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

**Epistasia na herança da resistência do milho ao gorgulho
Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae)**

Alexandre Augusto de Moraes

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

**Piracicaba
2012**

Alexandre Augusto de Moraes
Engenheiro Agrônomo

**Epistasia na herança da resistência do milho ao gorgulho
Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae)**

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
2012**

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

Morais, Alexandre Augusto de
Epistasia na herança da resistência do milho ao gorgulho *Sitophilus zeamais*
(Coleoptera: Curculionidae) / Alexandre Augusto de Moraes.- - Piracicaba, 2012.
95 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Epistasia 2. Gorgulhos 3. Milho 4. Resistência genética vegetal I. Título

CDD 633.15
M827e

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

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha esposa Taislene,
e aos meus pais José Lázaro e Maria Elena.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas conquistas obtidas até agora.

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) pela oportunidade de receber ótimos ensinamentos e, em especial, ao Departamento de Genética e Melhoramento de Plantas pelo suporte acadêmico oferecido.

Ao professor Cláudio Lopes de Souza Júnior pela oportunidade oferecida, pela orientação dedicada, competente e paciente e pelo exemplo de compromisso com a ciência.

Ao professor José Djair José Vendramim, por ceder os laboratórios de resistência de plantas a insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia Agrícola da ESALQ/USP para realização dos bioensaios e pelos conhecimentos e experiência transmitida.

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

Aos funcionários do laboratório de milho do Departamento de Genética: Antônio Juscelino Desidério, Almir Gil de Oliveira e ao senhor Ariberto Soares, pela amizade e apoio recebido na condução dos experimentos.

A Taislene Butarello Rodrigues de Moraes, minha esposa, pelo amor, paciência, apoio e companheirismo dedicado nessa fase de nossas vidas.

Aos colegas de curso e do laboratório de melhoramento de milho pelo apoio, amizade e conhecimentos compartilhados: Diego Velásquez, Gustavo Môro, Luciana Chaves, Mateus Santos, Marcela Mendes, Melina Andrade, Paolo Orlando, Pedro Belicuas, Pedro Mendonza, Roberto Neto, Rúben Díaz, Sanzio Barrios, Thiago Ricielli e Vitor Barbieri. Agradecimento especial ao colega Leandro Ribeiro (entomologia) pela parceria na condução da criação dos gorgulhos e bioensaios.

A todos meus amigos da pós-graduação, em especial, Flávia Amorim, Guilherme Farias, Larissa de Castro e Inocência J. de Oliveira pela amizade.

Aos meus pais, José e Maria, meus irmãos, Patrícia e Rodrigo pelo amor, constante apoio e torcida.

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

Muito obrigado a todos

EPÍGRAFE

“Não sabendo que era impossível, ele foi lá e fez”

Jean Cocteau

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
LISTA DE TABELAS	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 DESENVOLVIMENTO	21
2.1 Revisão bibliográfica	21
2.1.1 Resistência de plantas a insetos	21
2.1.2 Aspectos biológicos do <i>Sitophilus zeamais</i>	22
2.1.3 Resistência do milho ao <i>Sitophilus zeamais</i>	23
2.1.4 Epistasia.....	24
2.1.5 Uso do método Triple Test Cross (TTC).....	28
2.1.6 Emprego do método <i>TTC</i> em milho	31
2.1.7 Implicações da epistasia no melhoramento de milho	34
2.2 Material e métodos.....	36
2.2.1 Material genético	36
2.2.2 Obtenção das progênies de retrocruzamento	36
2.2.3 Procedimento experimental.....	38
2.2.3.1 Ambientes de avaliação	38
2.2.3.2 Delineamento experimental.....	38
2.2.4 Ensaios de resistência.....	38
2.2.4.1 Criação de manutenção de <i>Sitophilus zeamais</i> Mots.	39
2.2.4.2 Montagem dos bioensaios.....	39
2.2.5 Análises estatístico-genéticas	41
2.2.5.1 Análises de variância.....	41
2.2.5.2 Estimativas de epistasia para as análises individuais e conjunta.....	47

2.2.5.3 Estimativas de efeitos epistáticos em cada planta F_2 nas análises individuais e conjunta	48
2.2.5.4 Correspondência de plantas epistáticas entre os caracteres.....	49
2.2.5.5 Estimativa dos componentes de variância para as análises individuais e conjunta.....	49
2.2.5.6 Análises de covariância e correlações entre caracteres	52
2.3 Resultados e discussão	55
2.3.1 Médias e análises de variância	55
2.3.2 Estimativa dos efeitos epistáticos	62
2.3.3 Estimativas de efeitos epistáticos em plantas F_2	64
2.3.4 Estimativas de componentes de variância e parâmetros genéticos	68
2.3.5 Correlações entre caracteres.....	74
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
REFERÊNCIAS	81
ANEXOS.....	91

RESUMO

Epistasia na herança da resistência do milho ao gorgulho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)

Considerado um dos aspectos mais complexos da genética quantitativa, a epistasia tem sido ignorada pelos melhoristas nos estudos de herança dos caracteres, principalmente os da herança da resistência de plantas a insetos, que são de difícil obtenção. No milho, a principal praga de grãos é o *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), devido a sua capacidade de atacar grãos tanto no campo quanto em silos. Contudo, as estimativas dos componentes aditivo e de dominância envolvidos na herança dessa resistência podem estar viesadas pela presença do efeito da epistasia. Utilizando o delineamento triple testcross, os objetivos deste trabalho foram: (i) verificar a presença da epistasia para os caracteres relacionados à resistência do milho ao *S. zeamais*; (ii) estimar os efeitos epistáticos em cada planta F_2 ; e (iii) estimar o efeito da interação epistasia x ambientes para estes caracteres. As 300 progênies de retrocruzamentos utilizadas nesse estudo foram avaliadas em dois ambientes no município de Piracicaba/SP, em delineamento alfa-látice 15 x 20, no esquema fatorial com duas repetições por ambiente. Os caracteres avaliados foram: número de insetos mortos (NM); número de insetos emergidos (EM); tempo médio de desenvolvimento dos insetos (TM); índice de suscetibilidade (IS) e perda percentual de massa seca dos grãos (PE). No ambiente E. E. Anhumas a presença da epistasia foi detectada para todos os caracteres; porém, no ambiente Caterpillar o efeito da epistasia não foi detectado para nenhum dos caracteres. Na análise conjunta, os efeitos epistáticos foram detectados para os caracteres NM, EM, IS e PE. O efeito da epistasia do tipo aditivo x dominante e/ou dominante x dominante foi mais importante para todos os caracteres que a epistasia do tipo aditiva x aditiva. A interação da epistasia com os ambientes foi significativa apenas para os caracteres TM e PE. Identificaram-se efeitos epistáticos bidirecionais significativos em plantas F_2 para todos os caracteres no ambiente E. E. Anhumas e para os caracteres NM, EM, IS e PE na análise conjunta. O grande número de plantas F_2 que apresentaram epistasia para mais de um caráter simultaneamente sugere a presença de epistasia pleiotrópica. As estimativas da variância aditiva e da interação aditiva com ambientes foram significativamente maiores que as das variâncias de dominância para a maioria dos caracteres. As magnitudes das estimativas dos coeficientes de herdabilidade para todos os caracteres variaram de baixas a medianas. A alta correlação genética entre os caracteres EM e PE sugere que o caráter PE, que é de difícil avaliação, pode ser selecionado indiretamente através do caráter EM que é de fácil avaliação para programas de melhoramento visando resistência ao *S. zeamais*. Os resultados obtidos na análise conjunta sugerem que, na população estudada, a epistasia constitui um componente importante da variância genética, de forma que as estimativas da variância aditiva, de dominância, graus médios de dominância e coeficientes de herdabilidade estão viesadas.

