 ^{ns}	9,32 ^{ns}	693	1,37 ^{ns}	1,49 ^{ns}
P x (G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3}) x A	891	1,07 ^{ns}	0,84 ^{ns}	8,53 ^{ns}	10,22 ^{ns}	693	1,25 ^{ns}	1,02 ^{ns}
Epistasia	100	1,80 ^{**}	1,59 ^{**}	14,42 ^{**}	22,25 ^{**}	100	1,52 ^{ns}	1,71 [*]
Epistasia x A	900	1,07 ^{ns}	0,85 ^{ns}	8,54 ^{ns}	10,18 ^{ns}	700	1,25 ^{ns}	1,01 ^{ns}
Erro Efetivo Médio	2600	1,22	0,89	9,00	10,18	2080	1,44	1,37
CV (%)		14,16	12,98	11,15	11,16		54,35	50,21
Média Geral		7,81	7,29	0,85	0,90		4,40 ^b	4,93 ^b
Intervalo de Variação da Média		5,81; 8,80	5,82; 8,50	0,72; 0,93	0,73; 0,99		0,80; 12,46	0,94; 11,75
Intervalo de Confiança da Média (5%)		7,78; 7,84	7,27; 7,31	0,77; 0,93	0,82; 0,98		4,25; 4,56	4,79; 5,07

^a QM multiplicados por 10³; ns, *, ** não significativo, significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste *F*, respectivamente; ^b Valores na escala original (não transformados).

2.2.2.2 Estimativas de parâmetros genéticos

As estimativas dos componentes da variância diferiram significativamente de zero ($P \leq 0,05$), com exceção da variância aditiva dos testecrosses do testador L-04-05F, que foi nula para o caráter ACQ. Deve-se ressaltar, que a variância genética de testecrosses contém somente a variância aditiva (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999). Para todos os caracteres, exceto PROL, as estimativas da variância aditiva dos testecrosses provenientes do testador L-02-03D (TC1) foram significativamente ($P \leq 0,05$) superiores às dos testecrosses do testador L-04-05F (TC2), o que era esperado, já que os TC1 apresentaram maior amplitude de variação das médias para PG e ACQ (Tabela 2.2). A origem comum entre a linhagem testadora L-04-05F e a linhagem parental L-08-05F, a qual deu origem à população, resulta em uma menor divergência desse testador com a população e, conseqüentemente, uma menor variabilidade dos seus testecrosses em relação aos testecrosses provenientes do testador L-02-03D. Santos (2008) e Môro (2011) verificaram a existência de maior variabilidade genética para PG, PROL e ACQ na população L-14-04B x L-08-05F, para os testecrosses provenientes do testador L-02-03D em relação aos originados do testador L-04-05F. Para todos os caracteres, as estimativas da variância da interação aditiva por ambientes foram significativamente diferentes de zero ($P \leq 0,05$) e superiores às suas respectivas estimativas de variância aditiva, confirmando a importância do ambiente na expressão desses caracteres, como tem sido reportado na literatura (WOLF; HALLAUER, 1997; SILVA et al., 2004; GOMES et al., 2010).

As estimativas dos coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses ($\hat{h}_{\bar{x}_{TC}}^2$) diferiram significativamente de zero ($P \leq 0,05$) para todos os caracteres, exceto para ACQ (TC2). Os coeficientes de herdabilidade para os testecrosses provenientes do testador L-02-03D foram estatisticamente superiores aos dos testador L-04-05F somente para PG e ACQ e apresentaram magnitudes alta para PG (0,77), moderada para PROL (0,63) e baixa para ACQ (0,25), enquanto que para os testecrosses do L-04-05F os coeficientes de herdabilidade foram moderados para PG (0,57) e PROL (0,54) e nulo para ACQ (Tabela 2.2). A maior variância genética encontrada nos testecrosses provenientes do testador L-02-03D para todos caracteres pode explicar os maiores coeficientes de herdabilidade obtidos nesses testecrosses. A pronunciada interação testecrosses x ambientes contribuiu para obtenção de coeficientes de

herdabilidade com magnitudes moderada para PG e PROL e baixa para ACQ. Considerando os caracteres analisados e o número de ambientes de avaliação, esses valores estão de acordo com os reportados por Hallauer e Miranda Filho (1988).

Tabela 2.2 – Estimativas das variâncias genéticas de testecrosses ($\hat{\sigma}_{TC}^2$), variâncias da interação testecrosses x ambientes ($\hat{\sigma}_{TC \times E}^2$), variâncias fenotípicas com base em médias de testecrosses ($\hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2$), variâncias aditiva de testecrosses ($\hat{\sigma}_{A_{TC}}^2$), variâncias da interação aditiva de testecrosses x ambientes ($\hat{\sigma}_{A_{TC} \times E}^2$), coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses ($\hat{h}_{\bar{X}_{TC}}^2$) e seus respectivos intervalos de confiança (entre parêntese) ⁽¹⁾ para produção de grãos (PG), prolificidade (PROL) e acamamento e quebraimento de plantas (ACQ) obtidos para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2)

Estimativas	PG (t ha ⁻¹)		PROL (espigas planta ⁻¹) ⁽²⁾		ACQ (%)	
	TC1	TC2	TC1	TC2	TC1	TC2
$\hat{\sigma}_{TC}^2$	0,17 (0,12; 0,25)	0,04 (0,02; 0,07)	0,52 (0,35; 0,86)	0,36 (0,23; 0,66)	0,02 (0,01; 0,10)	- ⁽³⁾
$\hat{\sigma}_{TC \times E}^2$	0,27 (0,23; 0,32)	0,20 (0,17; 0,24)	1,52 (1,27; 1,87)	1,36 (1,10; 1,71)	0,22 (0,17; 0,28)	0,24 (0,20; 0,30)
$\hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2$	0,22 (0,17; 0,29)	0,07 (0,06; 0,10)	0,82 (0,64; 1,11)	0,66 (0,51; 0,90)	0,08 (0,06; 0,11)	0,06 (0,05; 0,08)
$\hat{\sigma}_{A_{TC}}^2$	0,68 (0,48; 1,00)	0,16 (0,08; 0,28)	2,08 (1,40; 3,44)	1,44 (0,92; 2,64)	0,08 (0,04; 0,40)	-
$\hat{\sigma}_{A_{TC} \times E}^2$	1,08 (0,92; 1,28)	0,80 (0,68; 0,96)	6,08 (5,08; 7,48)	5,44 (4,40; 6,84)	0,88 (0,68; 1,12)	0,96 (0,80; 1,20)
$\hat{h}_{\bar{X}_{TC}}^2$	0,77 (0,70; 0,84)	0,57 (0,34; 0,64)	0,63 (0,50; 0,72)	0,54 (0,37; 0,65)	0,25 (0,05; 0,47)	-

⁽¹⁾ Intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade; ⁽²⁾ Variâncias multiplicadas por 10³; ⁽³⁾ Estimativa nula.

2.2.2.3 Detecção da epistasia

Na análise de variância conjunta o quadrado médio para epistasia foi altamente significativo ($P \leq 0,01$) para produção de grãos (PG) e prolificidade (PROL) para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2), indicando a presença de epistasia na população. Para o caráter acamamento e quebraimento (ACQ) a epistasia foi significativa

($P \leq 0,05$) apenas para os TC2 (Tabela 2.1). Eta-Ndu e Openshaw (1999) usando o mesmo delineamento com testecrosses, detectaram a presença de epistasia para produção de grãos em duas populações e dois testadores. Segundo os autores, na análise TTC para dados de testecrosses, apenas a variância aditiva é explorada e, portanto, a variância não aditiva contém apenas a epistasia do tipo aditiva x aditiva na ausência de desequilíbrio de ligação. Wolf e Hallauer (1997) utilizando a análise TTC original, com dados de desempenho *per se* das progênies geradas nos três retrocruzamentos, não detectaram a presença de epistasia para os caracteres prolificidade e acamamento e quebramento no híbrido simples de milho B73 x Mo17, porém, para produção de grãos, eles verificaram a presença das interações epistáticas aditiva x dominante e/ou dominante x dominante, e concluíram que a presença de efeitos epistáticos favoráveis podem ter contribuído para expressão da heterose, explicando a excelente performance deste híbrido. Utilizando o TTC modificado por Ketata et al. (1976), Sofi; Rather e Venkatesh (2006) verificaram a presença de epistasia do tipo aditiva x aditiva, aditiva x dominante e/ou dominante x dominante para produção de grãos. Análises utilizando médias de gerações também revelaram a presença de efeitos epistáticos na expressão dos caracteres produção de grãos (LAMKEY; SCHNICKER; MELCHINGER, 1995) e prolificidade (VELÁSQUEZ et al., 2008).

A interação epistasia x ambientes não foi significativa para nenhum caráter em ambos testadores. Estes resultados indicam que os efeitos epistáticos não interagiram com os ambientes, ou seja, eles não apresentaram expressão diferencial entre os ambientes, sendo consistentes nos diferentes ambientes. Resultados semelhantes foram obtidos por Sood et al. (2007) que verificaram ausência da interação epistasia por ambientes na análise TTC para doze caracteres em linhaça (*Linum usitatissimum*). Wolf e Hallauer (1997) também relataram ausência da interação epistasia aditiva x dominante e/ou dominante x dominante por ambientes para os caracteres produção de grãos, prolificidade e acamamento. No entanto, eles verificaram a presença da interação epistasia aditiva x aditiva por ambientes para esses mesmos caracteres. Bauman (1959) analisando médias de híbridos simples e de seus respectivos híbridos triplos verificou a presença de epistasia e sua interação com ambientes para produção de grãos. A presença da interação epistasia por ambientes em milho também foi observada por Gorsline (1961) que utilizou uma extensão do método de Bauman (1959), a qual incluía médias de híbridos duplos.

Os desvios da epistasia, mensurado pela interação $[P \times (G_{RC1} \text{ vs } G_{RC2})]$, foram significativos para todos os caracteres, exceto para ACQ (Tabela 2.1). Na análise TTC original

baseada no desempenho *per se* das progênies de retrocruzamento, os desvios da epistasia são atribuídos a variância de dominância na ausência de desequilíbrio de ligação, ou seja, $\hat{\sigma}_{\text{Desvio}_{F_2}}^2 = \hat{\sigma}_D^2 + (1/2) \sum_{ij} (1 - 2r_{ij})^2 d_i d_j$ sendo $\sum_{ij} (1 - 2r_{ij})^2 d_i d_j = 0$ na ausência de desequilíbrio, em que $\hat{\sigma}_D^2$ é a estimativa da variância de dominância, r_{ij} é a frequência de recombinação entre os locos i e j e d_i e d_j são os efeitos de dominância dos locos i e j , respectivamente (COMSTOCK; ROBINSON, 1952). Na análise TTC com testecrosses, Eta-Ndu e Openshaw (1999) comentaram que a presença de desvios da epistasia significativos devem ser atribuídos somente ao desequilíbrio de ligação, pois a variância de dominância não está contida na variância de testecrosses, ou seja, $\sigma_D^2 = 0$. Portanto, as significâncias dos quadrados médios da fonte de variação $[P \times (G_{RC1} \text{ vs } G_{RC2})]$ indicaram a presença de desequilíbrio de ligação na população para todos os caracteres, exceto ACQ. A presença de desequilíbrio de ligação nessa população já era esperada, uma vez ela foi obtida do cruzamento entre linhagens endogâmicas e, não foi submetida a diversas gerações de recombinação para reduzir este desequilíbrio. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Eta-Ndu e Openshaw (1999) que verificaram a presença de desequilíbrio de ligação em duas populações para o caráter PG.

2.2.2.4 Detecção da epistasia em plantas F_2

Foram detectados efeitos epistáticos significativos para produção de grãos em 23 plantas F_2 (23%) considerando os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2). Destes, nove foram detectados somente no TC1 (9%), 11 apenas no TC2 (11%) e três em ambos testecrosses (3%). Três efeitos epistáticos positivos e nove negativos foram detectados nos TC1 e variaram de -2,10 a 1,57 t ha⁻¹. Em relação aos TC2, foram verificados 13 efeitos epistáticos positivos e um negativo, os quais variam de -1,44 a 2,30 t ha⁻¹ (Tabela 2.3). Um maior número de plantas com efeitos epistáticos significativos e positivos foram encontradas para os TC2. Cada testador identificou epistasia em diferentes grupos de plantas F_2 , com exceção de três plantas, nas quais os efeitos epistáticos foram detectados em ambos testecrosses. No entanto, esses efeitos ocorreram em sentidos opostos, ou seja, no TC1 os efeitos epistáticos detectados nas três plantas foram negativos, enquanto que no TC2 foram positivos.

Eta-Ndu e Openshaw (1999) usando o mesmo delineamento com testecrosses, detectaram efeitos epistáticos em 17 das 52 plantas F_2 (33%) na população A679 x Wx6005 e em 18 das 52 plantas F_2 (35%) na população A679 x FR902, considerando os testecrosses provenientes dos testadores LH85 e LH163. Para a população A679 x Wx6005, 10 plantas com efeitos epistáticos foram detectadas somente para os testecrosses provenientes do testador LH85 (19%), seis apenas para os testecrosse provenientes de LH163 (12%) e uma planta em ambos testecrosses (2%), enquanto que para a população A679 x FR902, 13 plantas foram detectadas apenas para os testecrosses de LH85 (25%), três apenas para os testecrosses de LH163 (6%) e duas em ambos testecrosses (4%). Os efeitos epistáticos variaram de -1,93 a 2,54 t ha⁻¹ e de -1,52 a 2,96 t ha⁻¹ para LH85 e LH163, respectivamente, na população A679 x Wx6005, enquanto que na população A679 x FR902 esses efeitos variaram de -2,40 a 2,20 t ha⁻¹ para os testecrosses de LH85 e -2,35 a 1,47 t ha⁻¹ para LH163. Efeitos epistáticos significativos para produção de grãos também foram identificados por Wolf e Hallauer (1997) em treze das 100 plantas F_2 amostradas em uma população, utilizando o delineamento TTC original com dados de desempenho *per se* das progênes de retrocruzamento.

Para prolificidade, foram detectados efeitos epistáticos significativos em 21 plantas F_2 (21%) considerando os dois testecrosses (TC1 e TC2), sendo seis detectados apenas no TC1 (6%), 12 apenas no TC2 (12%) e três em ambos testecrosses (3%). Os efeitos epistáticos de cada planta F_2 variaram de -0,16 a 0,18 espigas planta⁻¹ para TC1, sendo seis efeitos epistáticos positivos e três negativos. Para TC2, foram verificados 12 efeitos epistáticos positivos e três negativos, os quais variaram de -0,14 a 0,40 espigas planta⁻¹. Em relação às três plantas em que os efeitos epistáticos foram significativos para ambos testecrosses, uma apresentou efeito positivo para os dois testadores e as outras duas, apresentaram efeitos negativos para TC1 e positivos para TC2. Assim como ocorreu para PG, a maior proporção de plantas com efeitos epistáticos significativos foi observada para os TC2. Além disso, cada testador foi capaz de detectar a presença de epistasias em diferentes plantas F_2 (Tabela 2.3).

Foram identificadas 15 plantas F_2 (15%) com efeitos epistáticos significativos para acamamento e quebramento considerando os TC1 e TC2, sendo seis oriundos dos TC1 (6%) e nove dos TC2 (9%). Dois dos seis efeitos epistáticos para os TC1 foram positivos e quatro foram negativos e variaram de -4,20 a 2,81% de plantas acamadas e quebradas. Em relação aos TC2,

seis dos nove efeitos foram positivos e três foram negativos e variaram de -2,67 a 3,54% de plantas acamadas e quebradas. Cada testador foi capaz de detectar a presença de epistasias em diferentes plantas F_2 , porém não foram identificadas plantas com efeitos epistáticos significativos para ambos testadores, ao contrário do que ocorreu para os caracteres produção de grãos e prolificidade (Tabela 2.3).

O uso dos testadores L-02-03D e L-04-05F permitiu que a epistasia fosse identificada em um maior número de plantas F_2 para os diferentes caracteres. Esses resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Eta-Ndu e Openshaw (1999) para o caráter produção de grãos que verificaram uma maior probabilidade de detecção da epistasia em populações F_2 com o aumento do número de testadores para avaliar as progênies de retrocruzamento geradas no *triple test cross*.

As médias gerais dos testecrosses nas três gerações de retrocruzamento para PG, PROL e ACQ não diferiram significativamente entre si ($P \leq 0,05$), para os TC1 e TC2 (Tabela 2.4). Dessa forma, a soma das médias dos testecrosses provenientes das gerações de retrocruzamento com ambos parentais (G_{RC1} e G_{RC2}) foi igual a duas vezes a média geral dos testecrosses proveniente da geração de retrocruzamento com a geração F_1 desses parentais (G_{RC3}), indicando a ausência de epistasia para todos os caracteres em ambos testecrosses. A ausência de epistasia já era esperada nas análises baseadas nas médias gerais dos três retrocruzamentos, pois os efeitos epistáticos não foram direcionais, isto é, apresentaram valores positivos e negativos para todos os caracteres, conseqüentemente, esses efeitos tendem a se anularem e o efeito da epistasia total na população passa a ser nulo ou tão pequeno que não pode ser detectado. Resultados semelhantes foram obtidos por Eta-Ndu e Openshaw (1999) e Wolf e Hallauer (1997) que verificaram ausência de epistasia para produção de grão quando observaram as médias das três gerações de retrocruzamento do TTC.

Houve baixa coincidência das plantas F_2 que apresentaram efeitos epistáticos significativos para os TC1 e TC2 simultaneamente, sugerindo que o efeito da epistasia nas plantas F_2 estava sendo afetado pelo testador ou, provavelmente, pela interação epistasia x testador (Tabela 2.3). Diferenças significativas foram detectadas para a fonte de variação plantas F_2 por testador para PG, PROL e ACQ, indicando a ocorrência da interação epistasia por testador, ou seja, a detecção da epistasia a partir dos testecrosses referentes às plantas F_2 não foi consistente nos diferentes testadores (Tabela 2.5). A presença da interação epistasia por testador

foi observada por Eta-Ndu e Openshaw (1999) que utilizando o TTC com testadores, verificaram variações na expressão da epistasia para diferentes testadores. Bauman (1959) e Gorsline (1961) analisando médias de híbridos simples e de seus respectivos híbridos duplos e triplos verificaram também a presença dessa interação.