Palavras-chave: Epistasia; Interação tripla; Resistência de plantas; *Zea mays*; *Sitophilus zeamais*

ABSTRACT

Epistasis in the inheritance of maize resistance to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)

Considered one of the most complex components in quantitative genetics, the epistasis has been ignored by plant breeders, especially in inheritance studies of plant resistance, because the traits are laborious to evaluate. *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) is an important grain pest, due to its ability to attack in both field and silo conditions. However, the estimation of additive and dominance components in the inheritance of resistance to this pest may be biased due to epistatic effects. With the use of the triple test cross design, this research was aimed to: (i) verify the role of epistasis in the inheritance of maize resistance to *S. zeamais*, (ii) estimate the epistatic effects in the resistance traits of each F₂ plant; (iii) estimate the epistasis x environment interaction. The 300 backcross progenies of this study were evaluated in two environments at Piracicaba, Brazil, in 2008/2009 growing season, using an alpha-lattice 15 x 20 design in a factorial arrangement with two replications per environment. The recorded traits were: number of dead weevils (NDW); number of emerged weevils (EW); mean development period (DP); index of susceptibility (IS) and the percentage of dry grain weight loss (DGWL). The epistatic effects were detected in Anhumas Experimental Station (AES) environment for all traits although they were absent in Caterpillar Experimental Station environment. In the combined analysis epistasis was detected for NDW, EW, IS and DGWL traits. The additive x dominance and/or dominance x dominance epistasis were more important than the additive x additive epistasis for all traits. The epistasis x environment interaction was significant only for traits DP and DGWL. Significant epistatic effects, which were not unidirectional, were detected in F₂ plants for all traits in AES and for the traits NDW, EW, IS and DGWL in the combined analysis. Several F₂ plants presented epistasis for more than one trait simultaneously suggesting the presence of pleiotropic epistasis. Estimates of additive, dominance and the additive by environment interaction variances were significant for all traits. Estimates of additive and additive by environment interaction variances were significantly higher than those of dominance variance for most of the traits. The magnitudes of the heritability coefficients estimates ranged from low to intermediate. The genetic correlation between EW and DGWL traits suggests that DGWL, which is difficult to evaluate, can be indirectly selected by the EW trait, which is easier to evaluate, in a breeding program. The results from the combined analysis suggests that, in the population studied, the epistasis is an important component of the genetic variance; therefore, estimates of additive, dominance variance, the average levels of dominance and heritability coefficients are biased.

Keywords: *TTC*; Epistasis; Triple interaction; Plant resistance; *Zea mays*; *Sitophilus zeamais*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo da análise de variância individual com as esperanças dos quadrados médios e testes de F	44
Tabela 2 - Resumo da análise de variância conjunta, com as esperanças dos quadrados médios e testes de F	45
Tabela 3 - Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variâncias do delineamento <i>triple test cross</i> (TTC), médias gerais e coeficientes de variação (CV%) para caracteres relacionados à resistência ao <i>S. zeamais</i> de uma população de milho avaliada na E. E. Anhumas.....	58
Tabela 4 - Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variâncias do delineamento <i>triple test cross</i> (TTC), médias gerais e coeficientes de variação (CV%) para caracteres relacionados à resistência ao <i>S. zeamais</i> de uma população de milho avaliada na E. E. Caterpillar.....	59
Tabela 5 - Valores e significâncias dos quadrados médios do delineamento <i>triple test cross</i> (TTC), médias gerais e coeficientes de variação (CV%) da análise de variância conjunta dos ambientes E. E. Anhumas e E. E. Caterpillar para caracteres relacionados à resistência do <i>S. zeamais</i> de uma população de milho	61
Tabela 6 - Valores e significâncias dos efeitos epistáticos de plantas F_2 para caracteres relacionados à resistência ao <i>S. zeamais</i> de uma população de milho avaliada do E. E. Anhumas.....	65
Tabela 7 - Valores e significâncias dos efeitos epistáticos de plantas F_2 da análise de variância conjunta dos ambientes Anhumas e Caterpillar para caracteres relacionados à resistência do <i>S. zeamais</i> de uma população de milho .	66
Tabela 8 - Número de plantas F_2 (diagonal inferior) e porcentagem de plantas F_2 (diagonal superior) com efeitos epistáticos significativos coincidentes entre os caracteres no ambiente E. E. Anhumas.....	67
Tabela 9 - Números de plantas F_2 (diagonal inferior) e porcentagem de plantas F_2 (diagonal superior) com efeitos epistáticos significativos coincidentes entre os caracteres na análise conjunta	67

Tabela 10 - Estimativas dos parâmetros genéticos e seus respectivos intervalos de confiança para caracteres relacionados à resistência ao <i>S. zeamais</i> em uma população de milho avaliada na E. E. Anhumas.....	68
Tabela 11 - Estimativas dos parâmetros genéticos e seus respectivos intervalos de confiança para caracteres relacionados à resistência ao <i>S. zeamais</i> em uma população de milho avaliada no ambiente E. E. Caterpillar.....	69
Tabela 12 - Estimativa dos parâmetros genéticos e seus respectivos intervalos de confiança da análise de variância conjunta dos ambientes E. E. Anhumas e E. E. Caterpillar para caracteres relacionados à resistência do <i>S. zeamais</i> em uma população de milho	71
Tabela 13 - Estimativas das correlações fenotípicas ($\hat{r}_F$), (diagonal acima) e genéticas ($\hat{r}_G$), (diagonal abaixo) entre os caracteres avaliados	75

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é cultivado na maioria dos países, representando o segundo cereal mais importante em termos de produção mundial, sendo superado apenas pelo trigo. Os Estados Unidos, a China e o Brasil são os principais países produtores e os maiores consumidores. No Brasil, 80% da produção de milho é destinada ao consumo animal (CONAB, 2008). Um bom armazenamento é necessário para garantir o abastecimento de milho para a utilização ao longo do ano, prevenir eventuais períodos de escassez, proporcionar maior estabilidade dos preços e preservar as qualidades físico-químicas e nutricionais dos grãos (FAO, 1985). Vale ressaltar que, mesmo sob boas condições de armazenamento, podem ocorrer perdas causadas por insetos, fungos, ácaros, roedores e pássaros (LAZZARI, 1997).

O gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), destaca-se como uma das principais pragas do milho armazenado devido a sua elevada taxa de reprodução, capacidade de atacar grãos, tanto no campo, quanto em silos, e de sobreviver a grandes profundidades na massa dos grãos (GALLO et al., 2002). Os principais prejuízos causados por *S. zeamais* são a perda de massa, do poder germinativo das sementes e do valor nutritivo, ocasionando a desvalorização comercial do produto (LAZZARI, 1997). Além disso, favorece o desenvolvimento de fungos de armazenamento, como o *Aspergillus flavus*, e a consequente produção de aflatoxinas (BETI; PHILLIPS; SMALLEY, 1995).

Em decorrência dos prejuízos causados por *S. zeamais* e por outras pragas, faz-se necessária a utilização contínua de medidas de controle. No Brasil aplicam-se, principalmente, os inseticidas protetores e os fumigantes, porém o uso indiscriminado destes tem gerado problemas como a seleção de populações de insetos resistentes e a contaminação de alimentos com resíduos de ingredientes ativos (LORINI, 2001). A utilização de plantas resistentes a insetos tem sido um método de controle eficiente no controle de pragas e apresenta uma série de vantagens com relação ao uso dos inseticidas químicos: não onera o custo de produção, não oferece riscos para a saúde humana e animal, reduz perdas quantitativas e qualitativas dos grãos e alguns estudos têm demonstrado a existência de genótipos de milho resistentes ao ataque de insetos-praga durante o armazenamento (MAZZONETO; BOIÇA JÚNIOR, 1999; MARSARO JÚNIOR et al., 2005a; MARSARO JÚNIOR et al., 2005b).

O conhecimento da herança de caracteres um pré-requisito importante para a condução de programas de melhoramento genético que visam obter genótipos (populações, linhagens e híbridos) resistentes a *S. zeamais*. Entretanto, as estimativas dos parâmetros genéticos podem estar viesadas pela presença do efeito da epistasia uma vez que os modelos utilizados para determinar o comportamento da variância genética da resistência do milho ao *S. zeamais* desconsidera os efeitos epistáticos (WIDSTROM; HANSON; REDLINGER, 1975; TIPPING et al., 1988; KANG; ZHANG; MAGARI, 1995; DERERA; PIXLEY; GIGA, 2001; DERERA; GIGA; PIXLEY, 2001; DHLIWAYO; PIXLEY, 2003; GARCIA-LARA et al., 2009).

Para os caracteres quantitativos a epistasia é definida como sendo o desvio ocorrido quando o efeito aditivo combinado de dois ou mais genes não explica o valor genotípico esperado (FALCONER; MACKAY, 1996). Fisher (1918) descreveu a epistasia como sendo o desvio do modelo linear aditivo, e foi o primeiro autor a decompor a variância genética em aditiva, dominante e epistática, sendo essa última considerada uma das mais complexas na herança dos caracteres quantitativos. A importância da epistasia na herança dos caracteres quantitativos ainda é pouco conhecida e a maioria dos modelos genético-estatísticos utilizados nos estudos da herança de tais caracteres o desconsidera. No entanto, em milho, vários estudos têm relatado que a epistasia desempenha um papel importante na expressão de diversos caracteres (LAMKEY; SCHNICKER; MELCHINGER, 1995; WOLF; HALLAUER, 1997; ETA-NDU; OPENSHAW, 1999; SOFI; RATHER; VENKATESH, 2006; SILVA, 2011; GARCÍA MENDOZA, 2011; SILVA DÍAZ, 2011). Quando presente, a epistasia ocasiona um viés nas estimativas dos componentes da variância aditiva e de dominância levando a estimativas viesadas de parâmetros genéticos importantes, tais como o coeficiente de herdabilidade e a resposta esperada com a seleção (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999).

Kearsey e Jinks (1968) desenvolveram o delineamento genético denominado *Triple Test Cross* (TTC), como sendo uma extensão do delineamento III de Comstock e Robinson (1952), o qual pode ser utilizado para detectar a epistasia em caracteres quantitativos, além de fornecer estimativas apropriadas da variância genética aditiva e de dominância, na ausência dos efeitos epistáticos (WOLF; HALLAUER, 1997; SALEEM et al., 2005). Por ser um delineamento eficiente, o TTC é bastante empregado em estudos de herança dos caracteres quantitativos em diversas culturas (WOLF; HALLAUER, 1997; SALEEM et al., 2005).

Portanto, o TTC pode fornecer informações adicionais sobre a importância dos efeitos da epistasia na herança dos caracteres quantitativos, principalmente na herança da resistência de plantas a insetos. Dessa forma, os objetivos deste trabalho foram: (i) verificar a presença da epistasia para os caracteres relacionados à resistência do milho ao *S. zeamais*, utilizando o delineamento *TTC* em milho; (ii) estimar os efeitos epistáticos em cada planta F_2 para os respectivos caracteres; (iii) estimar o efeito da interação epistasia x ambientes.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 Resistência de plantas a insetos

A herança da resistência a artrópodes vem sendo extensivamente estudada e documentada (KHUSH; BRAR, 1991; GATEHOUSE; BOULTER; HILDER, 1994; VENDRAMIM; NISHIKAWA, 2001; SMITH, 2005). Os estudos iniciais datam do início do século, quando Harlan (1916) demonstrou que a resistência ao ácaro *Eriophyes gossypii* Banks é um caráter herdável no algodão. Painter (1951) definiu a resistência de plantas a insetos como a soma relativa das qualidades hereditárias destas, as quais influenciam na intensidade do dano provocado pelo inseto. Esse mesmo autor explica que a resistência é (i) relativa, pois é sempre comparada em relação a outro genótipo sob uma mesma condição de infestação da praga; (ii) hereditária, e (iii) específica, pois a variedade é resistente a uma praga e susceptível a outras pragas.

Os mecanismos que explicam a resistência de plantas são: antixenose ou não preferência (para oviposição, alimentação e abrigo), antibiose (efeito adverso da planta sobre a biologia do inseto) e tolerância (capacidade da planta de resistir ao dano causado pelo inseto), sendo que esses podem agir de forma conjunta ou isoladamente (PAINTER, 1951, GALLO et al., 2002). Ao comparar um grupo de genótipos entre si em relação ao ataque de uma praga é possível encontrar os seguintes níveis de resposta: imunidade; alta resistência; resistência moderada; suscetibilidade e alta suscetibilidade (VENDRAMIM; NISHIKAWA, 2001).

A herança da resistência pode ser qualitativa ou quantitativa (VENDRAMIM; NISHIKAWA, 2001). A resistência qualitativa é denominada de resistência específica ou vertical, sendo controlada por poucos genes, resultando em classes distintas de plantas resistentes e suscetíveis. A resistência controlada por vários genes é considerada quantitativa, sendo denominada de poligênica ou horizontal (FEHR, 1987). Na resistência horizontal, o número de genes envolvidos no controle do caráter é maior e apresenta uma distribuição contínua de danos (níveis de resposta), desde altamente suscetível até altamente resistente (FALCONER; MACKAY, 1996).