O número total de plantas F_2 com efeitos epistáticos significativos, identificadas nos dois grupos de testecrosses (TC1 e TC2), para PG, PROL e ACQ foram 23, 21 e 15 plantas, respectivamente. Em 10 plantas F_2 foram identificados, simultaneamente, efeitos epistáticos significativos para produção de grãos e prolificidade, ou seja, houve uma coincidência de 23% de plantas em que a epistasia foi detectada para ambos caracteres (Tabela 2.3). Esse resultado sugere que genes com efeitos epistáticos que afetam a prolificidade podem estar afetando também a produção de grãos, ou seja, há indícios da ocorrência de epistasia pleiotrópica (WOLF et al., 2005), uma vez que a prolificidade é um dos principais componentes de produção, sendo altamente correlacionada com a produção de grãos (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988). No entanto, foi observada uma baixa coincidência entre plantas com epistasia significativa para os caracteres PG e ACQ, o mesmo sendo observado para PROL e ACQ.

Para cada caráter, foram estimados os coeficientes de correlação entre as médias gerais dos testecrosses provenientes dos retrocruzamentos das plantas F_2 com as linhagens parentais L-08-05 (G_{RC1}) e L-38-05D (G_{RC2}) e os respectivos efeitos epistáticos estimados nos testecrosses referentes às plantas F_2 . Os testecrosses provenientes dos retrocruzamentos das plantas F_2 com a geração F_1 das linhagens parentais (G_{RC3}) não foram considerados, pelo fato dessa população de retrocruzamento não ser normalmente utilizada pelos programas de melhoramento para o desenvolvimento de cultivares. As magnitudes das estimativas dos coeficientes de correlação foram pequenas para todos os caracteres (Anexo C), indicando uma baixa associação entre os efeitos epistáticos e os desempenhos dos testecrosses. Resultados semelhantes foram reportados por Eta-Ndu e Openshaw (1999) que utilizando o TTC com dois testadores em duas populações, não encontraram associação entre os efeitos epistáticos estimados e a produção de grãos dos testecrosses provenientes da geração F_3 e das três gerações de retrocruzamento do TTC (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}). Velásquez et al. (2008) utilizando a análise de médias de gerações para estudar os efeitos gênicos envolvidos na herança de vários caracteres de milho em solos ácido e não ácido,

não encontraram também uma relação entre os efeitos epistáticos e a produção de grãos dos híbridos simples avaliados.

Tabela 2.3 – Plantas F₂ apresentando valores epistáticos significativos para produção de grãos (PG), prolificidade (PROL) e acamamento e quebramento de plantas (ACQ), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2)

Planta F ₂	PG (t ha ⁻¹)		Planta F ₂	PROL (espigas planta ⁻¹)		Planta F ₂	ACQ (%) ^b	
	TC1	TC2		TC1	TC2		TC1	TC2
4	-1,57**	-0,08	8	-0,08	0,11*	12	0,73	2,03*
11	-0,16	1,28**	13	0,16**	0,06	34	0,00	-2,67**
14	-1,26*	0,54	28	0,05	0,11*	36	0,00	-2,39**
29	0,69	1,12*	38	-0,08	-0,14**	37	0,00	3,00**
33	0,15	1,05*	44	0,17**	0,11	58	0,20	2,67**
39	-1,21*	-0,80	45	0,10*	0,40**	59	1,93*	0,00
44	1,57**	0,89	48	0,16**	0,05	65	0,00	3,54**
45	0,11	2,30**	49	0,18**	0,09	67	2,81**	0,00
46	0,82	1,12*	64	-0,02	0,14**	69	-3,15**	0,00
48	1,39*	-0,03	65	-0,01	-0,13**	81	-1,69*	0,75
49	1,28*	-0,10	78	-0,16**	0,14**	88	0,00	2,20*
59	-1,36*	1,29**	79	-0,11*	0,07	90	0,00	2,46**
70	-1,17	1,43**	88	-0,04	-0,11*	92	-4,20**	0,00
74	-1,32*	0,40	92	0,12*	0,09	100	0,00	-2,12*
75	0,18	-1,44**	93	0,03	0,12*	111	-2,39*	0,00
78	-2,10**	1,45**	95	0,10	0,18**			
79	-1,90**	1,13*	97	-0,12*	0,19**			
82	-0,01	1,02*	99	0,03	0,15**			
97	-1,67**	0,98	100	-0,01	0,15**			
100	0,24	1,05*	101	-0,05	0,12*			
101	-0,52	1,58**	104	-0,03	0,16**			
104	-0,40	1,46**						
108	-1,23*	0,17						

*, ** significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste *t*; ^b Valores na escala original (não transformados).

Tabela 2.4 – Médias ($\bar{x}$), intervalos de confiança (IC) ^a e intervalos de variação (IV) ^b para produção de grãos (PG), prolificidade (PROL) e acamamento e quebramento de plantas (ACQ) nas três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}) para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2), avaliados em diversos ambientes

Caráter		TC1			TC2		
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}
PG (t ha ⁻¹)	$\bar{x}$	7,69	7,86	7,87	7,13	7,52	7,21
	IC	6,37; 9,01	6,54; 9,18	6,55; 9,19	5,57; 8,68	5,97; 9,08	5,66; 8,76
	IV	5,99; 8,73	5,81; 8,76	5,96; 8,80	5,82; 7,88	6,31; 8,50	6,05; 8,20
PROL (espigas planta ⁻¹)	$\bar{x}$	0,84	0,86	0,85	0,89	0,93	0,89
	IC	0,76; 0,92	0,78; 0,94	0,77; 0,93	0,79; 1,00	0,82; 1,03	0,79; 1,00
	IV	0,72; 0,93	0,72; 0,92	0,73; 0,93	0,77; 0,98	0,82; 0,99	0,73; 0,97
ACQ (%)	$\bar{x}$	2,43	1,98	2,21	2,57	2,11	2,30
	IC	0,80; 4,06	0,35; 3,61	0,58; 3,84	1,19; 3,95	0,73; 3,50	0,92; 3,69
	IV	1,51; 3,60	1,14; 3,03	1,36; 3,19	1,74; 3,52	1,20; 3,22	1,29; 3,28

^a Intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade; ^b Intervalo de variação (valor mínimo; valor máximo).

Tabela 2.5 – Quadrados médios (QM) e respectivas significâncias (teste F) da análise de variância para detectar a interação epistasia x testador para os caracteres produção de grãos (PG), prolificidade (PROL), acamamento e quebramento de plantas (ACQ), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D e L-04-05F

FV	GL	QM		
		PG (t ha ⁻¹)	PROL ^a (espigas planta ⁻¹)	ACQ (%)
Plantas F ₂ x Testador ^b	99	5,47**	4,98**	4,70*
Erro	891 (693) ^c	2,54	2,85	3,54

^a QM multiplicados por 10²; *, ** significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste F ; ^b Interação entre os efeitos epistáticos dos testecrosses referentes às plantas F₂ x testadores; ^c Grau de liberdade para o caráter ACQ.

2.3 Considerações Finais

Os resultados mostraram ampla variabilidade genética na população oriunda do cruzamento L-08-05F x L-38-05D para os caracteres estudados. A presença da epistasia foi detectada para produção de grãos, prolificidade em ambos testecrosses (TC1 e TC2), enquanto que para acamamento e quebramento a epistasia foi verificada apenas nos TC2, sendo essa

epistasia do tipo aditiva x aditiva (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999). A interação epistasia por ambientes não foi observada para nenhum caráter em ambos testecrosses, mostrando que as expressões dos efeitos epistáticos foram consistentes nos diferentes ambientes. Entretanto, a interação epistasia por testador foi verificada para todos os caracteres, indicando que a expressão da epistasia se comporta de maneira diferencial nos dois testadores. Além da epistasia, e de sua interação com testadores, foi verificado a presença de desequilíbrio de ligação na população para os caracteres PG e PROL.

O envolvimento da epistasia na herança dos caracteres produção de grãos, prolificidade e acamamento e quebramento pode ocasionar vieses nas estimativas da variância genética aditiva dos testecrosses e coeficientes de herdabilidade para esses caracteres nos TC1 e TC2, caso a epistasia não seja considerada no modelo genético (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999).

Além disso, a presença da epistasia pode ter importantes consequências no sucesso de detecção, introgressão e caracterização de genes ou regiões contendo genes (QTL) que controlam os caracteres quantitativos, pois o efeito de um gene ou QTL envolvido na variação desses caracteres pode ser alterado por suas interações epistáticas com outros genes ou QTL. Em vários estudos de mapeamento de QTL tem sido detectado epistasia entre QTL para diversos caracteres (ROBERTSON-HOYTA et al., 2006; CAUSSE et al., 2007; MOREIRA et al., 2009). Segundo Purcell e Sham (2004), como os efeitos epistáticos são parcialmente confundidos com os efeitos aditivos e de dominância, a análise considerando apenas os efeitos individuais dos locos, pode resultar na detecção de QTL que não tenham apenas efeito principal, mas que interagem epistaticamente com outros QTL. Isso poderia restringir a resposta à seleção por meio da seleção assistida por marcadores (LIU et al., 2003) e também dificultaria o isolamento desse QTL. Além disso, quando as interações epistáticas são ignoradas nesses estudos de mapeamento, vieses são gerados nas estimativas dos efeitos dos QTL individuais.

Lamkey; Schnicker e Melchinger (1995) comentam que a presença de epistasia em linhagens elites de milho não deveria afetar significativamente as estratégias dos programas de melhoramento de híbridos comerciais, já que o avanço da endogamia durante o processo de obtenção das linhagens é realizado simultaneamente com a avaliação dos híbridos provenientes dessas linhagens, por meio dos testecrosses. Assim, combinações epistáticas favoráveis poderiam ser fixadas no processo final de obtenção dessas linhagens, as quais teriam boa capacidade específica de combinação.

O envolvimento de interações epistáticas na herança de caracteres complexos, como produção de grãos, pode ser um dos motivos da baixa correlação entre a expressão desses caracteres nas linhagens e nos híbridos produzidos a partir delas, tornando-se necessário a seleção das linhagens a partir de seus testecrosses (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988). No entanto, os resultados obtidos indicaram, além da epistasia, a presença de interação epistasia x testadores para todos os caracteres. A presença de interação epistasia x testador indica que os testadores utilizados durante a avaliação dos testecrosses influenciaram na expressão dos efeitos epistáticos. Esses resultados sugerem que as combinações epistáticas favoráveis presentes nos testecrosses provenientes de uma linhagem testadora, não necessariamente continuaram sendo expressas nos testecrosses oriundos de outras linhagens testadoras e vice-versa. Assim, a utilização de diferentes testadores, de um grupo heterótico, em uma população base, de outro grupo heterótico, seria importante para maximizar a expressão da capacidade específica de combinação nos testecrosses produzidos dos cruzamentos entre os testadores e as linhagens provenientes da população base. Dessa forma, os testadores seriam usados para selecionar linhagens com base na sua boa capacidade específica de combinação, a qual pode ser resultante da expressão de efeitos epistáticos favoráveis específicos da combinação testador x linhagem, além da dominância (SPRAGUE; TATUM, 1942).

A presença de variações significativas atribuídas à epistasia tem considerável relação sobre o desenvolvimento de híbridos e seus procedimentos de avaliação. A detecção de epistasia para PG, PROL e ACQ na população originada do cruzamento L-08-05F x L-38-05D indica que complexos gênicos epistáticos podem ocupar papel fundamental no bom desempenho desse híbrido simples (AGUIAR et al., 2003). A produção de híbridos triplos e duplos a partir de híbridos simples fornece uma oportunidade para haver recombinação gênica nos híbridos simples parentais, conseqüentemente, haveria a dissolução de complexos gênicos epistáticos importantes. Em casos de combinações de cruzamento fortemente influenciados pela epistasia nos híbridos simples, o procedimento de avaliação e predição dos híbridos duplos e triplos a partir dos simples torna-se mais complicado, havendo a necessidade de um teste em campo para verificar o desempenho dos híbridos duplos e triplos (STUBER; MOLL, 1971).

Além da presença de epistasia, o desequilíbrio de ligação na população detectado para os caracteres PG e PROL pode também gerar vieses nas estimativas da variância aditiva dos testecrosses, as quais estarão superestimadas, na fase de ligação dos alelos em associação, ou

subestimadas, na fase de repulsão (COMSTOCK; ROBINSON, 1952). No entanto, os efeitos do desequilíbrio de ligação sobre as estimativas dos componentes de variância aditiva e também da variância de dominância podem ser reduzidos ou dissipados após diversas gerações de recombinação da população (SILVA et al., 2004).

Referências

AGUIAR, A.M.; GARCIA, L.A.C.; SILVA, A.R.; SANTOS, M.F.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA JUNIOR, C.L. Combining ability of inbred lines of maize and stability of their respective single-crosses. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 83-89, 2003.

BARONA, M.A.A., COLOMBARI FILHO, J.M; GERALDI, I.O. Epistasia para a produção de grãos em soja. **Bragantia**, Campinas, v.68, n.2, p.313-318, 2009.

BATESON, W. **Mendel's principles of heredity**. Cambridge: Cambridge University Press, 1909. 396 p.

BAUMAN, L.F. Evidence of non-allelic gene interaction in determining yield, ear height, and kernel row number in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 51, p. 531–534, 1959.

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma Press, 2002. 369 p.

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

CAUSSE, M.; CHAIB, J.; LECOMTE, L.; BURET, M.; HOSPITAL, F. Both additivity and epistasis control the genetic variation for fruit quality traits in tomato. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 115, p. 429–442, 2007.

COMSTOCK, R.E.; ROBINSON, H.F. Estimation of average dominance of genes. **Heterosis**, Iowa, p. 494-512, 1952.

ETA-NDU, J.T.; S.J. OPENSHAW. Epistasis for grain yield in two F_2 populations of maize. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 346–352, 1999.

GOMES, L.S.; BRANDÃO, A.M.; BRITO, C.H.; MORAES, D.F.; LOPES, M.T.G. Resistência ao acamamento de plantas e ao quebramento do colmo do milho tropical. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 2, p. 140-145, 2010.

GORSLINE, G.W. Phenotypic epistasis for ten quantitative characters in maize. **Crop Science**, Madison, v. 1, p. 55-58, 1961.

HALLAUER, A.R. History, contribution, and future of quantitative genetics in plant breeding: lessons from maize. **Crop Science**, Madison, v.47, p. 4–19, 2007.

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

HARTLEY, H.O. The use of range in analysis of variance. **Biometrika**, London, v. 37, p. 271–280, 1950.

JOHNSON, W.C.; P. GEPTS. The role of epistasis in controlling seed yield and other agronomic traits in an Andean x Mesoamerican cross of common bean (*Phaseolus vulgaris* L). **Euphytica**, Wageningen, v. 125, p. 69–79, 2002.

KEARSEY, M. J.; JINKS, J. L. A general method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits. I. Theory. **Heredity**, London, v. 23, p. 403–409, 1968.

KELLER, L.F.; WALLER, D.M. Inbreeding effects in wild populations. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v.17, p.230–241, 2002.

KETATA, H., SMITH, E.L.; EDWARDS, L.K.; MCNEW, R.W. Detection of epistasis, additive and dominance variation in winter wheat. **Crop Science**, Madison, v. 16, p 1–4, 1976.

KNAPP, S.J.; STROUP, W.W.; ROSS, W.M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, Madison, v. 25, n.1, p. 192–194, 1985.

KUSTERER, B.; MUMINOVIC, J.; UTZ, H.F.; PIEPHO, H.P.; BARTH, S.; HECKENBERGER, M.; MEYER, R.C.; ALTMANN, T.; MELCHINGER, A.E. Analysis of a triple test cross design with recombinant inbred lines reveals a significant role of epistasis in heterosis for biomass-related traits in Arabidopsis. **Genetics**, Austin, v. 175, p. 2009–2017, 2007.

LAMKEY, K.R.; SCHNICKER, B.J.; MELCHINGER, A E. Epistasis in an elite maize hybrid and choice of generation for inbred line development. **Crop Science**, Madison, v.35, n.5, p.1272–1281, 1995.

LI, Z.K., LUO, L.J.; MEI, H.W.; WANG, D.L.; SHU, Q.Y.; TABIEN, R.; ZHONG, D.B.; YING, C.S.; STANSEL, J.W.; KHUSH, G.S.; PATERSON, A.H. Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice. I. Biomass and grain yield. **Genetics**, Austin, v. 158, p.1737–1753, 2001.

LIMA, M.D.A.; 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**: new strategies in plant improvement, Dordrecht, v. 17, p. 227–239. 2006.

LIU, P.Y.; ZHU, J.; LOU, X.Y.; LU, Y. A method for marker-assisted selection based on QTLs with epistatic effects. **Genetics**, Austin, v. 119, p. 75–86, 2003.

MELCHINGER, A.E.; UTZ, H.F.; PIEPHO, H.P.; ZENG, Z.B.; SCHÖN, C.C. The role of epistasis in the manifestation of heterosis: a systems-oriented approach. **Genetics**, Austin, v. 177, p. 1815–1825, 2007.

MOREIRA, J.U.V; BENTO, D.A.V; SOUZA, A.P.; SOUZA JÚNIOR, C.L. QTL mapping for reaction to phaeosphaeria leaf spot in a tropical maize population. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.119, p. 1361-1369, 2009.

MÔRO, G.V. **Uso da seleção genômica e fenotípica em linhagens para predição de testecrosses em milho**. 2011, 116 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

PURCELL, S.; SHAM, P.C. Epistasis in quantitative trait locus linkage analysis: interaction or main effect? **Behavior Genetics**, New York, v. 34, p. 143–152, 2004.

ROBERTSON-HOYTA, L.A.; JINESB, M.P.; BALINT-KURTIC, P.J.; KLEINSCHMIDT, C.E.; WHITED, D.G.; PAYNEE, G.A.; MARAGOSF, C.M.; MOLNÁRG, T.L.; HOLLAND, J.B. QTL mapping for fusarium ear rot and fumonisin contamination resistance in two maize populations. **Crop Science**, Madison, v. 46, p. 1734-1743, 2006.

SALLEM, M. Y.; ATTA, B.; CHEEMA, A.; MUKHTAR, Z.; HAQ, D. Detection of epistasis and estimation of additive and dominance components of genetic variation using triple test cross analysis in rice (*Oryza sativa* L.). **Caderno de Pesquisa Série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v 17, n 1, p. 37-50, 2005.

SANTOS, M. F. **Mapeamento de QTLs em testecrosses de milho com diferentes testadores e níveis de acidez do solo**. 2008, 167 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SAS INSTITUTE, **Statistical analysis software: SAS 9.1**. 2003. Cary-NC, EUA.

SATTERTHWAITE, F.E. An approximate distribution of estimates of variance components. **Biometrics Bulletin**, Washington, v. 2, p. 110-114, 1946.

SEARLE, R.S.; CASELLA, G.; MCCULLOCH, C.E. **Variance components**. New York: John Wiley & Sons, 1992. 501p.

SILVA, A. R.; SOUZA JR., C. L.; AGUIAR, A. M.; SOUZA, A. P. Estimates of genetic variance and level of dominance in a tropical maize population. I. Grain yield and plant traits. **Maydica**, Bergamo, v. 49, p. 65-71, 2004.

SOFI, P.A.; RATHER, A.G.; VENKATESH, S. Triple test cross analysis in maize (*Zea mays* L.). **Indian Journal Crop Science**, Meerut, v. 1, p. 191-193, 2006.

SOOD, S.; KALIA, N.R.; BHATERIA, S.; KUMAR, S. Detection of genetic components of variation for some biometrical traits in *Linum usitatissimum* L. in sub-mountain Himalayan region. **Euphytica**, Wageningen, v. 155, p. 107-115, 2007.

SPRAGUE, G.F.; TATUM, L.A. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, Washington, v. 34, n. 10, p. 923-932, 1942.

STUBER, C.W.; MOLL, R.H. Epistasis in maize (*Zea mays* L.). II: Comparison of selected with unselected populations. **Genetics**, Austin, v. 67, p. 137–149, 1971.

VELÁSQUEZ, J.C.P.; SOUZA JUNIOR, C.L.; NARRO, L.A.; PANDEY, S.; DE LEON, C. Genetic effects for maize traits in acid and non-acid soils. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 31, p. 89-97, 2008.

WOLF, J.B.; LEAMY, L.J.; ROUTMAN, E.J.; CHEVERUD, J.M. Epistatic pleiotropy and the genetic architecture of covariation within early and late-developing skull trait complexes in mice. **Genetics**, Austin, v. 171, p. 683–694, 2005.

WOLF, P.; HALLAUER, A.R. Triple testcross analysis to detect epistasis in maize. **Crop Science**, Madison, v.37, p.763-770, 1997.

3 EPISTASIA EM TESTECROSSES DE MILHO II: CARACTERES DE FLORESCIMENTO E ESTATURA DA PLANTA

Resumo

A epistasia tem sido desconsiderada nos modelos usados para estimar os componentes da variância genética, mas na sua presença as estimativas da variância aditiva e de dominância, coeficientes de herdabilidade e respostas esperadas com a seleção estão viesadas. Os objetivos deste estudo foram: (i) verificar se a epistasia está envolvida na herança dos caracteres florescimento masculino e feminino, intervalo entre florescimentos, altura de planta e espiga e posição relativa da espiga; e (ii) verificar se há interação da epistasia com ambientes e testadores. A partir do delineamento *triple test cross*, uma população de 100 progênies $F_{2,3}$ obtida do cruzamento das linhagens endogâmicas L-08-05F e L-38-05D foram retrocruzadas com as linhagens parentais e sua geração F_1 obtendo-se 300 progênies de retrocruzamento. Essas progênies foram cruzadas com as linhagens testadoras L-02-03D e L-04-05F. Os testecrosses obtidos foram avaliados em dez ambientes no município de Piracicaba, SP, em delineamento α -látice no esquema fatorial com duas repetições por ambientes. Os caracteres avaliados foram florescimento masculino (FM) e feminino (FF), intervalo entre florescimentos (IF), altura de planta (AP) e espiga (AE) e posição relativa da espiga (PRE). Foram detectadas diferenças altamente significativas entre os testecrosses referentes às plantas F_2 para todos os caracteres em ambos testadores, indicando ampla variabilidade genética nas populações de testecrosses. A epistasia e interação epistasia x testadores foram significativas para todos os caracteres, enquanto que a interação epistasia x ambientes não foi significativa para nenhum caráter. Cada testador detectou efeitos epistáticos em diferentes grupos de plantas F_2 , sendo esses efeitos não direcionais para todos os caracteres avaliados. A presença de desequilíbrio de ligação na população foi verificada para todos os caracteres. As estimativas dos componentes de variância e dos coeficientes de herdabilidade diferiram significativamente de zero para todos os caracteres em ambos testecrosses. Os resultados sugerem que as estimativas da variância aditiva e coeficientes de herdabilidade estão viesados pela epistasia e pelo desequilíbrio de ligação, sendo esses vieses de dimensões desconhecidas.

Palavras-chave: *Zea mays*; *Triple test cross*; Epistasia; Florescimento; Estatura; Testecrosses

Abstract

Most of the genetic models designed to estimate genetic variance components have assumed the assumption that epistasis is absent, but in its presence the estimates of additive and dominance variances, heritability coefficients and selection responses would be biased. The objectives of this study were: (i) to verify if epistasis is involved in the inheritance of days to anthesis and silk emergence, anthesis-silking interval, plant and ear heights and ear placement; and (ii) to investigate if epistasis interacts with environments and testers. The triple test cross design was used and a population of 100 $F_{2,3}$ progenies from the cross of inbred lines L-08-05F and L-38-05D were backcrossed to the parental lines and to their F_1 . The 300 backcrossed progenies were testcrossed to the inbred lines L-02-03D and L-04-05F. The testcrosses were grown at ten environments in Piracicaba, SP, in an α -lattice design on a factorial scheme with two replications per environment. The traits recorded were days to anthesis (DA) and to silk emergence (SE), anthesis-silking interval (ASI), plant height (PH) and ear height (EH) and ear placement (EP). Significant differences among testcrosses of F_2 plants for all traits suggested the presence of genetic variability in both testcrosses. Epistasis and epistasis by tester interaction was observed for all traits, but epistasis by environment interaction was not significant for all traits. Each tester detected epistasis in different groups of F_2 plants, and the epistatic effects were not unidirectional for all traits. The presence of linkage disequilibrium in the population was detected for all traits. All estimates of variance components and heritability coefficients differed significantly from zero. The results suggested that the estimates of additive variance and heritability coefficients are biased to an unknown extent by epistasis and linkage disequilibrium.

Keywords: *Zea mays*; Triple test cross; Epistasis; Flowering; Stature traits; Testcrosses

3.1 Introdução

A maioria dos modelos genético-estatísticos usados para estudar a herança dos caracteres quantitativos considera apenas os efeitos genéticos aditivos e de dominância, assumindo ausência da epistasia, mesmo que as análises não forneçam testes para tal suposição (KEARSEY; JINKS, 1968). Stuber e Moll (1971) comentaram que, embora essa suposição possa ser razoável para algumas populações e caracteres, é improvável a ausência de interações não alélicas em um sistema genético associado a um caráter quantitativo. A presença da epistasia tem sido relatada para alguns caracteres quantitativos em milho (WOLF; HALLAUER, 1997; ETA-NDU; OPENSHAW, 1999; SOFI; RATHER; VENKATESH, 2006b). Na presença de epistasia, as estimativas dos componentes da variância aditiva e de dominância estão viesadas resultando, conseqüentemente, em imprecisões nas estimativas de parâmetros genéticos importantes como o coeficiente de herdabilidade e a resposta esperada com a seleção (SOFI; RATHER; WARSI, 2007).

Nos estudos de epistasia, algumas metodologias têm sido utilizadas para detectá-la, como a análise das médias de gerações (MATHER, 1949). Porém, nessa análise, os efeitos genéticos aditivos, de dominância e epistáticos que compõem o modelo não são testados de forma independente, impedindo a interpretação individual de cada efeito. Além disso, como essa análise é realizada com base em médias, os efeitos gênicos podem estar presentes, mas se não forem unidirecionais, o efeito final pode ser pequeno ou nulo. Uma metodologia que vem sendo bastante utilizado para estudar a epistasia e, conseqüentemente, a arquitetura genética dos caracteres é o delineamento *triple test cross* (TTC) desenvolvido por Kearsey e Jinks (1968). O delineamento *triple test cross* é uma extensão do delineamento III de Comstock e Robinson (1952), em que além de se avaliar progênies de retrocruzamentos para as linhagens parentais, inclui também, o retrocruzamento para a geração F_1 destas. A análise TTC fornece um teste independente para epistasia, sendo esta testada de forma precisa, independente da frequência alélica, número de locos, endogamia e ocorrência de desequilíbrio de ligação na população. A vantagem desse método é que na ausência de epistasia, estimativas não viesadas das variâncias aditiva e de dominância são obtidas.

Em milho, a análise TTC original de Kearsey e Jinks (1968) utilizando dados de desempenho *per se* das progênies obtidas dos três retrocruzamentos tem sido utilizada. Porém, modificações deste delineamento têm sido propostas tanto para dados de desempenho *per se* das progênies (KETATA et al., 1976) quanto para testecrosses (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999). Na modificação proposta por Eta-Ndu e Openshaw (1999) as progênies de retrocruzamento do TTC são cruzadas com testadores para obtenção dos testecrosses, permitindo obter informações a respeito da importância da epistasia no desempenho desses testecrosses, os quais se tem interesse nos programas de melhoramento de híbridos. No entanto, tem sido reportado na literatura o uso do TTC com testecrosses apenas para o caráter produção de grãos em milho (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999), não havendo nenhum relato da sua utilização para detectar epistasia em outros caracteres em milho. Assim, os objetivos deste estudo foram: (i) verificar se a epistasia está presente na expressão dos caracteres florescimento masculino (FM), feminino (FF) e intervalo entre florescimentos (IF), altura de planta (AP), de espiga (AE) e posição relativa da espiga (PRE) em testecrosses; (ii) estimar os efeitos epistáticos em cada planta F_2 para estes caracteres; e (iii) verificar se há interação da epistasia com ambientes e testadores.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e Métodos

3.2.1.1 Material genético

A população utilizada neste estudo foi obtida do cruzamento entre as linhagens endogâmicas L-08-05F e L-38-05D, as quais pertencem a grupos heteróticos distintos. A linhagem L-08-05F apresenta grãos duros de coloração alaranjada e foi extraída da população IG-1. A linhagem L-38-05D apresenta grãos amarelos dentados e foi extraída de um híbrido simples (AGUIAR et al., 2003). As plantas da geração F_1 foram autofecundadas para obter uma população F_2 e, posteriormente, uma amostra de 100 plantas foi autofecundada para dar origem a 100 progênies $F_{2,3}$, as quais, foram retrocruzadas com as linhagens parentais L-08-05F e L-38-05D e sua geração F_1 , dando origem a 300 progênies de retrocruzamento, segundo o delineamento TTC (KEARSEY; JINKS, 1968). Os retrocruzamentos foram realizados no ano agrícola 2007/2008 em três lotes isolados de despendoamento, em que as progênies $F_{2,3}$ foram utilizadas como fêmeas e as duas linhagens parentais e a F_1 como macho conforme apresentado no capítulo 2.

No inverno de 2008, as 300 progênies de retrocruzamento foram cruzadas com dois testadores (L-02-03D e L-04-05F) conforme proposto por Eta-Ndu e Openshaw (1999), obtendo-se assim 300 testecrosses com a linhagem endogâmica L-02-03D (TC1) e 300 testecrosses com a linhagem endogâmica L-04-05F (TC2). A linhagem L-04-05F apresenta grãos duros de coloração alaranjada e foi extraída da população IG-1 e a linhagem L-02-03D apresenta grãos amarelos dentados e foi extraída da população IG-2. Essas duas linhagens são consideradas genótipos elites e pertencem a grupos heteróticos distintos (SANTOS, 2008). Os cruzamentos foram realizados em dois lotes isolados, de maneira análoga à apresentada no capítulo 2, em que as progênies de retrocruzamento foram utilizadas como fêmeas e as linhagens testadoras como machos, obtendo-se assim 600 testecrosses.

3.2.1.2 Procedimento experimental

Os testecrosses foram avaliados nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, em diferentes épocas de semeadura, nas Estações Experimentais Anhembi, Areão e Caterpillar, pertencentes ao Departamento de Genética da ESALQ/USP e localizadas no município de Piracicaba, São Paulo, apresentando estas, diferentes tipos de solos (Anexo A). Cada combinação local x época de semeadura x ano agrícola foi considerada como um ambiente distinto. Os testecrosses foram avaliados em 10 ambientes para os caracteres de estatura da planta e em oito ambientes para os caracteres de florescimento. Os 300 testecrosses provenientes de cada testador foram plantados em experimentos separados, porém em áreas adjacentes no mesmo ambiente. O delineamento experimental utilizado foi o α -látice 15×20 no esquema fatorial com duas repetições por ambiente, conforme apresentado no capítulo 2. Cada parcela foi constituída de uma linha de 4 m semeadas com 40 sementes restando, após o desbaste, 20 plantas em cada parcela. O espaçamento entre plantas foi de 0,20 m e de 0,80 m entre parcelas, correspondendo a uma população de 62.500 plantas ha^{-1} . Os caracteres analisados foram: florescimento masculino e feminino (FM e FF, em dias), obtidos pelo número de dias do plantio a 50% das plantas por parcela em antese e com estilo estigma visível, respectivamente; intervalo entre florescimentos ($IF = FF - FM$); altura da planta e da espiga (AP e AE, em cm planta⁻¹), obtidas da média de cinco plantas competitivas da parcela e mensuradas, respectivamente, a partir do nível do solo à altura da folha bandeira e do nível do solo à inserção da espiga principal; e posição relativa da espiga ($PRE = AE/AP$).

3.2.1.3 Análises de variância

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o PROC GLM do SAS (SAS INSTITUTE, 2003). A normalidade dos resíduos foi testada pelo teste de *Shapiro – Wilk* antes de proceder cada análise. As análises de variância individuais foram realizadas para cada experimento em cada ambiente. O teste de *Hartley* foi utilizado e detectou-se homogeneidade das variâncias dos resíduos entre ambientes para todos os caracteres em ambos testadores e foram realizadas as análises conjuntas utilizando as médias ajustadas e os quadrados médios dos erros efetivos de cada experimento, considerando o modelo apresentado no capítulo 2 (eq. 1), em que o

efeito de gerações de retrocruzamento foi fixo e os demais aleatórios. O teste F aproximado por Satterthwaite (1946) foi utilizado para testar testecrosses referentes às gerações de retrocruzamento (Anexo B). Os componentes da variância dos testecrosses foram estimados para cada caráter e testador com base nas esperanças matemáticas dos quadrados médios da análise conjunta, de acordo com os procedimentos sugeridos por Searle; Casela e MacCulloch (1992). Foram estimados os seguintes componentes da variância: $\hat{\sigma}_{TC}^2 = (QM_P - QM_{PxE})/rgl$, $\hat{\sigma}_{TCxE}^2 = (QM_{PxE} - QM_{Erro})/rg$ e $\hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2 = QM_P/rgl$, em que $\hat{\sigma}_{TC}^2$ é a variância genética de testecrosses referentes às plantas F_2 , $\hat{\sigma}_{TCxE}^2$ é a variância da interação testecrosses referentes às plantas F_2 x ambientes, $\hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2$ é a variância fenotípica com base em médias de testecrosses referentes às plantas F_2 , QM_P é o quadrado médio da fonte de variação testecrosses referentes às plantas F_2 , QM_{PxE} é o quadrado médio da fonte de variação da interação plantas F_2 x ambientes, QM_{Erro} é o quadrado médio do erro efetivo, r é o número de repetições, g é o número de gerações de retrocruzamento e l o número de ambientes. As estimativas da variância aditiva de testecrosses referentes às plantas F_2 e suas interações com ambientes foram obtidas segundo Hallauer e Miranda Filho (1988) da seguinte forma: $\hat{\sigma}_{A_{TC}}^2 = 4\hat{\sigma}_{TC}^2$, em que $\hat{\sigma}_{A_{TC}}^2$ é a variância aditiva de testecrosses; $\hat{\sigma}_{A_{TC}xE}^2 = 4\hat{\sigma}_{TCxE}^2$, em que $\hat{\sigma}_{A_{TC}xE}^2$ é a variância da interação aditiva de testecrosses x ambientes. Os coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses ($\hat{h}_{\bar{x}_{TC}}^2 = \hat{\sigma}_{TC}^2 / \hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2$) foram estimados para cada testador. Os intervalos de confiança dos componentes da variância e dos coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses foram calculados a 0,95 de probabilidade, seguindo os procedimentos descritos por Burdick e Graybill (1992) e Knapp; Stroup e Ross (1985), respectivamente. Os intervalos de confiança foram utilizados na comparação das estimativas dos componentes da variância e dos coeficientes de herdabilidade, sendo que as estimativas obtidas foram consideradas diferentes ($P \leq 0,05$) entre si, somente quando uma estimativa não estivesse dentro do intervalo de confiança da outra e vice-versa.

3.2.1.4 Detecção da epistasia e interação epistasia x testador

O teste de *Hartley* foi também utilizado e indicou homogeneidade das variâncias dos resíduos entre as gerações de retrocruzamento para todos os caracteres em ambos testadores. Assim, foi utilizada a estimativa da variância do erro efetivo da análise conjunta para detectar a epistasia nos testecrosses para cada caráter e testador conforme sugerido por Eta-Ndu e Openshaw (1999), baseando no contraste $I_i = G_{RC_{1i}} + G_{RC_{2i}} - 2G_{RC_{3i}}$, em que, I_i é o efeito epistático no testecross referente à i -ésima planta F_2 que difere de zero, na presença de epistasia; $G_{RC_{1i}}$ é a média do testecross referente à i -ésima planta F_2 na geração de retrocruzamento 1 (parental L-08-05F); $G_{RC_{2i}}$ é a média do testecross referente à i -ésima planta F_2 na geração de retrocruzamento 2 (parental L-38-05D); e $G_{RC_{3i}}$ é a média do testecross referente à i -ésima planta F_2 na geração de retrocruzamento 3 (geração F_1 das linhagens parentais), sendo $i = 1, \dots, 100$. Nessa modificação do TTC para dados de testecrosses apenas a epistasia do tipo aditiva x aditiva pode ser detectada, uma vez que a variância genética de testecrosses contém apenas a variância aditiva (BERNARDO, 2002).