Nos estudos de determinação da resistência os diferentes efeitos genéticos (aditivos, dominantes e epistáticos) podem ser observados (SMITH, 2005). Meridith e Laster (1975) detectaram evidências da ação gênica aditiva para a tolerância do algodão ao percevejo *Lygus lineolaris*. Wilson e George (1983) observaram que efeitos epistáticos estavam envolvidos na herança da resistência do algodão à lagarta rosada *Pectinofora gossypiella*. Park et al, (1994) observaram que em feijão, a presença de tricomas nas plantas é o mecanismo envolvido na resistência da cigarrinha *Empoasca* sp, esses autores verificaram ainda que a expressão desse caráter é afetada pela ação da epistasia. Warnock, Davis e Gingera (1998) demonstraram que a resistência do milho ao ataque da *Ostrinia nubilalis* é um caráter complexo em que estão envolvidos os efeitos aditivos, dominantes e epistáticos. O efeito epistático também está presente na resistência do tomate ao pulgão *Macrosiphum euphorbiae* (PATHAK, 1970).

2.1.2 Aspectos biológicos do *Sitophilus zeamais*

A cultura do milho é alvo de várias pragas que atacam as raízes, colmo, folhas e espiga (GALLO et al. 2002). No Brasil existem 20 pragas principais que atacam o milho, em relação a grãos armazenados, a praga que causa maiores perdas é o gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* podendo ocasionar perdas que atingem até 30% dos grãos armazenados (MIRANDA et al. 1995; CRUZ; VALICENTE e SANTOS, 1997).

Cerca de 30 espécies de curculionidae são encontradas em produtos armazenados em várias partes do mundo (MOUND, 1989). Nessa família estão incluídas três espécies de grande importância, como pragas de grãos armazenados pertencentes ao gênero *Sitophilus* que podem ser encontradas infestando trigo, aveia, centeio, cevada, arroz e milho (LYON, 2001).

O *Sitophilus zeamais* Motschulsky é uma praga primária encontrada em todas as regiões quentes e tropicais do mundo, e oviposita preferencialmente em milho, trigo, arroz e sorgo (DOBIE et al., 1984). A biologia do *S. zeamais* em milho, a 28°C e 60% de umidade relativa apresenta os seguintes aspectos biológicos médios: 5,9 dias de período de pré-postura; 104,3 dias de período de postura; oviposição de 282,2 ovos por fêmea durante toda a vida, longevidade dos machos de 142 dias; longevidade das fêmeas de 140,5 dias; período de ovo à fase adulta de 34 dias;

período de incubação de 3 a 6 dias; proporção de 48,1% de machos e 51,9% de fêmeas e a proporção de ovos que se desenvolvem até a fase adulta é de 26,9% (GALLO et al., 2002).

2.1.3 Resistência do milho ao *Sitophilus zeamais*

A resistência do milho ao *S. zeamais* é um caráter que deve ser investigado na semente em sua totalidade, pois a colonização, alimentação e atividade reprodutiva do inseto ocorrem exclusivamente dentro da semente de milho. Os insetos adultos se alimentam, acasalam e ovipositam nos grãos, enquanto as larvas se alimentam e crescem dentro destes (SERRATOS et al. 1994). A semente não dispõe apenas da resistência física fornecida pelo pericarpo, mas também de compostos químicos que ficam armazenados e que podem afetar o ciclo de desenvolvimento do *S. zeamais*. Os caracteres específicos associados aos tecidos do grão são os ácidos fenólicos (associados ao pericarpo e embrião), inibidores de proteinases (endosperma e embrião) e dureza do grão (pericarpo, endosperma e embrião) (SADASIVAM; THAYUMANAVAN; 2003).

Singh e McCain (1963) e Veiga (1969) observaram que a composição química e, principalmente, os baixos teores de açúcares são fatores importantes para a resistência, enquanto Gupta, Asnani e Khare (1970), Dobie (1973) e Wheatley (1973) concluíram que os grãos farináceos (também conhecidos como grãos moles ou dentados) são mais susceptíveis ao ataque de gorgulho do que os grãos com endosperma vítreo (também conhecidos como grãos duros ou *flint*). Classen et al. (1990) verificaram que o teor de proteínas se correlaciona negativamente com o número de ovos colocados pelas fêmeas nos grãos. Arnason et al. (1993) constataram que o teor de lipídios se correlaciona negativamente com a suscetibilidade dos genótipos ao ataque de *S. zeamais*. Serratos et al. (1993), verificaram que o teor de compostos fenólicos se correlaciona negativamente com a emergência de insetos. Marsaro Júnior et al. (2005a) verificaram que inibidores de α -amilase de *S. zeamais*, presentes em híbridos de milho, correlacionam-se negativamente com a suscetibilidade dos híbridos ao ataque dos gorgulhos.

Vários estudos relatam a herança complexa da resistência dos grãos de milho ao ataque do *S. zeamais*. Schoonhoven et al. (1975), identificou que o efeito materno está relacionado com a expressão da resistência. De acordo com Tipping et

al. (1988), o pericarpo, que é de origem inteiramente materna, é o componente de maior importância para resistência do milho à oviposição do gorgulho. Kang, Zhang e Magari (1995), utilizando um cruzamento dialélico entre 10 linhagens para investigar a capacidade de combinação para preferência de alimentação desse inseto, relataram que os efeitos da aditividade, não aditividade e maternos são importantes para esse caráter. Tipping et al. (1989), constataram que a capacidade geral de combinação (CGC) contribui com 62,5 % e a da capacidade específica de combinação (CEC) foi de 37,5% indicando que os efeitos aditivos relacionados à CGC teve uma maior importância em relação aos efeitos não aditivos (dominância e epistasia) que são relacionados à CEC. Derera, Pixley e Giga (2001) e Derera, Giga e Pixley (2001) realizando ensaios com 18 híbridos para resistência ao *S. zeamais*, também relataram a presença de efeitos aditivos em ensaios onde os insetos são confinados nas placas contendo cada híbrido de milho e também em testes onde o inseto tem a possibilidade de escolher o híbrido desejado. Dhliwayo e Pixley (2003), avaliando a perda de peso das sementes e o índice de suscetibilidade, relataram que os efeitos aditivos e maternos são importantes na determinação de genótipos resistentes ao *S. zeamais*. García-Lara et al. (2009), mapearam QTLs associados à resistência do milho tropical para os caracteres dureza de grão, dano do grão, perda de peso de matéria seca, índice de suscetibilidade e total de insetos emergidos na progênie. Os autores constataram a presença de cinco QTLs dispersos no genoma do milho explicavam 28% da variância fenotípica (σ_F^2) e 50 % da variância genotípica (σ_G^2); seis QTLs foram identificados para perda de peso no grão, explicando 22% e 47% da σ_F^2 e σ_G^2 , respectivamente; sete QTLs (27% da σ_F^2 e 78% da σ_G^2) foram identificados para o índice de suscetibilidade e três QTLs para total de insetos emergidos (10% da σ_F^2 e 23% da σ_G^2). Entretanto nenhum dos trabalhos publicados acima considera o efeito da epistasia no estudo da herança da resistência do milho ao *S. zeamais*.