A presença da epistasia e suas interações com os ambientes foram testadas na análise de variância do delineamento TTC através da decomposição das fontes de variação gerações de retrocruzamento (G_{RC}), plantas F_2 x gerações ($P \times G_{RC}$), gerações x ambientes ($G_{RC} \times A$) e plantas F_2 x gerações x ambientes ($P \times G_{RC} \times A$). A fonte de variação (G_{RC}) foi decomposta em dois contrastes ortogonais, sendo um deles ($G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3}$) que testa o valor médio desse contraste (efeito epistático médio). A fonte de variação ($P \times G_{RC}$) foi decomposta em duas outras fontes, sendo uma delas a interação [$P \times (G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3})$] que testa a variação do contraste (efeito epistático) entre as plantas F_2 . A soma das somas de quadrados das fontes de variação ($G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3}$) e [$P \times (G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3})$] foram calculadas para obter a soma de quadrados da epistasia total (SQI), que corresponde a expressão envolvendo o contraste (I_i) apresentado por Eta-Ndu e Openshaw (1999). As interações [$(G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3}) \times A$] e [$P \times (G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3}) \times A$] foram obtidas da decomposição das fontes de variação

$(G_{RC} \times A)$ e $(P \times G_{RC} \times A)$, respectivamente, e foram somadas para testar a interação epistasia total x ambientes.

O teste F para epistasia na população foi realizado da seguinte forma: $F_{(GL_{Epistasia\ Total}, GL_{Erro})} = QM_{Epistasia\ Total} / QM_{Erro}$, em que $QM_{Epistasia\ Total} = SQI/n$ é o quadrado médio da epistasia total, sendo SQI a soma de quadrados da epistasia total, n é o número de graus de liberdade, correspondendo ao número de plantas F_2 e QM_{Erro} é o quadrado médio do erro efetivo, que foi considerado uma vez que o quadrado médio da interação epistasia x ambientes não diferiu de zero. Além disso, o teste t foi utilizado para testar a epistasia em cada planta F_2 da seguinte maneira: $t_i = |G_{RC_{1i}} + G_{RC_{2i}} - 2G_{RC_{3i}}| / \sqrt{(6QM_{Erro})/rl}$ em que, o numerador do teste t é o valor, em módulo, do contraste, ou seja, refere-se à contribuição epistática do testecross referente à i -ésima planta F_2 ($i=1, \dots, 100$), r é o número de repetições e l o número de ambientes, sendo t_i o teste t bi-caudal para a i -ésima planta F_2 .

Para testar a interação epistasia x testadores para cada caráter, foram realizadas análises de variâncias considerando o modelo descrito no capítulo 2 (eq. 12), em que o efeito de testador foi considerado como fixo e os demais aleatórios. O teste F para testar a interação epistasia x testadores foi realizado da seguinte forma: $F_{(GL_{PxT}, GL_{Re\ síduo})} = QM_{PxT} / QM_{Re\ síduo}$, em que QM_{PxT} é o quadrado médio da interação testecrosses referente às plantas F_2 x testadores e, corresponde à interação epistasia x testadores; $QM_{Re\ síduo}$ é o quadrado médio da interação plantas F_2 x testadores x ambientes e corresponde à interação epistasia x testadores x ambientes, sendo o erro do modelo; GL_{PxT} é o grau de liberdade associado ao quadrado médio da interação plantas F_2 x testadores; $GL_{Re\ síduo}$ é o grau de liberdade associado ao quadrado médio da interação plantas F_2 x testadores x ambientes, ou seja, o grau de liberdade associado ao quadrado médio do erro.

3.2.2 Resultados e Discussão

3.2.2.1 Análises de variância e médias

Nas análises de variância conjunta foram detectadas diferenças altamente significativas ($P \leq 0,01$) entre testecrosses referentes às plantas F_2 para todos os caracteres em ambos testadores, indicando ampla variabilidade genética na população. As fontes de variação ambientes e interação plantas F_2 por ambientes foram altamente significativas ($P \leq 0,01$) para todos os caracteres nos testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2), indicando, respectivamente, diferenças entre os ambientes e comportamento diferencial dos testecrosses referentes às plantas F_2 entre os ambientes. Diferenças entre as gerações de retrocruzamento foram observadas para todos os caracteres, exceto para FF (TC1) e AP (TC2). A fonte de variação gerações de retrocruzamento por ambientes só não foi significativa para FF (TC1 e TC2) e AP (TC2), mostrando que a performance das gerações de retrocruzamento não foram consistentes através dos ambientes de avaliação. A interação plantas F_2 por gerações de retrocruzamento foi altamente significativa ($P \leq 0,01$) para todos os caracteres, indicando que os testecrosses referentes às plantas F_2 comportaram-se de forma diferencial nas gerações de retrocruzamento, enquanto que as interações triplas, plantas F_2 por gerações por ambientes, não foram significativas para nenhum caráter, indicando que a performance dos testecrosses referentes às plantas F_2 nos retrocruzamentos se mantiveram através dos ambientes (Tabelas 3.1 e 3.2).

Os coeficientes de variação experimental (CV) para FM e FF foram menores que 3%, para IF foram 87,00% e 51,99% para os TC1 e TC2, respectivamente, enquanto que para AP, AE e PRE foram menores que 8%. A baixa magnitude da média geral para IF pode explicar o elevado valor do coeficiente de variação. Os valores de CV estão dentro dos limites observados em experimentação com milho e indicam uma boa precisão experimental (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988; SILVA et al., 2004; LIMA et al., 2006). As médias gerais dos TC1 para os caracteres FM, FF e IF foram 63,72, 64,79 e 1,06 dias, respectivamente, e variaram de 61,68 a 65,96 dias (FM), 63,06 a 66,81 dias (FF) e de 0,11; 2,55 dias (IF), enquanto que para os TC2 as médias gerais foram 62,98, 64,93 e 1,95 dias, respectivamente, e variaram de 61,31 a 64,74 dias

(FM), de 63,13 a 67,02 dias (FF) e de 0,73 a 3,04 dias (IF). Para os caracteres AP, AE e PRE, as médias gerais dos TC1 foram, respectivamente, 206,39 cm, 107,09 cm e 0,51 e variaram de 192,90 a 219,67 cm (AP), de 96,05 a 118,94 cm (AE) e de 0,49 a 0,54 (PRE), enquanto que as médias dos TC2 foram 203,74 cm, 112,90 cm e 0,55, respectivamente e variaram de 193,09 a 216,70 cm (AP), 102,76 a 123,60 cm (AE) e de 0,51 a 0,58 (IF). As médias entre TC1 e TC2 diferiram significativamente entre si ($P \leq 0,05$) para todos os caracteres, exceto para PRE. Comparando os intervalos de variação das médias entre os dois grupos de testecrosses, verificou-se que os TC1 apresentaram maior intervalo de variação para AP, enquanto que os TC2 apresentaram maior intervalo para PRE e para os demais caracteres em ambos testecrosses (TC1 e TC2) os intervalos de variação foram semelhantes (Tabelas 3.1 e 3.2).

Tabela 3.1 – Quadrados médios (QM) e respectivas significâncias (teste F) da análise de variância conjunta seguindo o delineamento *triple test cross* (TTC) para os caracteres florescimento masculino (FM), florescimento feminino (FF) e intervalo entre florescimentos (IF), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) avaliados em diversos ambientes

FV	GL	QM					
		FM (dias)		FF (dias)		IF (dias)	
		TC1	TC2	TC1	TC2	TC1	TC2
Ambientes (A)	7	4.004,00**	5.059,19**	3.844,08**	3.944,34**	260,32**	331,80**
Plantas F ₂ (P)	99	11,27**	11,53**	13,29**	12,50**	3,33**	2,82**
P x A	693	3,51**	3,45**	3,69**	3,65**	1,66**	1,87**
Gerações (G _{RC})	2	124,58**	19,49*	2,59 ^{ns}	54,79**	123,49**	114,84**
G _{RC1} vs G _{RC2}	1	244,21**	24,33 ^{ns}	0,01 ^{ns}	103,32**	246,98**	227,91**
G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3}	1	4,95 ^{ns}	14,65*	5,18 ^{ns}	6,25 ^{ns}	0,01 ^{ns}	1,76 ^{ns}
G _{RC} x A	14	2,94*	3,00**	1,94 ^{ns}	2,69 ^{ns}	3,21**	2,23**
(G _{RC1} vs G _{RC2}) x A	7	3,39*	4,75**	2,91 ^{ns}	4,25**	5,08**	2,48**
(G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3}) x A	7	2,48 ^{ns}	1,24 ^{ns}	0,97 ^{ns}	1,14 ^{ns}	1,34 ^{ns}	1,99 ^{ns}
P x G _{RC}	198	2,07**	3,54**	2,36**	3,61**	1,23**	1,32**
P x (G _{RC1} vs G _{RC2})	99	2,18**	3,74**	2,33**	3,81**	1,37**	1,36*
P x (G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3})	99	1,95 ^{ns}	3,34**	2,39**	3,41**	1,10*	1,27 ^{ns}
P x G _{RC} x A	1386	1,29 ^{ns}	1,37 ^{ns}	1,46 ^{ns}	1,49 ^{ns}	0,88 ^{ns}	1,03 ^{ns}
P x (G _{RC1} vs G _{RC2}) x A	693	1,24 ^{ns}	1,47 ^{ns}	1,47 ^{ns}	1,43 ^{ns}	0,85 ^{ns}	1,01 ^{ns}
P x (G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3}) x A	693	1,35 ^{ns}	1,27 ^{ns}	1,45 ^{ns}	1,56 ^{ns}	0,92 ^{ns}	1,05 ^{ns}
Epistasia	100	1,98*	3,46**	2,42**	3,44**	1,09*	1,28*
Epistasia x A	700	1,36 ^{ns}	1,27 ^{ns}	1,45 ^{ns}	1,55 ^{ns}	0,92 ^{ns}	1,06 ^{ns}
Erro Efetivo Médio	2088	1,58	1,54	1,70	1,76	0,86	1,03
CV (%)		1,97	1,97	2,01	2,04	87,00	51,99
Média Geral		63,72	62,98	64,79	64,93	1,06	1,95
Intervalo de Variação da Média		61,68; 65,96	61,31; 64,74	63,06; 66,81	63,13; 67,02	0,11; 2,55	0,73; 3,04
Intervalo de Confiança da Média (5%)		63,68; 63,76	62,94; 63,02	64,75; 64,83	64,89; 64,97	1,03; 1,09	1,92; 1,98

ns, *, ** não significativo, significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste F , respectivamente.

Tabela 3.2 – Quadrados médios (QM) e respectivas significâncias (teste F) da análise de variância conjunta seguindo o delineamento *triple test cross* (TTC) para os caracteres altura de planta (AP), altura de espiga (AE) e posição relativa da espiga (PRE), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) avaliados em diversos ambientes

FV	GL	QM					
		AP (cm)		AE (cm)		PRE ^a	
		TC1	TC2	TC1	TC2	TC1	TC2
Ambientes (A)	9	666.234,3 ^{**}	625.445,7 ^{**}	409.122,2 ^{**}	432.870,7 ^{**}	12.657,7 ^{**}	12.924,9 ^{**}
Plantas F ₂ (P)	99	1.310,63 ^{**}	972,10 ^{**}	701,50 ^{**}	697,30 ^{**}	39,28 ^{**}	53,39 ^{**}
P x A	891	250,19 ^{**}	251,16 ^{**}	155,68 ^{**}	168,47 ^{**}	11,61 ^{**}	12,87 ^{**}
Gerações (G _{RC})	2	2.230,82 ^{**}	173,55 ^{ns}	1.433,92 ^{**}	1.394,51 ^{**}	44,71 [*]	459,43 ^{**}
G _{RC1} vs G _{RC2}	1	4.163,64 ^{**}	300,85 ^{ns}	2.866,25 ^{**}	2.491,66 ^{**}	77,40 [*]	869,93 ^{**}
G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3}	1	297,99 ^{ns}	46,25 ^{ns}	1,59 ^{ns}	297,36 ^{ns}	12,03 ^{ns}	48,92 ^{ns}
G _{RC} x A	18	215,53 ^{**}	105,74 ^{ns}	121,31 ^{**}	111,31 [*]	11,48 ^{**}	10,43 [*]
(G _{RC1} vs G _{RC2}) x A	9	303,92 ^{**}	65,77 ^{ns}	145,22 ^{**}	86,35 ^{ns}	13,13 ^{**}	9,18 ^{ns}
(G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3}) x A	9	127,13 ^{ns}	145,72 ^{ns}	97,39 ^{ns}	136,27 [*]	9,82 ^{ns}	11,68 [*]
P x G _{RC}	198	136,45 ^{**}	153,09 ^{**}	78,45 ^{**}	120,49 ^{**}	7,71 ^{**}	11,94 ^{**}
P x (G _{RC1} vs G _{RC2})	99	141,81 ^{**}	174,54 ^{**}	80,59 ^{**}	142,70 ^{**}	7,27 [*]	14,15 ^{**}
P x (G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3})	99	131,09 ^{**}	131,64 ^{**}	76,31 [*]	98,28 ^{**}	8,14 ^{**}	9,74 ^{**}
P x G _{RC} x A	1782	59,47 ^{ns}	73,08 ^{ns}	39,82 ^{ns}	50,77 ^{ns}	4,92 ^{ns}	5,20 ^{ns}
P x (G _{RC1} vs G _{RC2}) x A	891	61,85 ^{ns}	76,09 ^{ns}	40,54 ^{ns}	51,89 ^{ns}	4,80 ^{ns}	5,39 ^{ns}
P x (G _{RC1} + G _{RC2} vs 2G _{RC3}) x A	891	57,10 ^{ns}	70,08 ^{ns}	39,11 ^{ns}	49,65 ^{ns}	5,04 ^{ns}	5,02 ^{ns}
Epistasia	100	132,76 ^{**}	130,79 ^{**}	75,56 [*]	100,27 ^{**}	8,18 ^{**}	10,13 ^{**}
Epistasia x A	900	57,80 ^{ns}	70,84 ^{ns}	39,69 ^{ns}	50,52 ^{ns}	5,08 ^{ns}	5,09 ^{ns}
Erro Efetivo Médio	2610	88,99	96,15	59,11	66,68	5,82	6,38
CV (%)		4,57	4,81	7,18	7,23	4,71	4,62
Média Geral		206,39	203,74	107,09	112,90	0,51	0,55
Intervalo de Variação da Média		192,90; 219,67	193,09; 216,70	96,05; 118,94	102,76; 123,60	0,49; 0,54	0,51; 0,58
Intervalo de Confiança da Média (5%)		206,15; 206,63	203,49; 203,99	106,9; 107,28	112,69; 113,11	0,45; 0,57	0,49; 0,61

^a QM multiplicados por 10⁴; ns, *, ** não significativo, significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste F , respectivamente;

3.2.2.2 Estimativas de parâmetros genéticos

Todas as estimativas dos componentes da variância diferiram significativamente de zero ($P \leq 0,05$) para todos os caracteres e testadores, sendo que a variância genética de testecrosses contém apenas a variância aditiva (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999). Não foram observadas diferenças significativas para as estimativas das variâncias aditivas entre os testecrosses provenientes das linhagens testadoras L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2), respectivamente, para os caracteres FM, FF, IF e AE. No entanto, para AP e PRE houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre TC1 e TC2 para a estimativa da variância aditiva, sendo esta maior nos TC1 para o caráter AP e nos TC2 para PRE. Esses resultados já eram esperados, uma vez que os TC1 apresentaram maior intervalo de variação das médias para AP, enquanto que os TC2 apresentaram maior intervalo para PRE e para os outros caracteres, TC1 e TC2 apresentaram intervalos de variação semelhantes. Para todos os caracteres, as estimativas da variância da interação aditiva por ambientes foram significativamente diferentes de zero ($P \leq 0,05$) e superiores às suas respectivas estimativas de variância aditiva, indicando um pronunciado efeito do ambiente na expressão desses caracteres (Tabela 3.3). O elevado efeito da interação genótipos por ambientes pode ter contribuído para reduzir as estimativas da variância aditiva. Wolf; Peterlini e Hallauer (2000) comentaram que as estimativas da variância aditiva podem ser suprimidas na presença de uma elevada interação genótipos x ambientes, a qual tem sido comumente relatada na literatura para esses caracteres (SILVA et al., 2004).

As estimativas dos coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses ($\hat{h}_{\bar{x}_{TC}}^2$) diferiram significativamente de zero ($P \leq 0,05$) para todos os caracteres. Não foram observadas diferenças significativas para as estimativas dos coeficientes de herdabilidade entre TC1 e TC2, exceto para AP, em que o coeficiente de herdabilidade para TC1 foi significativamente superior ao TC2. As estimativas dos coeficientes de herdabilidade variaram de 0,33 para IF (TC2) a 0,81 para AP (TC1). Os maiores coeficientes de herdabilidades foram observados para os caracteres de estatura da planta. Coeficientes de herdabilidade relativamente menores foram observados para FM e FF em ambos testecrosses (TC1 e TC2). Para o caráter IF as estimativas do coeficiente de herdabilidade foram baixas, sendo elas 0,33 e 0,43 para o TC2 e TC1, respectivamente (Tabela 3.3). Resultados semelhantes foram reportados por Wolf;

Peternelli e Hallauer (2000) e Silva et al. (2004) que avaliando progênies de meios-irmãos obtidas do delineamento III, encontraram as maiores estimativas de coeficiente de herdabilidade para os caracteres de estatura da planta, seguidas por estimativas menores para os caracteres de florescimento. As magnitudes das estimativas de coeficiente de herdabilidade obtidas neste estudo são semelhantes às aquelas encontradas por Silva et al. (2004), mas são menores que aquelas relatadas por Wolf; Peternelli e Hallauer (2000). Considerando os caracteres analisados e o número de ambientes de avaliação, esses valores estão de acordo com os reportados na literatura (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988).

Tabela 3.3 – Estimativas das variâncias genéticas de testecrosses ($\hat{\sigma}_{TC}^2$), variâncias da interação testecrosses x ambientes ($\hat{\sigma}_{TCxE}^2$), variâncias fenotípicas com base em médias de testecrosses ($\hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2$), variâncias aditiva de testecrosses ($\hat{\sigma}_{A_{TC}}^2$), variâncias da interação aditiva de testecrosses x ambientes ($\hat{\sigma}_{A_{TC}xE}^2$), coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses ($\hat{h}_{\bar{X}_{TC}}^2$) e seus respectivos intervalos de confiança (entre parêntese) ⁽¹⁾ para florescimento masculino (FM), florescimento feminino (FF), intervalo entre florescimentos (IF), altura de planta (AP), altura de espiga (AE) e posição relativa da espiga (PRE) obtidos para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2)

Estimativas	FM (dias)		FF (dias)		IF (dias)	
	TC1	TC2	TC1	TC2	TC1	TC2
$\hat{\sigma}_{TC}^2$	0,16 (0,11;0,26)	0,17 (0,12;0,26)	0,20 (0,14;0,31)	0,18 (0,13;0,29)	0,03 (0,02;0,07)	0,02 (0,01;0,06)
$\hat{\sigma}_{TCxE}^2$	0,32 (0,27; 0,40)	0,32 (0,26; 0,39)	0,33 (0,27; 0,41)	0,31 (0,26; 0,39)	0,13 (0,11; 0,17)	0,14 (0,11; 0,18)
$\hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2$	0,23 (0,18;0,32)	0,24 (0,18;0,32)	0,28 (0,21;0,37)	0,26 (0,20;0,35)	0,07 (0,05;0,09)	0,06 (0,04;0,08)
$\hat{\sigma}_{A_{TC}}^2$	0,64 (0,44;1,04)	0,68 (0,48;1,04)	0,80 (0,56;1,24)	0,72 (0,52;1,16)	0,12 (0,08;0,28)	0,08 (0,04;0,24)
$\hat{\sigma}_{A_{TC}xE}^2$	1,28 (1,08; 1,60)	1,28 (1,04; 1,56)	1,32 (1,08; 1,64)	1,24 (1,04; 1,56)	0,52 (0,44;0,68)	0,56 (0,44;0,72)
$\hat{h}_{\bar{X}_{TC}}^2$	0,70 (0,57;0,76)	0,71 (0,59;0,77)	0,71 (0,62;0,79)	0,69 (0,60;0,78)	0,43 (0,31;0,62)	0,33 (0,09;0,50)
Estimativas	AP (cm)		AE (cm)		PRE ⁽²⁾	
	L-02-03D	L-04-05F	L-02-03D	L-04-05F	L-02-03D	L-04-05F
$\hat{\sigma}_{TC}^2$	17,67 (12,96;26,06)	12,01 (8,52;18,25)	9,10 (6,60;13,67)	8,81 (6,35;13,40)	0,46 (0,32;0,73)	0,68 (0,49;1,03)
$\hat{\sigma}_{TCxE}^2$	26,87 (23,35; 31,36)	25,83 (22,28; 30,35)	16,10 (13,92; 18,93)	16,96 (14,61; 20,05)	0,96 (0,80; 1,19)	1,08 (0,90; 1,33)
$\hat{\sigma}_{\bar{F}_{TC}}^2$	21,84 (16,84;29,48)	16,20 (12,49;21,86)	11,69 (9,01;15,78)	11,62 (8,96;15,68)	0,65 (0,50;0,88)	0,89 (0,69;1,20)
$\hat{\sigma}_{A_{TC}}^2$	70,68 (51,84;104,24)	48,04 (34,08;73,00)	36,40 (26,40;54,68)	35,24 (25,40;53,60)	1,84 (1,28;2,92)	2,72 (1,96;4,12)
$\hat{\sigma}_{A_{TC}xE}^2$	107,48 (93,40;125,44)	103,32 (89,12;121,40)	64,40 (55,68; 75,72)	67,84 (58,44; 80,20)	3,84 (3,20; 4,76)	4,32 (3,60; 5,32)
$\hat{h}_{\bar{X}_{TC}}^2$	0,81 (0,74;0,86)	0,74 (0,65;0,80)	0,78 (0,70;0,83)	0,76 (0,67;0,82)	0,71 (0,60;0,78)	0,76 (0,67;0,82)

⁽¹⁾ Intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade; ⁽²⁾ Variâncias multiplicadas por 10⁴.

3.2.2.3 Detecção da epistasia

Os quadrados médios para epistasia diferiram significativamente de zero para todos os caracteres avaliados, isto é, para os caracteres florescimento masculino (FM) e feminino (FF), intervalo entre florescimentos (IF), altura de planta (AP) e espiga (AE) e posição relativa da espiga (PRE) nos testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2), indicando a presença da epistasia para todos os caracteres (Tabelas 3.1 e 3.2). O delineamento TTC com testadores foi utilizado somente por Eta-Ndu e Openshaw (1999) para detectar a presença da epistasia em testecrosses de milho, os quais estudaram apenas o caráter produção de grãos de milho e, verificaram a presença da epistasia na herança desse caráter em duas populações e dois testadores.

Utilizando a análise TTC original com dados de desempenho *per se* das progênes de retrocruzamento, Wolf e Hallauer (1997) relataram a presença de epistasia para os caracteres florescimento masculino e feminino, intervalo entre florescimentos, altura de planta e espiga em uma população de milho temperada. Segundo eles, as epistasias do tipo aditiva x aditiva, aditiva x dominante e/ou dominante x dominante estavam envolvidas na expressão dos caracteres altura de espiga, florescimento feminino e intervalo entre florescimentos. Para altura de planta, apenas a epistasia do tipo aditiva x dominante e/ou dominante x dominante estava presente e no florescimento masculino somente a epistasia do tipo aditiva x aditiva.

A presença de epistasia em milho também foi verificada para os caracteres florescimento masculino e feminino, altura de planta e espiga nas análises utilizando médias de gerações (SOFI; RATHER; VENKATESH, 2006a; VELÁSQUEZ et al., 2008). Além do milho, a presença de epistasia tem sido relatada para diversos caracteres de importância agrônômica em várias outras culturas, entre elas, a da soja (BARONA; COLOMBARI FILHO; GERALDI, 2009), arroz (LI et al., 2001), tomate (CAUSSE et al., 2007), entre outras.

A interação epistasia x ambientes não foi significativa para nenhum caráter em ambos testadores. Estes resultados indicam que os efeitos epistáticos não interagiram com os ambientes, ou seja, eles não apresentaram expressão diferencial entre os ambientes (Tabelas 3.1 e 3.2). Wolf e Hallauer (1997) utilizando o método TTC, relataram ausência da interação epistasia aditiva x aditiva por ambientes para os caracteres florescimento masculino e feminino, intervalo entre florescimentos e altura de planta e espiga. No entanto, eles verificaram a presença da interação

aditiva x dominante e/ou dominante x dominante por ambientes para altura de planta e espiga e florescimento feminino. Em linhaça (*Linum usitatissimum*), Sood et al. (2007) utilizando a análise TTC, relataram ausência da interação epistasia por ambientes para diversos caracteres, entre eles, altura de planta, número de ramos primários e secundários por planta, número de cápsulas por planta, número de sementes por cápsula e produção de sementes por planta.

A fonte de variação $[P \times (G_{RC1} \text{ vs } G_{RC2})]$ na análise TTC original de Kearsey e Jinks (1968) corresponde à fonte de variação progênies x testador na análise do delineamento III e informa a variância de dominância na ausência de desequilíbrio de ligação, ou seja, $\hat{\sigma}_{Desvio_{F_2}}^2 = \hat{\sigma}_D^2 + (1/2) \sum_{ij} (1 - 2r_{ij})^2 d_i d_j$ sendo $\sum_{ij} (1 - 2r_{ij})^2 d_i d_j = 0$ na ausência de desequilíbrio, em que $\hat{\sigma}_D^2$ é a estimativa da variância de dominância, r_{ij} é a frequência de recombinação entre os locos i e j e d_i e d_j são os efeitos de dominância dos locos i e j , respectivamente (COMSTOCK; ROBINSON, 1952). No entanto, na análise TTC com testadores, Eta-Ndu e Openshaw (1999) comentaram que a fonte de variação $[P \times (G_{RC1} \text{ vs } G_{RC2})]$ se refere aos desvios da epistasia, sendo estes atribuídos somente ao desequilíbrio de ligação, uma vez que a variância de dominância não está contida na variância de testecrosses, ou seja, $\sigma_D^2 = 0$. Os desvios da epistasia, mensurados pela interação $[P \times (G_{RC1} \text{ vs } G_{RC2})]$ foram significativos para todos os caracteres em ambos testecrosses, indicando a presença de desequilíbrio de ligação na população para esses caracteres (Tabelas 3.1 e 3.2). Esses resultados já eram esperados, uma vez que cruzamentos entre linhagens endogâmicas geram populações em elevado desequilíbrio, quando estas não são submetidas a diversas gerações de recombinação para reduzir este desequilíbrio. Eta-Ndu e Openshaw (1999) utilizando o TTC com testadores, verificaram a presença de desequilíbrio de ligação em duas populações para o caráter produção de grãos.

3.2.2.4 Detecção da epistasia em plantas F_2

Efeitos epistáticos significativos para florescimento masculino (FM) foram detectados em 25 plantas F_2 (25%) considerando os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2), sendo sete detectados somente no TC1 (7%), 16 apenas no TC2 (16%) e dois efeitos detectados em ambos testecrosses (2%). Seis efeitos epistáticos negativos e três positivos

foram detectados nos TC1 para FM e variaram de -2,88 a 2,50 dias, enquanto que nos TC2 foram verificados 12 efeitos epistáticos negativos e seis positivos, os quais variaram de -3,12 a 3,19 dias (Tabela 3.4). Para o caráter florescimento feminino (FF), foram detectados efeitos epistáticos significativos em 27 plantas F_2 (27%), sendo nove detectados somente no TC1 (9%), 16 apenas no TC2 (16%) e dois efeitos detectados em ambos testecrosses (2%). Os efeitos epistáticos variaram de -2,94 a 3,19 dias para TC1, sendo sete efeitos epistáticos negativos e quatro positivos. Para TC2, foram verificados 10 efeitos epistáticos negativos e oito positivos, os quais variaram de -3,06 a 2,25 dias. Foram identificadas 14 plantas F_2 (14%) com efeitos epistáticos significativos para intervalo entre florescimentos (IF) considerando os TC1 e TC2. Destes, seis efeitos foram oriundos dos TC1 (um negativo e cinco positivos) e oito oriundos dos TC2 (três negativos e cinco positivos). Os efeitos epistáticos para IF variaram de -1,75 a 1,75 dias para TC1 e de -1,38 a 1,94 dias para TC2.

Em relação aos caracteres de estatura, foram detectados efeitos epistáticos significativos para altura de plantas (AP) em 19 plantas F_2 (19%) considerando os TC1 e TC2. Destes, 10 foram detectados somente no TC1 (10%), oito apenas no TC2 (8%) e um em ambos testecrosses (1%). Três efeitos epistáticos negativos e oito positivos foram observados nos TC1 e variaram de -15,30 a 15,00 cm, enquanto que nos TC2 foram verificados um efeito epistático negativo e oito positivos que variam de -10,85 a 16,55 cm (Tabela 3.5). Para altura de espiga (AE), foram detectados efeitos epistáticos significativos em 21 plantas F_2 (21%) considerando os dois grupos de testecrosses, sendo oito detectados somente no TC1 (8%), 12 apenas no TC2 (12%) e um efeito detectado em ambos (1%). Os efeitos epistáticos variaram de -12,05 a 12,40 cm para TC1, sendo três efeitos negativos e seis positivos, enquanto que para TC2 os efeitos variaram de -9,20 a 14,15 cm, dos quais três efeitos foram negativos e 10 positivos. Efeitos epistáticos significativos foram detectados também para posição relativa da espiga (PRE) em 21 plantas F_2 (21%) considerando TC1 e TC2. Destes, 11 foram detectados somente no TC1 (11%), nove apenas no TC2 (9%) e um efeito detectado em ambos testecrosses (1%). Os efeitos epistáticos para PRE variaram de -0,044 a 0,032 para TC1, sendo seis negativos e outros seis positivos. Para TC2, foram observados dois efeitos negativos e oito positivos e variaram de -0,050 a 0,055.

O uso dos testadores L-02-03D e L-04-05F permitiu que a epistasia fosse identificada em um maior número de plantas F_2 para todos os caracteres avaliados, uma vez que cada testador foi

capaz de detectar efeitos epistáticos em diferentes grupos de plantas F_2 . Esses resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Eta-Ndu e Openshaw (1999) para o caráter produção de grãos que utilizando o TTC em testecrosses, verificaram que o aumento do número de testadores permitiu melhorar a detecção da epistasia nas duas populações avaliadas. Eles verificaram que entre as 52 plantas F_2 de uma população, 11 apresentaram efeitos epistáticos significativos para o testador LH85 e sete para o testador LH163, enquanto que entre as 52 plantas F_2 da outra população, 15 apresentaram efeitos epistáticos significativos para o testador LH85 e cinco para o testador LH163.

Uma maior proporção de efeitos epistáticos significativos para os caracteres FM, FF, IF e AE foi verificada nos testecrosses provenientes do testador L-04-05F (TC2), enquanto que para AP e PRE esta maior proporção foi observada nos testecrosses provenientes do testador L-02-03D (TC1). No entanto, os efeitos epistáticos para todos os caracteres avaliados não foram direcionais, isto é, apresentaram valores positivos e negativos. A presença de efeitos epistáticos não direcionais pode explicar a ausência da epistasia para todos os caracteres quando se tenta detectar a epistasia baseando-se nas médias gerais dos três retrocruzamentos (Anexo N), uma vez que esses efeitos tendem a se anularem e o efeito da epistasia total na população passa a ser nulo ou tão pequeno que não pode ser detectado.

A presença de efeitos epistáticos não direcionais foi observada por Eta-Ndu e Openshaw (1999) que utilizaram a análise TTC em testecrosses para o caráter produção de grãos em milho. Além deles, Khattak et al. (2002) utilizando o TTC modificado por Ketata et al. (1976), observaram efeitos epistáticos positivos e negativos para os caracteres altura da inserção da primeira vagem e número de nós na haste principal em *Vigna radiata* L.. Segundo Eta-Ndu e Openshaw (1999) esses efeitos epistáticos não direcionais tendem a se cancelarem e a epistasia total na população passa a ser insignificante ou nula.

Uma baixa coincidência de plantas F_2 apresentando efeitos epistáticos significativos para ambos testadores foi observada, sugerindo a ocorrência da interação epistasia x testadores (Tabelas 3.4 e 3.5). Também, diferenças significativas foram detectadas para a fonte de variação plantas F_2 por testadores para todos os caracteres avaliados, indicando a ocorrência da interação epistasia por testadores, isto é, a expressão dos efeitos epistáticos não foi consistente nos diferentes testadores. Esses resultados demonstram a influência dos *backgrounds* genéticos dos

testadores sobre a expressão das interações não alélicas (epistasia) nos caracteres de florescimento e estatura da planta de milho (Tabela 3.6). Wolf e Hallauer (1997) comentaram que nos programas de melhoramento de híbrido, os testadores usados durante a fase de avaliação dos testecrosses influenciam na expressão da epistasia. A presença da interação epistasia por testadores foi noticiada por Eta-Ndu e Openshaw (1999) que utilizando o TTC com testadores em duas populações, verificaram variações na expressão dos efeitos epistáticos para produção de grãos entre os testecrosses provenientes de dois testadores. Porém, para os caracteres de florescimento e estatura da planta em milho, a presença da interação epistasia x testadores não tem sido relatada na literatura.

O número total de plantas F_2 com efeitos epistáticos significativos, identificadas considerando os dois grupos de testecrosses (TC1 e TC2), para FM, FF, IF, AP, AE e PRE foram 25, 27, 14, 19, 21 e 21 plantas, respectivamente. Em 18 plantas F_2 foram identificados, simultaneamente, efeitos epistáticos significativos para FM e FF, isto é, houve uma coincidência de 35% de plantas em que a epistasia foi detectada para ambos os caracteres (Tabela 3.4). Em 11 plantas F_2 foram detectados efeitos epistáticos, concomitantemente, para AP e AE (28% de coincidência), enquanto que em nove plantas F_2 foram detectados efeitos epistáticos, simultaneamente, para AE e PRE (21% de coincidência) (Tabela 3.5). Esses resultados sugerem que genes com efeitos epistáticos que afetam o florescimento masculino podem estar afetando também o florescimento feminino, o mesmo ocorrendo também para AP e AE e entre AE e PRE, ou seja, há indícios da ocorrência da epistasia pleiotrópica entre esses pares de caracteres (WOLF et al., 2005), uma vez que é comumente relatada na literatura a presença de elevada magnitude de correlação entre esses (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988; SILVA et al., 2004). Para as outras combinações de caracteres foram observadas baixa coincidência de plantas F_2 apresentando efeitos epistáticos significativos para ambos os caracteres, não havendo evidência de epistasia pleiotrópica.