2.1.4 Epistasia

Para definir os efeitos dos alelos de um gene mascarando o efeito dos alelos de outros genes, causando distorções na segregação mendeliana, Bateson (1909) propôs o termo epistasia. Desde 1930, geneticistas têm descrito e classificado uma série de segregações, como os casos clássicos de interação digênica de genes. Eles

incluem epistasia dominante (com segregação de 12:3:1), epistasia recessiva (9:3:4), epistasia duplicada (15:1) e epistasia complementar (9:7) (BERNARDO, 2002). Na genética quantitativa, o termo epistasia tem sido usado para descrever os desvios que ocorrem quando o efeito aditivo combinado de dois ou mais genes não explica um valor genotípico. Nesse caso, o efeito combinado desses genes sobre um fenótipo não pode ser predito a partir da soma dos seus efeitos individuais, sendo esses desvios denominados de epistáticos (FALCONER; MACKAY, 1996). De acordo com Fisher (1918), a variância genética pode ser dividida em: (1) componente aditivo, associado ao efeito médio dos genes, (2) componente de dominância, devida às interações alélicas e (3) componente epistático, devido às interações interalélicas, comprovando dessa maneira, através de um modelo genético-estatístico, que a epistasia é parte integrante da variância genética. Cockerham (1954) e Kempthorne (1954), a partir de um modelo genético baseado em componentes de variância genética, decompuseram a epistasia em diferentes tipos, de acordo com a ação individual dos locos, como: (1) aditiva x aditiva (aa) ou homozigota x homozigota; (2) interação aditiva x dominante (ad) ou dominante x aditiva (da), podendo ser também denominada como homozigota x heterozigota ou heterozigota x homozigota; e (3) interação dominante x dominante (dd) ou heterozigota x heterozigota. Desse modo, pode-se considerar a existência de muitas formas de epistasia, cada qual relacionada a uma maneira particular em que os genes interagem. Tomando como exemplo dois locos, a interação aditiva x aditiva é a interação entre os efeitos aditivos dos dois locos, aditiva x dominante é a interação entre o efeito aditivo de um loco e os desvios de dominância do outro, e dominante x dominante é a interação entre os desvios de dominância dos dois locos.

Apesar de a epistasia já ser conhecida desde o início dos estudos em genética, a sua importância para os processos evolutivos e para o melhoramento de plantas é bastante discutida atualmente na literatura. Cheverud e Routman (1996) reportaram que a epistasia pode exercer um efeito importante na dinâmica das populações e no processo evolutivo das espécies. As interações epistáticas estão envolvidas na história evolutiva das espécies, como por exemplo, na esterilidade feminina em arroz (KUBO; YOSHIMURA, 2005), no comportamento de acasalamento em moscas domésticas (MEFFERT, 2000), e em vários outros caracteres morfológicos em plantas e animais (ROFF; EMERSON, 2006). Estudos envolvendo modelos teóricos indicam que, em populações que sofreram o efeito de

“gargalo” ou subdivisão, a variância epistática pode ser convertida em variância genética aditiva, na qual a seleção natural atua, permitindo uma rápida adaptação a novos ambientes (GOODNIGHT, 1988; WADE, 1992). A conversão da variância epistática em aditiva representa um mecanismo específico, pelo qual o progresso da seleção é mantido, apesar do estreitamento da base genética (BERNARDO, 2002). Rasmusson e Phillips (1997) consideraram que a epistasia é uma das razões do contínuo sucesso dos ciclos avançados de seleção, principalmente em função do componente aditivo x aditivo da variância epistática, que é um dos mecanismos que mantêm o progresso com a seleção em espécies que possuem uma base genética estreita.

Têm-se relatado a presença da epistasia para diversos caracteres de importância agrônômica em várias culturas, entre elas, o milho (WOLF; HALLAUER, 1997; ETA-NDU; OPENSHAW, 1999; SILVA, 2011; GARCÍA MENDOZA, 2011; SILVA DÍAZ, 2011), a soja (BARONA; COLOMBARI FILHO; GERALDI, 2009), o feijão (JOHNSON; GEPTS, 2002), o arroz (LI et al., 2001), o girassol (RAO et al., 2004), o tomate (CAUSSE et al., 2007), o trigo (NANDA; SINGH; CHAND, 1989), entre outras. Moreto (2008), a partir de uma revisão de trabalhos da literatura envolvendo a epistasia no estudo da herança de caracteres em algumas espécies cultivadas, verificou que dos 79 caracteres avaliados em sete diferentes culturas, a epistasia foi detectada em 70,9% deles, sendo que em 59,5% dos caracteres foi detectada a epistasia do tipo aditiva x aditiva e em 64,6% a do tipo aditiva x dominante e/ou dominante x dominante. Para Hallauer (2007) e Sofi, Rather e Venkatesh (2006), é evidente que os efeitos epistáticos estejam presentes em caracteres quantitativos, em virtude do grande número de locos envolvidos nesses tipos de caracteres. De acordo com Causse et al. (2007), a presença da epistasia pode ter consequências importantes nos programas de melhoramento genético em relação ao sucesso na detecção, introgressão e caracterização de genes ou regiões contendo genes que controlam caracteres quantitativos (QTL), devido ao efeito de um gene ou QTL, envolvido na herança desses caracteres, possivelmente alterado por interações epistáticas com outros genes ou QTL.

Nos estudos de herança dos caracteres quantitativos, a presença da epistasia é difícil de ser detectada devido a limitações das metodologias utilizadas para sua obtenção. Além disso, a maioria desses estudos consideram apenas os efeitos genéticos aditivos e de dominância nos modelos genético-estatísticos, descartando

a epistasia, por considerá-la um fenômeno raro, ou de menor importância, embora as análises não forneçam um teste válido para tal suposição (KEARSEY; JINKS, 1968). Stuber e Moll (1971) salientam, que embora essa suposição possa ser razoável para algumas populações, é improvável a ausência de interações não alélicas em caracteres quantitativos. Segundo os autores, o pequeno grau de importância atribuído aos efeitos epistáticos parece derivar do tipo de abordagem experimental e do modelo utilizado. A ausência de um delineamento genético adequado pode resultar em estimativas dos componentes genéticos, aditivo e de dominância viesadas pela presença dessas interações epistáticas (SOFI; RATHER; WARSI, 2007). 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 das análises genético-estatísticas.