Para cada caráter, foram estimados os coeficientes de correlação entre as médias gerais dos testecrosses provenientes dos retrocruzamentos das plantas F_2 com as linhagens parentais L-08-05 (G_{RC1}) e L-38-05D (G_{RC2}) e os respectivos efeitos epistáticos estimados nos testecrosses referentes às plantas F_2 . Os testecrosses provenientes dos retrocruzamentos das plantas F_2 com a geração F_1 das linhagens parentais (G_{RC3}) não foram considerados, pelo fato dessa população

não ser utilizada nos programas de melhoramento. Houve uma predominância dos coeficientes de correlação de pequena magnitude para os caracteres avaliados (Anexo D), indicando uma baixa associação entre os efeitos epistáticos e os desempenhos dos testecrosses para estes caracteres. Foram selecionados os 10 melhores testecrosses provenientes de cada geração de retrocruzamento (G_{RC1} e G_{RC2}), porém, não foram observadas também associações entre os efeitos epistáticos significativos, estimados nos testecrosses referentes às plantas F_2 (Tabelas 3.4 e 3.5), e os desempenhos dos 10 melhores testecrosses.

Tabela 3.4 – Plantas F_2 apresentando valores epistáticos significativos para florescimento masculino (FM), florescimento feminino (FF) e intervalo entre florescimentos (IF), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2)

Planta F_2	FM (dias)		Planta F_2	FF (dias)		Planta F_2	IF (dias)	
	TC1	TC2		TC1	TC2		TC1	TC2
2	-0,31	1,62 [*]	13	-0,06	1,63 [*]	24	-1,75 ^{**}	-0,06
6	-0,38	1,88 ^{**}	15	-2,19 ^{**}	-0,44	26	0,19	1,25 [*]
15	-1,56 [*]	-0,63	17	2,00 ^{**}	0,31	35	1,13 [*]	0,19
17	1,88 ^{**}	0,88	19	-0,63	2,00 ^{**}	37	0,00	1,94 ^{**}
19	-0,94	3,19 ^{**}	23	1,69 [*]	-1,75 [*]	38	-0,88	1,75 ^{**}
23	1,06	-2,31 ^{**}	24	-1,63 [*]	-0,50	42	1,31 [*]	-0,50
25	0,19	-2,12 ^{**}	28	0,31	-2,00 ^{**}	49	0,44	-1,38 [*]
28	0,06	-1,56 [*]	29	-0,13	-1,81 [*]	59	1,31 [*]	-0,06
29	0,25	-1,75 [*]	37	-1,63 [*]	-1,19	70	1,63 ^{**}	-0,44
34	-1,62 [*]	0,56	38	-1,50	1,69 [*]	78	1,00	1,63 ^{**}
35	-1,00	-1,69 [*]	41	-0,56	1,63 [*]	80	-0,44	1,44 [*]
37	-1,62 [*]	-3,12 ^{**}	48	-2,94 ^{**}	-1,31	85	0,19	-1,25 [*]
40	-0,31	-2,25 ^{**}	49	-0,06	-2,13 ^{**}	90	0,19	-1,38 [*]
41	-0,19	1,62 [*]	55	-1,06	1,69 [*]	106	1,75 ^{**}	0,00
48	-2,88 ^{**}	-1,38	56	-1,00	-2,38 ^{**}			
58	2,50 ^{**}	1,69 [*]	58	3,19 ^{**}	1,63 [*]			
66	1,75 [*]	-0,75	66	1,69 [*]	-0,13			
69	0,13	-1,56 [*]	68	0,00	-1,75 [*]			
70	-0,63	-2,06 ^{**}	69	0,44	-2,25 ^{**}			
74	0,38	-1,94 ^{**}	70	1,00	-2,50 ^{**}			
81	-1,75 [*]	-0,06	74	0,50	-3,06 ^{**}			
88	0,00	2,81 ^{**}	78	1,25	2,25 ^{**}			
100	0,88	-2,31 ^{**}	79	-2,00 ^{**}	-0,31			
107	-0,50	-2,00 ^{**}	81	-1,63 [*]	0,06			
108	-1,56 [*]	-1,13	88	-0,06	1,63 [*]			
			100	0,56	-1,75 [*]			
			108	-1,69 [*]	-0,31			

^{*}, ^{**} significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste t .

Tabela 3.5 – Plantas F₂ apresentando valores epistáticos significativos para altura de planta (AP), altura de espiga (AE) e posição relativa da espiga (PRE), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2)

Planta F ₂	AP (cm)		Planta F ₂	AE (cm)		Planta F ₂	PRE	
	TC1	TC2		TC1	TC2		TC1	TC2
1	15,00**	9,25	4	-6,15	10,30*	5	-0,040**	-0,031*
4	-10,00	11,55*	5	-12,05**	-7,15	21	0,032**	-0,009
16	12,80**	5,20	11	-0,40	-9,20*	26	-0,033**	0,013
29	12,85**	4,25	16	8,30*	7,65	40	-0,012	0,042**
35	10,15*	2,45	17	8,90*	-2,70	46	-0,033**	0,003
52	3,60	11,50*	29	10,60**	1,75	49	-0,019	-0,050**
58	0,75	11,85*	34	0,05	-8,85*	58	0,007	0,032*
59	-11,60*	5,10	35	8,35*	-0,35	62	-0,030*	-0,023
70	-15,25**	-7,25	37	-2,75	-9,05*	66	0,030*	0,000
72	-15,30**	0,95	41	-6,55	9,30*	76	-0,013	0,055**
76	13,25**	1,70	46	-8,65*	1,60	82	-0,009	0,031*
87	14,15**	6,15	55	-5,15	9,10*	87	-0,044**	0,001
92	11,95*	-3,10	58	2,05	13,10**	89	0,027*	-0,007
93	12,90**	16,55**	76	4,25	13,20**	90	-0,009	0,037**
98	-0,75	10,95*	93	12,40**	14,15**	91	-0,004	0,029*
99	6,40	-10,85*	95	8,50*	2,35	93	0,030*	0,025
103	5,90	14,85**	98	-0,15	12,40**	94	0,028*	0,022
104	6,40	14,75**	103	2,10	13,75**	95	0,029*	-0,009
105	-2,50	11,75*	104	0,20	10,15*	98	0,003	0,033**
			105	-4,50	12,55**	105	-0,015	0,030*
			106	-8,75*	-5,00	106	-0,035**	-0,007

*, ** significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste *t*.

Tabela 3.6 – Quadrados médios (QM) e respectivas significâncias (teste F) da análise de variância para detectar a interação epistasia x testador para os caracteres florescimento masculino (FM), florescimento feminino (FF), intervalo entre florescimentos (IF), altura de planta (AP), altura de espiga (AE) e posição relativa da espiga (PRE), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D e L-04-05F

FV	GL	QM		
		FM (dias)	FF(dias)	IF (dias)
Planta F_2 x Testador ^b	99	7,48**	8,66**	3,78*
Erro	693	4,17	3,90	2,84

FV	GL	QM		
		AP (cm)	AE (cm)	PRE ^a
Planta F_2 x Testador	99	322,72**	205,72**	2,56**
Erro	891	139,95	98,69	1,37

^a QM multiplicados por 10^2 ; *, ** significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste F ; ^b Interação entre os efeitos epistáticos dos testecrosses referentes às plantas F_2 x testadores.

3.3 Considerações Finais

Os resultados deste estudo indicaram ampla variabilidade genética na população oriunda do cruzamento L-08-05F x L-38-05D para os caracteres de florescimento e estatura da planta. A presença da epistasia foi detectada para todos os caracteres nos testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2), enquanto que a interação epistasia por ambientes não foi observada para nenhum dos caracteres. O uso do método TTC em testecrosses permite estimar somente a variância aditiva e, conseqüentemente, detectar somente a epistasia do tipo aditiva x aditiva, já que a variância de dominância não está contida na variância genética dos testecrosses (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999). Portanto, as estimativas da variância genética aditiva estão viesadas pela epistasia aditiva x aditiva, sendo esses vieses de dimensões desconhecidas (KHAN; MCNEILLY, 2005). Os vieses nas estimativas da variância aditiva ocasionam imprecisões nas estimativas de parâmetros genéticos importantes, como coeficientes de herdabilidade e respostas esperadas com a seleção, podendo essas imprecisões prejudicar a eficiência dos programas de melhoramento (SOFI; RATHER; WARSI, 2007). Segundo Holland (2006), a presença da epistasia pode ser um dos motivos dos ganhos realizados com a seleção

serem frequentemente menores que os ganhos preditos, uma vez que os efeitos epistáticos são desconsiderados nos estimadores da herdabilidade e resposta esperada com seleção.

Além da presença da epistasia, o desequilíbrio de ligação na população detectado para todos os caracteres pode também gerar vieses nas estimativas da variância aditiva dos testecrosses, as quais estarão superestimadas, na fase de ligação dos alelos em associação, ou subestimadas, na fase de repulsão (COMSTOCK; ROBINSON, 1952). No entanto, os efeitos do desequilíbrio de ligação sobre as estimativas dos componentes de variância aditiva e também da variância de dominância podem ser reduzidos após diversas gerações de recombinação da população (SILVA et al., 2004).

A presença de efeitos epistáticos em linhagens elites não deve afetar as estratégias dos programas de melhoramento. Isso porque, a maneira como os programas de melhoramento são normalmente conduzidos é eficiente para selecionar combinações gênicas favoráveis, pois o avanço da endogamia durante o processo de obtenção das linhagens é realizado simultaneamente com a avaliação dos híbridos, permitindo a fixação de efeitos epistáticos favoráveis nas linhagens que apresentam uma excelente capacidade específica de combinação (LAMKEY; SCHNICKER; MELCHINGER, 1995).

Além da epistasia, foi verificada a presença de interação epistasia x testador para todos os caracteres, mostrando que a constituição genética do testador afeta a expressão e, conseqüentemente, a detecção da epistasia nos testecrosses referentes às plantas F_2 . Esses resultados sugerem que as combinações epistáticas favoráveis presentes nos testecrosses provenientes de uma linhagem testadora, não necessariamente continuaram sendo expressas nos testecrosses oriundos de outras linhagens testadoras e vice-versa, evidenciando a necessidade de se utilizar vários testadores nos programas de melhoramento para explorar a capacidade específica de combinação que é devida, em parte, pelos efeitos epistáticos.

A utilização dos testadores L-02-03D e L-04-05F para avaliar as progênies de retrocruzamento geradas no TTC melhorou a detecção da epistasia na população L-08-05F x L-38-05D para todos os caracteres, pois cada testador foi capaz de detectar efeitos epistáticos em diferentes grupos de plantas F_2 , sendo esses efeitos não direcionais. No entanto, não foram observadas associações entre efeitos epistáticos e os desempenhos dos testecrosses para os caracteres de florescimento e estatura da planta. Resultados semelhantes foram reportados por Eta-Ndu e Openshaw (1999) que não encontraram associação entre epistasia e produção de grãos

dos testecrosses provenientes da geração F_3 e das gerações de retrocruzamento (RC_1 , RC_2 , RC_3) do TTC.

O envolvimento de interações epistáticas na herança de caracteres quantitativos tem sido considerado um dos motivos da baixa correlação entre a expressão desses caracteres nas linhagens e nos híbridos produzidos a partir delas, tornando-se necessário a seleção das linhagens a partir de seus testecrosses (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988). Além disso, vários trabalhos na literatura têm atribuído à epistasia a manutenção da variação genética em populações pequenas ou que estão submetidas a sucessivos ciclos de seleção, permitindo dessa forma uma contínua resposta à seleção (RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997; DUDLEY, 2008). Outro aspecto interessante é que cada vez mais os programas de melhoramento têm procurado utilizar informações de marcadores moleculares como ferramenta para auxiliar a seleção de genótipos superiores, visando aumentar a eficiência do processo seletivo (JOHNSON, 2004). Nesse contexto, a presença da epistasia pode ter importantes consequências no sucesso de detecção, introgressão e caracterização de genes que controlam os caracteres quantitativos, pois o efeito de um gene envolvido na variação desses caracteres pode ser alterado por suas interações epistáticas com outros genes.

Referências

- AGUIAR, A.M.; GARCIA, L.A.C.; SILVA, A.R.; SANTOS, M.F.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA JUNIOR, C.L. Combining ability of inbred lines of maize and stability of their respective single-crosses. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 83-89, 2003.
- BARONA, M.A.A., COLOMBARI FILHO, J.M; GERALDI, I.O. Epistasia para a produção de grãos em soja. **Bragantia**, Campinas, v.68, n.2, p.313-318, 2009.
- BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Woodbury: Stemma Press, 2002. 369 p.
- BURDICK; R.K.; GRAYBILL, F.A. **Confidence intervals on variance components**. New York: Marcel Dekker, 1992. v. 127, 211 p.
- CAUSSE, M.; CHAIB, J.; LECOMTE, L.; BURET, M.; HOSPITAL, F. Both additivity and epistasis control the genetic variation for fruit quality traits in tomato. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 115, p. 429–442, 2007.
- COMSTOCK, R.E.; ROBINSON, H.F. Estimation of average dominance of genes. **Heterosis**, Iowa, p. 494-512, 1952.

DUDLEY, J.W. Epistatic interactions in crosses of illinois high oil x illinois low oil and of illinois high Protein x illinois low protein corn strains. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 59-68, 2008.

ETA-NDU, J.T.; S.J. OPENSHAW. Epistasis for grain yield in two F_2 populations of maize. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 346–352, 1999.

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

HOLLAND, J.B. Theoretical and biological foundations of plant breeding. In: PLANT BREEDING: THE ARNEL R. HALLAUER INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 1, 2006, México DF. **Proceedings...** Oxford: Blackwell Publishing, 2006. p. 127-140.

JOHNSON, R. Marker-assisted selection. **Plant Breeding**, Berlin, v. 24, p. 293-309, 2004.

KEARSEY, M. J.; JINKS, J. L. A general method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits. I. Theory. **Heredity**, London, v. 23, p. 403- 409, 1968.

KETATA, H., SMITH, E.L.; EDWARDS, L.K.; MCNEW, R.W. Detection of epistasis, additive and dominance variation in winter wheat. **Crop Science**, Madison, v. 16, p 1-4, 1976.

KHAN, A.A.; MCNEILLY, T. Triple test cross analysis for salinity tolerance in maize. **Breeding Science**, Tokyo, v. 55, p. 321-325, 2005.

KHATTAK, G.S.S.; HAQ, M.A.; ASHRAF, M.; TAHIR, G.R. Triple test cross analysis for some morphological traits in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Euphytica**, Wageningen, v. 126, p. 413-420, 2002.

KNAPP, S.J.; STROUP, W.W.; ROSS, W.M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, Madison, v. 25, n.1, p. 192-194, 1985.

LAMKEY, K.R.; SCHNICKER, B.J.; MELCHINGER, A E. Epistasis in an elite maize hybrid and choice of generation for inbred line development. **Crop Science**, Madison, v.35, n.5, p.1272-1281, 1995.

LI, Z.K., LUO, L.J.; MEI, H.W.; WANG, D.L.; SHU, Q.Y.; TABIEN, R.; ZHONG, D.B.; YING, C.S.; STANSEL, J.W.; KHUSH, G.S.; PATERSON, A.H. Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice. I. Biomass and grain yield. **Genetics**, Austin, v. 158, p.1737–1753, 2001.

LIMA, M.D.A.; 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: new strategies in plant improvement**, Dordrecht, v. 17, p. 227-239. 2006.

MATHER, K. **Biometrical Genetics**: the study of continuous variation. London: Dour Publications, 1949. 162 p.

RASMUSSEN, D.C.; PHILLIPS R.L. Plant breeding progress and genetic diversity from de nova variation and elevated epistasis. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 303-310, 1997.

SANTOS, M. F. **Mapeamento de QTLs em testecrosses de milho com diferentes testadores e níveis de acidez do solo**. 2008, 167 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SAS INSTITUTE, **Statistical analysis software**: SAS 9.1. 2003. Cary-NC, EUA.

SATTERTHWAITE, F.E. An approximate distribution of estimates of variance components. **Biometrics Bulletin**, Washington, v. 2, p. 110-114, 1946.

SEARLE, R.S.; CASELLA, G.; MCCULLOCH, C.E. **Variance components**. New York: John Wiley & Sons, 1992. 501p.

SILVA, A. R.; SOUZA JR., C. L.; AGUIAR, A. M.; SOUZA, A. P. Estimates of genetic variance and level of dominance in a tropical maize population. I. Grain yield and plant traits. **Maydica**, Bergamo, v. 49, p. 65-71, 2004.

SOFI, P.A.; RATHER, A.G.; VENKATESH, S. Detection of epistasis by generation means analysis in maize hybrids. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 9, p. 1983-1986, 2006a.

SOFI, P.A.; RATHER, A.G.; VENKATESH, S. Triple test cross analysis in maize (*Zea mays* L.). **Indian Journal Crop Science**, Meerut, v. 1, p. 191-193, 2006b.

SOFI, P.A.; RATHER, A.G.; WARSI, M.Z.K. Implications of epistasis in maize breeding. **International Journal of Plant Breeding and Genetics**, New York, v. 1, p. 1-11, 2007.

SOOD, S.; KALIA, N.R.; BHATERIA, S.; KUMAR, S. Detection of genetic components of variation for some biometrical traits in *Linum usitatissimum* L. in sub-mountain Himalayan region. **Euphytica**, Wageningen, v. 155, p. 107-115, 2007.

STUBER, C.W.; MOLL, R.H. Epistasis in maize (*Zea mays* L.). II: Comparison of selected with unselected populations. **Genetics**, Austin, v. 67, p. 137-149, 1971.

VELÁSQUEZ, J.C.P.; SOUZA JUNIOR, C.L.; NARRO, L.A.; PANDEY, S.; DE LEON, C. Genetic effects for maize traits in acid and non-acid soils. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 31, p. 89-97, 2008.

WOLF, J.B.; LEAMY, L.J.; ROUTMAN, E.J.; CHEVERUD, J.M. Epistatic pleiotropy and the genetic architecture of covariation within early and late-developing skull trait complexes in mice. **Genetics**, Austin, v. 171, p. 683-694, 2005.

WOLF, P.; HALLAUER, A.R. Triple testcross analysis to detect epistasis in maize. **Crop Science**, Madison, v.37, p.763-770, 1997.

WOLF, D.P.; PETERNELLI, L.A.; HALLAUER, A.R. Estimates of genetic variance in an F2 maize population. **The Journal of Heredity**, Oxford, v. 91, p.384-391, 2000.