Segundo Bernardo (2002), a desconsideração da variância epistática nos modelos utilizados para estudar a arquitetura genética dos caracteres quantitativos, deve-se ao fato de que a sua inclusão nos modelos para obtenção das estimativas dos componentes da variância genética é dificultada pelas seguintes razões: (i) são necessários componentes adicionais de covariância para se estimar a variância aditiva x aditiva (σ_{AA}^2), aditiva x dominante (σ_{AD}^2), dominante x dominante (σ_{DD}^2) e as variâncias de ordens superiores. Isso por que os delineamentos apropriados (trialelo, quadranelo, combinação de delineamentos) que permitem estabelecer essas covariâncias adicionais, necessitam de experimentos extensos e mais difíceis de instalar que os comumente utilizados; (ii) espera-se que a magnitude da variância epistática seja menor que a da aditiva (σ_A^2) e a de dominância (σ_D^2). Portanto, baixas magnitudes da variância epistática implica que os vieses esperados, devido à epistasia nas estimativas da σ_A^2 e σ_D^2 também sejam pequenos. Assim, qualquer viés na σ_A^2 e σ_D^2 seria pequena se a epistasia fosse excluída; (iii) as σ_{AA}^2 , σ_{AD}^2 , σ_{DD}^2 e as variâncias epistáticas de ordens superiores são, por natureza, difíceis de estimar separadamente da σ_A^2 e σ_D^2 , uma vez que os coeficientes para as variâncias epistáticas na covariância entre parentes são quadrados ou produtos dos coeficientes da $\hat{\sigma}_A^2$ e $\hat{\sigma}_D^2$. Como tais, os coeficientes das σ_A^2 e σ_D^2 e das σ_{AA}^2 , σ_{AD}^2 e σ_{DD}^2 entre os diferentes tipos de parentes são correlacionados, o que causa um problema de multicolinearidade e traz, como consequência, erros amostrais de elevada magnitude, que invalidam as estimativas. Contudo, a dificuldade em estimar a

variância genética epistática não implica que os efeitos epistáticos estejam ausentes, ou que sejam pouco importantes na herança dos caracteres quantitativos (HALLAUER, 2007).

Na presença da epistasia, as estimativas dos componentes da variância genética aditiva e de dominância ficam então viesadas, o que leva a imprecisões nas estimativas de parâmetros genéticos importantes, como coeficientes de herdabilidade e respostas esperadas com a seleção, uma vez que o efeito da epistasia não foi considerado no modelo (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999).

2.1.5 Uso do método Triple Test Cross (TTC)

Vários métodos são relatados na literatura com a finalidade testar a presença da epistasia em populações de plantas. Entre eles, os mais conhecidos são os que se baseiam nas análises de médias de gerações (MATHER, 1949; HAYMAN, 1960), na covariância entre parentes (COCKERHAM, 1954), em marcadores moleculares e mapeamento de QTL (KAO; ZENG; TEASDALE, 1999; DUDLEY, 2008) e na análise de cruzamentos triplos ou “*triple testcross*” (KEARSEY; JINKS, 1968).

A metodologia proposta por Mather (1949) envolve medições das médias de diferentes gerações derivadas de duas linhagens endogâmicas, sendo essas interpretadas como diferentes efeitos gênicos. Porém, os efeitos genéticos aditivos, de dominância e epistáticos, que compõem o modelo, não são testados de forma independente, dificultando a interpretação individual de cada efeito (STUBER; MOLL, 1971; HAYMAN, 1960). 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 é pequeno ou nulo, dando uma ideia errônea do que realmente ocorre em nível dos efeitos gênicos (RAMALHO; SANTOS; ZIMMERMANN, 1993). Dessa forma, o método de médias de gerações é mais útil quando a maioria, senão todos, os alelos favoráveis estão em um dos genitores, enquanto os alelos desfavoráveis estão no outro genitor (BERNARDO, 2002).

A metodologia proposta por Cockerham (1954) possui a vantagem de testar, de maneira 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, as metodologias que empregam marcadores moleculares e mapeamento de QTL têm permitido um melhor entendimento dos efeitos e das interações entre os genes envolvidos no controle de caracteres complexos (COCKERHAM; ZENG, 1996; KAO; ZENG; TEASDALE, 1999; DUDLEY, 2008). Entretanto, nos estudos de mapeamento com QTL, a epistasia pode ser ocultada ou subestimada, pelo fato de as abordagens utilizadas para a detecção estarem focadas na interação entre apenas dois locos, quando, na verdade, podem estar envolvidos, nessa interação, três ou mais (TEMPLETON, 2000). Esses fatores levam a um aumento considerável do tamanho dos delineamentos experimentais necessários para estimar a epistasia e, portanto, reduzem o número de casos em que os delineamentos são eficientes para detectar as interações gênicas.

Um método que vem se destacando nos estudos da herança de caracteres quantitativos é o método do *Triple Test Cross* (TTC) desenvolvido por Kearsey e Jinks (1968), como uma extensão do delineamento III de Comstock e Robinson (1952). Por se tratar de uma análise relativamente simples e altamente informativa, esse método tem sido bastante utilizado para estudar a arquitetura genética dos caracteres em diversas culturas, entre elas o milho (WOLF; HALLAUER, 1997; ETANDU; OPENSHAW, 1999; SILVA, 2011; SILVA DÍAZ, 2011; GARCÍA MENDOZA, 2011), a soja (BARONA; COLOMBARI FILHO; GERALDI, 2009), o feijão (JOHNSON; GEPTS, 2002), o arroz (LI et al., 2001), o girassol (RAO et al., 2004), o tomate (CAUSSE et al., 2007), o trigo (NANDA; SINGH; CHAND, 1989), entre outras, sendo capaz de fornecer um teste não ambíguo para epistasia, além de fornecer estimativas não viesadas das variâncias aditivas e de dominância na ausência da epistasia (WOLF; HALLAUER, 1997; BHATTI et al., 2006; ARAÚJO, 2006). Esse método foi desenvolvido originalmente por Kearsey e Jinks (1968), como uma extensão do Delineamento III de Comstock e Robinson (1952).

Originalmente, Opsahl (1956) propôs o delineamento *Triple Test Cross* (TTC) para a detecção precisa da epistasia em populações F_2 . Segundo o autor, na ausência de epistasia, a soma das médias dos retrocruzamentos para cada um dos genitores é igual a duas vezes a média resultante do retrocruzamento com a geração F_1 . Posteriormente, Kearsey e Jinks (1968) desenvolveram a teoria desse método, como uma extensão do delineamento III de Comstock e Robinson (1952). Nesse procedimento, progênies 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 . Os testadores L_1 e L_2 são as linhagens endogâmicas genitoras da população F_2 e o testador L_3 é o híbrido simples (F_1) obtido pelo cruzamento entre L_1 e L_2 . Assim, são gerados três grupos de progênies, os quais são denominados L_{1i} , L_{2i} e L_{3i} , em que L_{1i} representa o primeiro grupo de progênies obtidas do cruzamento envolvendo o testador L_1 e a i -ésima planta F_2 ; L_{2i} representa o segundo grupo de progênies obtidas do cruzamento envolvendo o testador L_2 e a i -ésima planta F_2 e L_{3i} representa o terceiro grupo de progênies obtidas do cruzamento envolvendo o testador L_3 e a i -ésima planta F_2 . Dessa forma, o delineamento é constituído por $3N$ progênies a serem avaliadas em experimentos com repetições.