ANEXOS

Anexo A – Características dos 10 ambientes de avaliação localizados no município de Piracicaba, SP

Ambiente	Localização ^a	Data de Plantio	Época de semeadura ^b	Irrigação	Fertilidade do solo
1	E. E. Anhembi-II	12/01/2009	2ª época	ausente	moderada
2	E. E. Areão	10/12/2008	1ª época	ausente	moderada
3	E. E. Caterpillar	14/01/2009	2ª época	ausente	moderada
4	E. E. Anhembi-I	19/11/2008	1ª época	presente	alta
5	E. E. Anhembi-III	18/11/2008	1ª época	presente	moderada
6	E. E. Caterpillar	10/11/2009	1ª época	ausente	moderada
7	E. E. Anhembi-II	25/11/2009	1ª época	ausente	moderada
8	E. E. Caterpillar	11/02/2010	2ª época	ausente	moderada
9	E. E. Anhembi-I	04/11/2009	1ª época	presente	alta
10	E. E. Anhembi-IV	21/12/2009	2ª época	ausente	baixa

^a Estação experimental (E.E.); ^b Foram considerados 2ª época de semeadura os experimentos plantados a partir da segunda quinzena de dezembro de cada ano.

Anexo B – Resumo do quadro da análise de variância conjunta, esperanças dos quadrados médios e testes F.

Fonte de Variação (1)	GL ⁽²⁾	QM	E(QM)	F
Ambientes (A)	$l - 1$	QM_E	$\sigma_e^2 + rg\sigma_{TCxE}^2 + rgp\sigma_E^2$	$QM_E / QM_{Px E}$
Plantas F_2 (P)	$p - 1$	QM_P	$\sigma_e^2 + rg\sigma_{TCxE}^2 + rgl\sigma_{TC}^2$	$QM_P / QM_{Px E}$
P x A	$(p - 1)(l - 1)$	$QM_{Px E}$	$\sigma_e^2 + rg\sigma_{TCxE}^2$	$QM_{Px E} / QM_{Re\ s\acute{d}uo}$
Gerações (G_{RC})	$g - 1$	QM_{Ger}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxGerxE}^2 + rp\sigma_{GerxE}^2 + rl\sigma_{TCxGer}^2 + rpl\phi_{Ger}$	$QM_{Ger} / (QM_{GerxE} + QM_{PxGer} - QM_{PxGerxE})$
G_{RC1} vs G_{RC2} (C_1)	1	QM_{C_1}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxG_1xE}^2 + rp\sigma_{C_1xE}^2 + rl\sigma_{TCxG_1}^2 + rpl\phi_{C_1}$	$QM_{C_1} / (QM_{C_1xE} + QM_{Px C_1} - QM_{Px C_1xE})$
$G_{RC1} + G_{RC2}$ vs $2G_{RC3}$ (C_2)	1	QM_{C_2}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxG_2xE}^2 + rp\sigma_{C_2xE}^2 + rl\sigma_{TCxG_2}^2 + rpl\phi_{C_2}$	$QM_{C_2} / (QM_{C_2xE} + QM_{Px C_2} - QM_{Px C_2xE})$
G_{RC} x A	$(g - 1)(l - 1)$	QM_{GerxE}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxGerxE}^2 + rp\sigma_{GerxE}^2$	$QM_{GerxE} / QM_{PxGerxE}$
C_1 x A	$l - 1$	QM_{C_1xE}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxG_1xE}^2 + rp\sigma_{C_1xE}^2$	$QM_{C_1xE} / QM_{Px C_1xE}$
C_2 x A	$l - 1$	QM_{C_2xE}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxG_2xE}^2 + rp\sigma_{C_2xE}^2$	$QM_{C_2xE} / QM_{Px C_2xE}$
P x G_{RC}	$(p - 1)(g - 1)$	QM_{PxGer}	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxGerxE}^2 + rl\sigma_{TCxGer}^2$	$QM_{PxGer} / QM_{PxGerxE}$
P x C_1	$p - 1$	$QM_{Px C_1}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxG_1xE}^2 + rl\sigma_{TCxG_1}^2$	$QM_{Px C_1} / QM_{Px C_1xE}$
P x C_2	$p - 1$	$QM_{Px C_2}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxG_2xE}^2 + rl\sigma_{TCxG_2}^2$	$QM_{Px C_2} / QM_{Px C_2xE}$
P x G_{RC} x A	$(p - 1)(g - 1)(l - 1)$	$QM_{PxGerxE}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxGerxE}^2$	$QM_{PxGerxE} / QM_{Re\ s\acute{d}uo}$
P x C_1 x A	$(p - 1)(l - 1)$	$QM_{Px C_1xE}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxG_1xE}^2$	$QM_{Px C_1xE} / QM_{Re\ s\acute{d}uo}$
P x C_2 x A	$(p - 1)(l - 1)$	$QM_{Px C_2xE}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{TCxG_2xE}^2$	$QM_{Px C_2xE} / QM_{Re\ s\acute{d}uo}$
Epistasia	p	$QM_{Epis.Total}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{Ix E}^2 + rl\sigma_I^2$	$QM_{Epis.Total} / QM_{Epis.TotalxE}$
Epistasia x A	$p(l - 1)$	$QM_{Epis.TotalxE}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{Ix E}^2$	$QM_{Epis.TotalxE} / QM_{Re\ s\acute{d}uo}$
Erro Efetivo Médio	$l[gp(j - 1) - (jk - 1)]$	$QM_{Re\ s\acute{d}uo}$	σ_e^2	

⁽¹⁾ Plantas F_2 referem-se aos testecrosses das plantas F_2 ; G_{RC1} refere-se aos testecrosses das progênies de retrocruzamento do grupo 1 (parental L-08-05F), G_{RC2} refere-se aos testecrosses das progênies de retrocruzamento do grupo 2 (parental L-38-05D); e G_{RC3} refere-se aos testecrosses das progênies de retrocruzamento do grupo 3 (geração F_1 dos parentais)

⁽²⁾ l , j , k , p e g referem-se ao número de ambientes, repetições, blocos, plantas F_2 e gerações de retrocruzamento, respectivamente.

Anexo C – Coeficiente de correlação entre as médias gerais dos testecrosses provenientes dos retrocruzamentos das plantas F_2 com as linhagens parentais L-08-05 (G_{RC1}) e L-38-05D (G_{RC2}) e os respectivos efeitos epistáticos (EP) estimados nos testecrosses referentes às plantas F_2 para os caracteres produção de grãos (PG), prolificidade (PROL) e acamamento e quebramento (ACQ) para os testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2)

EP	PG		PROL		ACQ	
	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC1}	G_{RC2}
TC1	0,31 ^{**}	0,29 ^{**}	0,38 ^{**}	0,36 ^{**}	0,26 ^{**}	0,31 ^{**}
TC2	0,20 [*]	0,24 ^{**}	0,17 ^{ns}	0,20 [*]	0,39 ^{**}	0,41 ^{**}

^{ns, *, **} Não significativo, significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste t .

Anexo D – Coeficiente de correlação entre as médias gerais dos testecrosses provenientes dos retrocruzamentos das plantas F_2 com as linhagens parentais L-08-05 (G_{RC1}) e L-38-05D (G_{RC2}) e os respectivos efeitos epistáticos (EP) estimados nos testecrosses referentes às plantas F_2 para os caracteres florescimento masculino (FM), feminino (FF), intervalo entre florescimentos (IF), altura de planta (AP), de espiga (AE) e posição relativa da espiga (PRE) para os testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2)

EP	FM		FF		IF		AP		AE		PRE	
	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC1}	G_{RC2}
TC1	0,25 ^{**}	0,24 ^{**}	0,32 ^{**}	0,38 ^{**}	0,48 ^{**}	0,56 ^{**}	0,01 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,24 ^{**}	0,35 ^{**}	0,40 ^{**}
TC2	0,26 ^{**}	0,42 ^{**}	0,29 ^{**}	0,43 ^{**}	0,17 ^{ns}	0,30 ^{**}	0,22 [*]	0,15 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,21 [*]	0,11 ^{ns}

^{ns, *, **} Não significativo, significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste t .

Anexo E – Médias ($\bar{x}$) das três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}), média geral e intervalos de variação (IV) para produção de grãos ($t\ ha^{-1}$), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) em cada ambiente (A)

A		TC1				TC2			
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral
1	$\bar{x}$	6,74	6,81	6,93	6,83	6,91	7,05	6,99	6,99
	IV	4,57; 8,88	3,53; 9,20	3,97; 9,71	3,53; 9,71	3,90; 9,55	4,53; 10,04	4,81; 9,75	3,90; 10,04
2	$\bar{x}$	8,88	9,16	9,18	9,07	8,13	8,78	8,33	8,41
	IV	6,19; 10,73	6,60; 11,77	6,06; 11,60	6,06; 11,77	6,11; 9,60	7,09; 10,80	6,91; 10,86	6,11; 10,86
3	$\bar{x}$	4,31	4,22	4,20	4,24	4,53	4,91	4,65	4,70
	IV	1,83; 6,22	1,88; 6,15	2,18; 5,78	1,83; 6,22	3,10; 6,33	3,45; 6,66	2,95; 6,82	2,95; 6,82
4	$\bar{x}$	10,39	10,41	10,47	10,42	9,43	10,02	9,63	9,69
	IV	7,58; 12,72	7,27; 12,67	7,13; 12,99	7,13; 12,99	6,82; 11,17	8,20; 11,71	7,55; 12,08	6,82; 12,08
5	$\bar{x}$	9,70	10,36	10,20	10,09	9,02	10,06	9,40	9,49
	IV	6,61; 12,19	7,31; 13,23	7,18; 12,91	6,61; 13,23	6,35; 11,32	7,69; 12,96	7,04; 11,76	6,35; 12,96
6	$\bar{x}$	9,90	9,71	10,01	9,87	8,59	8,88	8,48	8,65
	IV	6,46; 12,05	7,66; 12,04	7,16; 12,48	6,46; 12,48	6,76; 10,32	6,99; 11,07	6,22; 10,31	6,22; 11,07
7	$\bar{x}$	6,56	6,83	6,77	6,72	6,26	6,41	6,10	6,26
	IV	4,00; 8,84	3,62; 9,22	3,26; 8,98	3,26; 9,22	4,05; 9,37	4,84; 8,48	3,74; 8,26	3,74; 9,37
8	$\bar{x}$	3,73	3,85	3,84	3,81	3,79	3,94	3,83	3,85
	IV	2,57; 4,91	2,43; 4,99	2,54; 5,33	2,43; 5,33	2,51; 4,79	2,67; 5,38	2,49; 4,98	2,49; 5,38
9	$\bar{x}$	9,65	10,01	9,87	9,84	8,03	8,42	7,99	8,15
	IV	7,10; 12,69	7,17; 12,80	6,45; 12,54	6,45; 12,80	5,94; 9,96	6,62; 10,61	5,88; 10,66	5,88; 10,66
10	$\bar{x}$	7,01	7,20	7,25	7,16	6,55	6,77	6,74	6,69
	IV	4,87; 8,76	5,21; 9,21	5,04; 8,62	4,87; 9,21	4,97; 7,69	5,20; 8,42	5,14; 8,38	4,97; 8,42

Anexo F – Médias ($\bar{x}$) das três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}), média geral e intervalos de variação (IV) para prolificidade (espigas planta⁻¹), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) em cada ambiente (A)

A		TC1				TC2			
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral
1	$\bar{x}$	0,74	0,77	0,76	0,76	0,86	0,88	0,85	0,87
	IV	0,47; 0,97	0,52; 0,94	0,44; 0,99	0,44; 0,99	0,61; 1,31	0,56; 1,13	0,60; 1,08	0,56; 1,31
2	$\bar{x}$	0,87	0,90	0,89	0,89	0,90	0,94	0,90	0,92
	IV	0,66; 1,04	0,67; 1,07	0,67; 1,04	0,66; 1,07	0,70; 1,12	0,67; 1,18	0,73; 1,11	0,67; 1,18
3	$\bar{x}$	0,69	0,69	0,67	0,69	0,77	0,82	0,78	0,79
	IV	0,41; 0,95	0,38; 0,91	0,50; 0,91	0,38; 0,95	0,59; 0,99	0,57; 1,14	0,56; 1,02	0,56; 1,14
4	$\bar{x}$	0,92	0,94	0,92	0,93	0,96	1,01	0,97	0,98
	IV	0,63; 1,12	0,70; 1,14	0,62; 1,40	0,62; 1,40	0,71; 1,27	0,79; 1,34	0,75; 1,26	0,71; 1,34
5	$\bar{x}$	0,87	0,90	0,89	0,89	0,88	0,95	0,90	0,91
	IV	0,64; 1,08	0,63; 1,08	0,70; 1,04	0,63; 1,08	0,67; 1,10	0,79; 1,18	0,65; 1,11	0,65; 1,18
6	$\bar{x}$	0,92	0,92	0,92	0,92	0,94	0,96	0,93	0,94
	IV	0,65; 1,08	0,75; 1,18	0,77; 1,11	0,65; 1,18	0,72; 1,09	0,76; 1,23	0,65; 1,10	0,65; 1,23
7	$\bar{x}$	0,82	0,83	0,83	0,83	0,88	0,90	0,87	0,88
	IV	0,62; 0,96	0,58; 1,03	0,53; 1,01	0,53; 1,03	0,63; 1,14	0,69; 1,11	0,62; 1,05	0,62; 1,14
8	$\bar{x}$	0,84	0,85	0,85	0,85	0,90	0,91	0,89	0,90
	IV	0,59; 1,00	0,65; 0,97	0,66; 1,01	0,59; 1,01	0,71; 1,07	0,72; 1,04	0,66; 1,04	0,66; 1,07
9	$\bar{x}$	0,89	0,91	0,89	0,90	0,89	0,92	0,88	0,90
	IV	0,73; 1,04	0,71; 1,10	0,68; 1,08	0,68; 1,10	0,68; 1,04	0,75; 1,13	0,68; 1,08	0,68; 1,13
10	$\bar{x}$	0,86	0,88	0,88	0,87	0,94	0,98	0,95	0,96
	IV	0,66; 1,13	0,72; 1,08	0,73; 1,00	0,66; 1,13	0,78; 1,16	0,83; 1,16	0,66; 1,14	0,66; 1,16

Anexo G – Médias ($\bar{x}$) das três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}), média geral e intervalos de variação (IV) para acamamento e quebramento (% de plantas), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) em cada ambiente (A)

A		TC1				TC2			
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral
1	$\bar{x}$	4,28	1,72	3,13	3,04	6,86	3,20	4,88	4,98
	IV	0,00; 22,56	0,00; 13,10	0,00; 16,73	0,00; 22,56	0,00; 38,94	0,00; 20,07	0,00; 29,27	0,00; 38,94
3	$\bar{x}$	14,36	9,55	12,11	12,01	13,99	8,70	11,02	11,24
	IV	3,96; 38,07	0,94; 24,60	1,21; 39,56	0,94; 39,56	1,06; 35,52	0,07; 25,91	0,83; 25,20	0,07; 35,52
4	$\bar{x}$	2,76	1,59	2,04	2,13	1,88	0,96	1,37	1,40
	IV	0,00; 20,43	0,00; 14,59	0,00; 17,56	0,00; 20,43	0,00; 13,69	0,00; 9,18	0,00; 9,92	0,00; 13,69
5	$\bar{x}$	0,96	0,40	0,79	0,72	0,66	0,36	0,45	0,49
	IV	0,00; 10,18	0,00; 13,99	0,00; 29,59	0,00; 29,59	0,00; 10,30	0,00; 4,00	0,00; 11,70	0,00; 11,70
6	$\bar{x}$	0,74	0,69	0,81	0,75	1,02	0,76	0,74	0,84
	IV	0,00; 14,59	0,00; 12,67	0,00; 11,16	0,00; 14,59	0,00; 15,29	0,00; 10,76	0,00; 12,82	0,00; 15,29
8	$\bar{x}$	0,72	0,48	0,72	0,64	1,04	0,37	0,53	0,65
	IV	0,00; 9,55	0,00; 6,86	0,00; 7,73	0,00; 9,55	0,00; 10,56	0,00; 9,67	0,00; 8,53	0,00; 10,56
9	$\bar{x}$	5,24	3,13	3,96	4,11	3,65	2,02	2,79	2,82
	IV	0,00; 29,27	0,00; 21,72	0,00; 19,01	0,00; 29,27	0,00; 25,91	0,00; 16,65	0,00; 18,58	0,00; 25,91
10	$\bar{x}$	8,82	5,02	5,66	6,50	16,73	13,69	14,52	14,98
	IV	0,41; 27,04	0,00; 20,98	0,00; 24,01	0,00; 27,04	1,93; 53,00	0,48; 38,44	2,31; 36,48	0,48; 53,00

Anexo H – Médias ($\bar{x}$) das três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}), média geral e intervalos de variação (IV) para florescimento masculino (dias), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) em cada ambiente (A)

A		TC1				TC2			
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral
2	$\bar{x}$	62,57	62,97	62,86	62,80	62,66	62,58	62,73	62,66
	IV	61,00;64,13	61,35;66,13	61,10;64,64	61,00;66,13	61,38;64,63	60,69;64,80	61,00;64,18	60,69;64,80
3	$\bar{x}$	63,17	63,66	63,50	63,44	62,37	62,39	62,59	62,45
	IV	60,64;66,82	60,93;66,51	60,79;66,20	60,64;66,82	60,04;65,72	59,28;65,15	60,31;64,77	59,28;65,72
4	$\bar{x}$	64,77	65,44	65,32	65,17	64,84	64,75	65,04	64,88
	IV	60,35;67,16	62,35;68,07	62,16;69,72	60,35;69,72	61,71;67,99	61,26;67,51	62,09;67,69	61,26;67,99
5	$\bar{x}$	63,95	64,29	64,36	64,20	63,90	64,00	64,11	64,00
	IV	61,45;66,58	62,38;67,15	61,45;66,87	61,45;67,15	62,09;66,50	61,90;67,30	61,42;66,74	61,42;67,30
7	$\bar{x}$	67,59	68,05	67,85	67,83	67,35	67,61	67,57	67,51
	IV	65,55;71,32	64,57;71,21	65,03;71,46	64,57;71,46	64,77;70,48	63,67;70,12	64,91;70,71	63,67;70,71
8	$\bar{x}$	63,77	64,43	63,90	64,03	62,64	62,96	62,76	62,79
	IV	60,13;67,09	62,03;67,09	60,84;67,31	60,13;67,31	59,61;65,75	58,53;66,28	60,30;66,61	58,53;66,61
9	$\bar{x}$	58,12	59,03	58,58	58,58	56,98	57,49	57,24	57,24
	IV	55,09;61,36	55,83;62,25	55,15;61,32	55,09;62,25	53,75;60,47	54,51;60,31	54,51;60,03	53,75;60,47
10	$\bar{x}$	63,47	63,97	63,80	63,74	62,07	62,44	62,40	62,30
	IV	60,77;65,81	60,75;66,63	60,16;67,52	60,16;67,52	58,47;66,12	58,43;65,19	59,48;66,53	58,43;66,53

Anexo I – Médias ($\bar{x}$) das três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}), média geral e intervalos de variação (IV) para florescimento feminino (dias), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) em cada ambiente (A)

A		TC1				TC2			
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral
2	$\bar{x}$	63,39	63,38	63,36	63,38	64,31	63,51	63,82	63,88
	IV	61,68;65,75	61,35;65,75	61,74;66,21	61,35;66,21	62,07;67,74	61,69;66,86	62,19;66,24	61,69;67,74
3	$\bar{x}$	63,88	63,82	63,97	63,89	64,02	63,54	63,81	63,79
	IV	61,40;67,72	61,89;66,60	60,73;67,27	60,73;67,72	61,13;66,89	61,25;66,66	61,46;66,87	61,13;66,89
4	$\bar{x}$	65,60	66,00	66,00	65,86	66,60	66,20	66,60	66,47
	IV	62,32;69,52	62,78;68,84	62,83;69,59	62,32;69,59	63,30;70,05	62,43;69,10	63,39;69,96	62,43;70,05
5	$\bar{x}$	65,82	65,75	65,91	65,83	66,27	66,00	66,28	66,18
	IV	62,66;69,87	62,61;69,18	63,16;69,35	62,61;69,87	62,26;70,42	63,56;69,92	63,56;69,14	62,26;70,42
7	$\bar{x}$	68,70	68,61	68,62	68,64	69,13	68,82	68,98	68,97
	IV	65,34;71,63	64,84;73,13	65,84;72,38	64,84;73,13	66,58;71,86	65,11;71,60	66,62;72,96	65,11;72,96
8	$\bar{x}$	66,41	66,25	66,31	66,32	65,91	65,75	65,96	65,87
	IV	61,78;69,75	63,10;69,81	62,28;69,80	61,78;69,81	62,26;71,15	61,70;69,65	62,76;69,56	61,70;71,15
9	$\bar{x}$	60,05	60,00	60,11	60,05	60,39	60,13	60,33	60,28
	IV	58,09;62,31	58,09;62,10	58,11;62,21	58,09;62,31	58,67;61,93	58,04;62,24	58,92;62,22	58,04;62,24
10	$\bar{x}$	64,30	64,31	64,41	64,34	64,06	63,85	64,09	64,00
	IV	62,35;66,88	62,16;66,66	61,16;66,94	61,16;66,94	60,62;67,75	60,21;66,11	61,05;66,50	60,21;67,75

Anexo J – Médias ($\bar{x}$) das três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}), média geral e intervalos de variação (IV) para intervalo entre florescimentos (dias), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) em cada ambiente (A)

A		TC1				TC2			
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral
2	$\bar{x}$	0,82	0,41	0,50	0,58	1,66	0,93	1,09	1,23
	IV	-0,27; 2,45	-0,77; 1,98	-0,38; 2,76	-0,77; 2,76	0,16; 4,38	-0,40; 2,73	-0,29; 3,14	-0,40; 4,38
3	$\bar{x}$	0,72	0,16	0,47	0,45	1,66	1,15	1,22	1,34
	IV	-0,65; 3,05	-2,01; 1,57	-1,16; 2,29	-2,01; 3,05	0,40; 3,46	-1,05; 2,70	-0,78; 3,95	-1,05; 3,95
4	$\bar{x}$	0,83	0,56	0,68	0,69	1,76	1,45	1,56	1,59
	IV	-0,70; 3,22	-1,32; 2,96	-1,01; 2,65	-1,32; 3,22	0,07; 4,65	-0,43; 3,01	-0,73; 4,18	-0,73; 4,65
5	$\bar{x}$	1,87	1,47	1,56	1,63	2,37	2,00	2,17	2,18
	IV	-0,23; 4,24	-0,51; 3,89	-0,61; 4,50	-0,61; 4,50	-0,04; 4,20	0,41; 4,41	-0,83; 4,54	-0,83; 4,54
7	$\bar{x}$	1,11	0,56	0,77	0,81	1,78	1,21	1,41	1,47
	IV	-0,39; 3,30	-1,01; 4,39	-0,55; 2,03	-1,01; 4,39	0,01; 4,34	-0,78; 2,85	-0,55; 3,30	-0,78; 4,34
8	$\bar{x}$	2,64	1,82	2,41	2,29	3,27	2,80	3,20	3,09
	IV	0,90; 4,95	-0,08; 4,15	0,50; 4,80	-0,08; 4,95	1,14; 6,60	1,07; 4,24	1,28; 5,69	1,07; 6,60
9	$\bar{x}$	1,93	0,98	1,53	1,48	3,41	2,65	3,09	3,05
	IV	0,16; 5,47	-0,78; 3,12	-0,59; 4,27	-0,78; 5,47	0,73; 5,02	0,02; 6,11	0,91; 5,25	0,02; 6,11
10	$\bar{x}$	0,83	0,34	0,61	0,59	1,99	1,42	1,69	1,70
	IV	-0,62; 2,69	-1,36; 2,60	-1,16; 2,33	-1,36; 2,69	0,15; 3,98	-1,40; 3,53	-0,42; 3,56	-1,40; 3,98

Anexo K – Médias ($\bar{x}$) das três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}), média geral e intervalos de variação (IV) para altura de planta (cm), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) em cada ambiente (A)

A		TC1				TC2			
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral
1	$\bar{x}$	181,38	184,14	182,05	182,52	182,42	181,87	183,21	182,50
	IV	155,32; 214,67	156,53; 213,66	159,31; 204,78	155,32; 214,67	152,89; 213,80	160,88; 209,39	159,48; 214,39	152,89; 214,39
2	$\bar{x}$	223,99	224,80	224,22	224,34	223,35	223,05	223,48	223,29
	IV	209,31; 239,11	208,69; 242,33	204,38; 238,44	204,38; 242,33	208,12; 240,31	204,56; 238,75	206,12; 238,72	204,56; 240,31
3	$\bar{x}$	162,57	162,23	160,99	161,93	162,27	162,54	162,43	162,41
	IV	139,91; 192,35	140,81; 182,74	133,10; 183,85	133,10; 192,35	135,86; 187,54	139,62; 188,54	141,36; 187,04	135,86; 188,54
4	$\bar{x}$	246,01	248,06	245,73	246,60	243,66	244,82	243,35	243,94
	IV	207,14; 264,12	224,45; 273,42	222,54; 271,92	207,14; 273,42	216,05; 266,44	221,31; 266,44	219,95; 266,82	216,05; 266,82
5	$\bar{x}$	244,78	248,65	246,29	246,57	244,45	244,53	243,94	244,30
	IV	224,51; 267,06	228,22; 268,31	224,72; 262,75	224,51; 268,31	220,19; 263,90	219,67; 265,27	225,53; 266,27	219,67; 266,27
6	$\bar{x}$	229,48	231,69	231,50	230,89	223,96	224,23	222,98	223,72
	IV	209,17; 249,62	211,03; 251,84	213,45; 248,21	209,17; 251,84	205,00; 244,76	201,52; 240,24	200,60; 244,67	200,60; 244,76
7	$\bar{x}$	175,21	177,94	176,20	176,45	176,28	176,86	175,71	176,28
	IV	152,00; 203,15	149,70; 204,15	151,91; 202,15	149,70; 204,15	151,98; 203,77	156,98; 202,03	154,25; 195,58	151,98; 203,77
8	$\bar{x}$	171,13	170,67	168,86	170,22	165,65	166,83	164,38	165,62
	IV	149,10; 191,81	151,50; 193,34	141,10; 189,64	141,10; 193,34	144,17; 187,31	147,14; 192,08	145,56; 185,31	144,17; 192,08
9	$\bar{x}$	234,07	235,73	234,60	234,80	228,58	229,16	230,29	229,34
	IV	210,40; 255,32	212,96; 256,90	207,46; 260,37	207,46; 260,37	206,05; 250,72	206,42; 253,45	208,30; 249,72	206,05; 253,45
10	$\bar{x}$	186,69	191,80	190,34	189,61	184,63	186,86	186,38	185,96
	IV	160,71; 206,38	170,67; 212,64	163,71; 206,53	160,71; 212,64	160,29; 204,71	163,30; 212,20	163,91; 202,16	160,29; 212,20

Anexo L – Médias ($\bar{x}$) das três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}), média geral e intervalos de variação (IV) para altura de espiga (cm), para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) em cada ambiente (A)

A		TC1				TC2			
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral
1	$\bar{x}$	84,13	86,75	85,31	85,40	93,84	91,03	92,61	92,49
	IV	64,86; 101,59	68,00; 107,76	63,86; 102,72	63,86; 107,76	70,32; 117,18	74,60; 109,09	76,95; 110,18	70,32; 117,18
2	$\bar{x}$	119,35	120,23	120,90	120,16	130,48	127,83	128,44	128,92
	IV	102,85; 133,73	102,75; 132,84	105,33; 133,71	102,75; 133,73	115,65; 146,62	115,61; 143,63	109,43; 143,84	109,43; 146,62
3	$\bar{x}$	75,76	75,71	75,28	75,58	81,98	80,90	80,76	81,21
	IV	59,80; 98,93	62,30; 94,43	58,78; 95,93	58,78; 98,93	64,91; 106,05	63,99; 105,55	64,89; 100,05	63,99; 106,05
4	$\bar{x}$	138,72	142,24	139,42	140,13	148,69	148,18	147,94	148,27
	IV	110,47; 153,39	118,10; 164,25	118,14; 161,75	110,47; 164,25	123,21; 168,98	127,38; 167,03	128,56; 168,30	123,21; 168,98
5	$\bar{x}$	141,90	145,31	143,58	143,59	151,84	150,30	150,27	150,80
	IV	126,23; 154,52	121,88; 159,22	127,06; 158,08	121,88; 159,22	131,18; 170,37	126,35; 167,74	135,26; 172,24	126,35; 172,24
6	$\bar{x}$	118,30	119,78	119,38	119,15	123,70	121,69	121,13	122,17
	IV	98,60; 136,87	96,45; 135,87	106,95; 137,37	96,45; 137,37	105,32; 142,36	107,74; 138,27	97,72; 136,93	97,72; 142,36
7	$\bar{x}$	83,07	84,18	84,02	83,75	92,75	90,65	90,00	91,13
	IV	62,17; 105,09	58,82; 107,59	66,09; 107,59	58,82; 107,59	66,92; 117,76	73,43; 113,19	71,97; 110,59	66,92; 117,76
8	$\bar{x}$	77,44	77,93	75,97	77,11	81,20	80,21	79,51	80,30
	IV	67,23; 89,73	65,55; 89,77	62,55; 89,19	62,55; 89,77	67,81; 93,63	66,87; 95,16	65,51; 92,62	65,51; 95,16
9	$\bar{x}$	126,71	128,02	127,78	127,50	132,85	130,72	133,27	132,28
	IV	103,45; 149,53	107,55; 144,43	104,55; 147,09	103,45; 149,53	109,77; 152,60	113,73; 149,95	107,69; 153,65	107,69; 153,65
10	$\bar{x}$	97,17	99,34	99,04	98,51	101,21	101,25	101,98	101,48
	IV	72,49; 113,91	82,83; 113,47	77,06; 112,33	72,49; 113,91	80,46; 117,44	84,10; 117,83	88,10; 119,51	80,46; 119,51

Anexo M – Médias ($\bar{x}$) das três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}), média geral e intervalos de variação (IV) para posição relativa da espiga, para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2) em cada ambiente (A)

A		TC1				TC2			
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	Geral
1	$\bar{x}$	0,46	0,47	0,47	0,47	0,51	0,50	0,50	0,51
	IV	0,40; 0,50	0,41; 0,53	0,39; 0,51	0,39; 0,53	0,44; 0,58	0,44; 0,56	0,45; 0,55	0,44; 0,58
2	$\bar{x}$	0,53	0,53	0,54	0,54	0,58	0,57	0,57	0,58
	IV	0,49; 0,58	0,49; 0,57	0,50; 0,58	0,49; 0,58	0,53; 0,64	0,53; 0,62	0,52; 0,63	0,52; 0,64
3	$\bar{x}$	0,47	0,47	0,47	0,47	0,50	0,50	0,50	0,50
	IV	0,41; 0,52	0,41; 0,52	0,42; 0,52	0,41; 0,52	0,45; 0,57	0,44; 0,56	0,44; 0,56	0,44; 0,57
4	$\bar{x}$	0,56	0,57	0,57	0,57	0,61	0,60	0,61	0,61
	IV	0,51; 0,60	0,53; 0,61	0,52; 0,61	0,51; 0,61	0,57; 0,66	0,55; 0,65	0,56; 0,65	0,55; 0,66
5	$\bar{x}$	0,58	0,58	0,58	0,58	0,62	0,61	0,62	0,62
	IV	0,54; 0,62	0,53; 0,62	0,55; 0,61	0,53; 0,62	0,57; 0,66	0,57; 0,65	0,57; 0,67	0,57; 0,67
6	$\bar{x}$	0,52	0,52	0,52	0,52	0,55	0,54	0,54	0,55
	IV	0,47; 0,57	0,45; 0,55	0,49; 0,56	0,45; 0,57	0,49; 0,59	0,49; 0,59	0,47; 0,60	0,47; 0,60
7	$\bar{x}$	0,47	0,47	0,47	0,47	0,52	0,51	0,51	0,51
	IV	0,40; 0,53	0,38; 0,53	0,41; 0,54	0,38; 0,54	0,44; 0,58	0,44; 0,58	0,44; 0,57	0,44; 0,58
8	$\bar{x}$	0,45	0,46	0,45	0,45	0,49	0,48	0,48	0,48
	IV	0,41; 0,52	0,40; 0,50	0,40; 0,50	0,40; 0,52	0,44; 0,54	0,42; 0,54	0,44; 0,54	0,42; 0,54
9	$\bar{x}$	0,54	0,54	0,54	0,54	0,58	0,57	0,58	0,58
	IV	0,48; 0,59	0,49; 0,59	0,50; 0,58	0,48; 0,59	0,53; 0,64	0,52; 0,61	0,50; 0,63	0,50; 0,64
10	$\bar{x}$	0,52	0,52	0,52	0,52	0,55	0,54	0,55	0,54
	IV	0,46; 0,57	0,47; 0,56	0,47; 0,57	0,46; 0,57	0,49; 0,60	0,49; 0,61	0,48; 0,60	0,48; 0,61

Anexo N – Médias ($\bar{x}$), intervalos de confiança (IC) ^a e intervalos de variação (IV) ^b para florescimento masculino (FM) e feminino (FF), intervalo entre florescimentos (IF), altura de planta (AP) e espiga (AE) e posição relativa da espiga (PRE) nas três gerações de retrocruzamentos (G_{RC1} , G_{RC2} e G_{RC3}) para os testecrosses provenientes dos testadores L-02-03D (TC1) e L-04-05F (TC2), avaliados em diversos ambientes

Caráter		TC1			TC2		
		G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}	G_{RC1}	G_{RC2}	G_{RC3}
FM (dias)	$\bar{x}$	63,42	63,98	63,77	62,85	63,02	63,05
	IC	62,05; 64,79	62,61; 65,35	62,40; 65,14	61,25; 64,45	61,42; 64,62	61,45; 64,65
	IV	61,68; 64,64	62,50; 65,49	62,37; 65,96	61,31; 64,54	61,37; 64,74	61,66; 64,53
FF (dias)	$\bar{x}$	64,77	64,76	64,83	65,08	64,72	64,98
	IC	63,59; 65,95	63,58; 65,94	63,65; 66,01	63,55; 66,61	63,19; 66,25	63,45; 66,51
	IV	63,06; 66,38	63,06; 66,17	63,27; 66,81	63,52; 67,02	63,13; 66,08	63,72; 66,31
IF (dias)	$\bar{x}$	1,34	0,79	1,07	2,23	1,70	1,93
	IC	-0,07; 2,75	-0,62; 2,20	-0,34; 2,48	1,05; 3,41	0,52; 2,88	0,75; 3,11
	IV	0,63; 2,55	0,11; 1,78	0,45; 1,90	1,41; 3,04	0,73; 2,47	0,79; 2,82
AP (cm)	$\bar{x}$	205,53	207,57	206,08	203,52	204,07	203,61
	IC	194,97; 216,09	197,01; 218,13	195,52; 216,64	195,33; 211,71	195,88; 212,26	195,42; 211,80
	IV	193,30; 218,59	194,79; 219,67	192,90; 219,29	193,09; 216,70	194,67; 214,99	195,03; 214,60
AE (cm)	$\bar{x}$	106,25	107,95	107,07	113,85	112,27	112,59
	IC	98,49; 114,01	100,19; 115,71	99,31; 114,83	105,60; 122,10	104,02; 120,52	104,34; 120,84
	IV	96,05; 114,80	98,65; 118,94	97,44; 118,34	102,80; 123,32	102,76; 122,22	103,06; 123,60
PRE	$\bar{x}$	0,51	0,51	0,51	0,55	0,54	0,55
	IC	0,49; 0,53	0,49; 0,53	0,49; 0,53	0,52; 0,58	0,51; 0,57	0,52; 0,58
	IV	0,49; 0,53	0,49; 0,54	0,49; 0,53	0,52; 0,57	0,51; 0,57	0,52; 0,58

^a Intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade; ^b Intervalo de variação (valor _{mínimo}; valor _{máximo}).