Nesse método três tipos de transformação linear são calculados considerando as médias dos três grupos de progênies ($\bar{L}_{1i}$, $\bar{L}_{2i}$ e $\bar{L}_{3i}$) sendo eles: $C_{1i} = \bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} - 2\bar{L}_{3i}$, $C_{2i} = \bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} + \bar{L}_{3i}$ e $C_{3i} = \bar{L}_{1i} - \bar{L}_{2i}$. A transformação linear C_{1i} testa os componentes epistáticos por meio da soma dos quadrados dos desvios (C_{1i} com $i = 1$ a N plantas F_2) envolvendo as $3N$ progênies. A variância da transformação linear C_{2i} , permite detectar e estimar a variância aditiva, no entanto, difere do delineamento III que é baseado somente nas informações de $\bar{L}_{1i}$ e $\bar{L}_{2i}$. Finalmente, a variância da transformação linear C_{3i} é usada para detectar e estimar o componente da variância de dominância e, ao contrário do C_{2i} , é o mesmo usado no delineamento III para estimar os componentes da variância de dominância (JINKS; PERKINS, 1970).

A adição de um terceiro testador (geração F_1 , obtida do cruzamento entre as duas linhagens parentais L_1 e L_2) é o que diferencia e torna o método 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 as transformações lineares descritas anteriormente. A segunda vantagem é a precisão em que a epistasia é testada, pois independe da frequência alélica, do número de locos, do nível de endogamia e da ocorrência de desequilíbrio de ligação na população. Um aspecto favorável desse método é que na ausência de epistasia, estimativas não viesadas das variâncias aditiva e de dominância podem ser obtidas e a inclusão das progênies L_{3i} são utilizadas para obter estimativas mais precisas dos componentes da variância aditiva, em relação ao delineamento III (JINKS; PERKINS, 1970; KEARSEY; POONI, 1998). Além disso, o método permite investigar qualquer população, segregante ou não-segregante,

pertencente a diferentes gerações como F_2 , retrocruzamentos e linhagens homozigóticas, independente do sistema de reprodução da espécie (KEARSEY; JINKS, 1968).

2.1.6 Emprego do método *TTC* em milho

Os modelos genético-estatísticos incluindo efeitos epistáticos têm sido usados em estudos de herança para diversos caracteres quantitativos em milho. Parte desses estudos tem indicado que a epistasia não é um componente importante na variabilidade genética das populações (EBERHART et al., 1966; CHI; EBERHART; PENNY, 1969; SILVA; HALLAUER, 1975; WOLF; PETERNELLI; HALLAUER, 2000; HINZE; LAMKEY, 2003; MIHALJEVIC; UTZ; MELCHINGER, 2005; SILVA, 2011; GARCÍA MENDOZA, 2011; SILVA DÍAZ, 2011). Porém, outros estudos têm mostrado que os efeitos epistáticos desempenham um papel importante na herança de diversos caracteres nessa cultura (BAUMAN, 1959; LAMKEY; SCHNICKER; MELCHINGER, 1995; WOLF; HALLAUER, 1997; CEBALLOS et al., 1998; ETA-NDU; OPENSHAW 1999; SOFI; RATHER; VENKATESH, 2006; SILVA, 2011; GARCÍA MENDOZA, 2011; SILVA DÍAZ, 2011).

Em milho, o delineamento genético *TTC* tem sido utilizado para detectar epistasia nas populações, baseado em dados de desempenho *per se* (WOLF; HALLAUER, 1997) e em dados de testecrosses (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999; SILVA, 2011). Visando determinar se os efeitos epistáticos contribuíram significativamente para a desempenho de um híbrido simples, Wolf e Hallauer (1997) avaliaram 300 progênies de retrocruzamentos em cinco ambientes. Os autores verificaram que a epistasia aditiva x aditiva foi significativa para os caracteres comprimento de espiga, número de fileiras por espiga, altura da espiga e para o florescimento masculino e feminino. Para a produção de grãos apenas os efeitos epistáticos do tipo aditivo x dominante e/ou dominante x dominante foram detectados. Os efeitos epistáticos não aditivos (aditivo x dominante e/ou dominante x dominante) também foram significativos para os caracteres diâmetro de sabugo, comprimento de espiga, número de fileiras espiga⁻¹, altura da planta e da espiga, florescimento feminino e intervalo entre florescimento masculino e feminino. O efeito da interação da epistasia aditiva x aditiva x ambientes foi significativa para produção de grãos, comprimento de espiga, prolificidade, plantas sem espigas, acamamento

de raiz e espigas penduradas. Eles concluíram que a presença de efeitos epistáticos favoráveis pode ter contribuído para expressão da heterose e poderia explicar o bom desempenho desse híbrido simples amplamente cultivado nos EUA.

Khan e McNeilly (2005) estudaram a herança da tolerância à salinidade em plântulas de milho. Os resultados mostraram a presença da epistasia do tipo aditiva x aditiva para comprimento absoluto e relativo das raízes sob condições salinas e não salinas, enquanto as epistasias dos tipos aditiva x dominante e dominante x dominante só foram significativas sob condições normais de salinidade. Os autores concluíram que os efeitos aditivos x aditivos foram os mais importantes para esses caracteres sob condições de estresse salino, enquanto, a ausência da epistasia dos tipos aditiva x dominante e dominante x dominante, para o comprimento absoluto e relativo das raízes, indicou que esses tipos de interação não estavam presentes, ou eram de magnitude relativamente pequena, no controle genético da tolerância à salinidade.

Sofi, Rather e Venkatesh (2006) reportaram os efeitos epistáticos sobre a produção de grãos e sobre os componentes da produção, peso de 100 sementes, comprimento de espiga, diâmetro de espiga, número de fileiras por espiga e o índice de colheita e detectaram a presença de epistasia para todos os caracteres avaliados, exceto para peso de 100 sementes, com predominância da epistasia do tipo aditiva x dominante e/ou dominante x dominante. Sofi (2007) avaliou três caracteres do pendão (número de ramificações do pendão, comprimento do pendão, peso do pendão) e três caracteres da espiga (altura, comprimento e diâmetro da espiga) em dois locais. Foi detectada a presença de epistasia para todos os caracteres avaliados. Na maioria dos caracteres a magnitude da epistasia do tipo aditiva x dominante e/ou dominante x dominante foi superior à epistasia do tipo aditiva x aditiva. No entanto, a epistasia do tipo aditiva x aditiva interagiu mais com os ambientes, mostrando ser mais propensa às variações ambientais.

Singh e Gupta (2008), investigaram a importância dos efeitos epistáticos para 16 caracteres relacionados à tolerância à seca mais a produção de grãos em três populações. Esses autores detectaram epistasia total e epistasia aditiva x dominante e/ ou dominante x dominante para todos os caracteres, exceto para o intervalo entre o florescimento masculino e o feminino, para o qual a epistasia total não foi significativa em uma das populações e a epistasia aditiva x dominante e dominante x dominante em duas das populações. Os efeitos epistáticos aditivos x aditivos foram

detectados somente para alguns caracteres, em cada população. Os autores concluíram que a epistasia aditiva x dominante e dominante x dominante desempenha um papel importante na herança desses caracteres e que, para explorar esse tipo de componente na obtenção e avaliação de híbridos.

Avaliando a ação gênica que controla a resistência do milho ao carvão comum, Namayandeh et al. (2011) detectaram epistasia total significativa para a resistência à doença. Além disso, as interações epistáticas do tipo aditiva x aditiva, aditiva x dominante e dominante x dominante foram significativas.

Eta-Ndu e Openshaw (1999) propuseram uma modificação do TTC de Kearsey e Jinks (1968) para utilizá-lo em testecrosses, utilizando duas linhagens endogâmicas divergentes. 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). Seguindo essa modificação eles analisaram a importância da epistasia em dois híbridos simples de milho e verificaram a presença de epistasia para produção de grãos em duas populações de testecrosses. Os autores verificaram também a presença de efeitos de interação epistasia x testador, indicando que a presença desta depende do testador utilizado.

Utilizando o mesmo procedimento, Silva (2011) analisou a importância da epistasia em um híbrido simples de milho e determinou a presença da epistasia para produção de grãos, prolificidade, acamamento e quebramento, além de para caracteres da estatura e florescimento da planta, em populações de testecrosses. Verificou, também, significância da interação epistasia com testador para todos os caracteres estudados, indicando que a presença da epistasia nesses caracteres depende do testador utilizado. A interação epistasia com ambientes não foi significativa para todos os caracteres, indicando que os efeitos epistáticos não interagiram com os ambientes.

Apesar de serem poucos os trabalhos reportados na literatura utilizando o TTC em milho, estes indicam que o método e suas modificações têm sido empregados para detectar a presença da epistasia em diversos caracteres de importância agrônômica dessa cultura. Para a maioria dos caracteres analisados reportados neste item, foram detectados efeitos epistáticos, sugerindo, portanto, que

o modelo aditivo dominante não é suficiente para descrever a variação genética presente nesses caracteres.

2.1.7 Implicações da epistasia no melhoramento de milho

Com relação ao melhoramento de milho, um grande esforço tem sido despendido pelos melhoristas no sentido de detectar a presença ou a ausência da epistasia na herança de caracteres poligênicos complexos. Os primeiros trabalhos de Eberhart et al. (1966), Chi, Eberhart e Penny (1969) e Silva e Hallauer (1975), indicaram que a epistasia não constituía um componente principal da variabilidade genética em milho. Essa leitura resultou da suposição, nos primeiros estudos de componentes de variância genética, de que a epistasia não fosse importante para a produção de grãos. Estudos recentes têm mostrado que os efeitos epistáticos podem ser importantes na expressão e na variação genética de caracteres essenciais para o melhoramento genético de diversas espécies, incluindo o milho (WOLF; HALLAUER, 1997; KHAN; McNEILLY, 2005; SOFI; RATHER; VENKATESH, 2006; CAUSSE et al., 2007; KUSTERER et al., 2007; SILVA, 2011; GARCÍA MENDOZA, 2011; SILVA DÍAZ, 2011). O sucesso dos programas de melhoramento de plantas depende muito da natureza e das magnitudes dos componentes da variância genética. Assim, é imperativo obter estimativas confiáveis desses componentes, a fim de formular uma estratégia de melhoramento eficiente. Desse modo, a omissão da epistasia pode causar vieses na estimação dos componentes da variância genética resultando em interpretações incorretas das estimativas de parâmetros genéticos importantes, como coeficientes de herdabilidade e respostas esperadas com a seleção (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999). A existência de um grande número de interações em um sistema poligênico pode causar superestimação ou subestimação dos coeficientes de herdabilidade, introduzindo, como consequência, um viés adicional nas respostas esperadas com a seleção. Isso pode prejudicar a eficiência dos programas de melhoramento que buscam a exploração da variância genética aditiva e de dominância (SOFI; RATHER; WARSI, 2007). Segundo Khan e McNeilly (2005), os vieses ocasionados pela presença de epistasia nas estimativas da variância genética aditiva e de dominância são de dimensões desconhecidas. De acordo com Lamkey, Schnicker e Melchinger (1995), a presença de epistasia em linhagens de milho não deve afetar significativamente os

programas de desenvolvimento de híbridos. Isso porque durante o processo de obtenção das linhagens é realizada a avaliação destas em testecrosses com linhagens elites. Assim, as combinações epistáticas favoráveis podem ser fixadas no processo final de obtenção dessas linhagens, as quais teriam boa capacidade específica de combinação, sendo esta determinada pelos efeitos epistáticos e/ou de dominância. A epistasia aditiva x aditiva é explorada na seleção de linhagens endogâmicas, enquanto a do tipo aditiva x dominante e/ou dominante x dominante, na seleção de híbridos (SOFI; RATHER; WARSI, 2007). No entanto, todos os tipos de epistasia podem ser explorados, tanto no melhoramento intra quanto no interpopulacional (SINGH; GUPTA, 2008). Segundo Wolf e Hallauer (1997), o desenvolvimento de populações base em milho a partir de cruzamentos de linhagens do mesmo grupo heterótico leva a manutenção e o acúmulo de combinações epistáticas favoráveis nessas populações. Sofi, Rather e Warsi (2007) verificaram que os efeitos epistáticos positivos podem contribuir significativamente, para a expressão da elevada heterose em milho.

Rasmusson e Phillips (1997) reportaram que a resposta contínua à seleção obtida nos programas de melhoramento é devido à epistasia e que, em espécies que possuem uma base genética estreita, o componente aditivo x aditivo da variância epistática é um dos mecanismos pelo qual o progresso com seleção é mantido nessas populações. Guzman e Lamkey (2000) avaliando o caráter produção de grãos, para o ciclo zero e para o ciclo cinco de quatro programas de seleção de progênies S_1 , cada um com tamanho efetivo populacional diferente (5, 10, 20 e 30 linhagens) observaram que não houve redução significativa na estimativa da variância aditiva para produção de grãos, após cinco ciclos de seleção recorrente, nos diferentes tamanhos efetivos populacionais, concluindo que a variância aditiva se manteve provavelmente devido à contribuição dos efeitos epistáticos.

Em vários estudos de mapeamento de genes que controlam caracteres quantitativos (QTL), a epistasia entre QTL tem sido detectada para diversos caracteres (DOEBLEY; STEC; GUSTUC, 1995; ROBERTSON-HOYTA et al., 2006; CAUSSE et al., 2007; GARCIA et al., 2008; MOREIRA et al., 2009). A presença da epistasia pode ter importantes consequências no sucesso de detecção, introgressão e caracterização de genes ou regiões contendo QTL, pois o efeito de um gene envolvido na variação desses caracteres pode ser alterado por suas interações epistáticas, com o *background* genético ou com outros genes (CARLBORG; HALEY,

2004; CAUSSE et al., 2007). Segundo Purcell e Sham (2004), os efeitos epistáticos estão parcialmente confundidos com os efeitos aditivos nas análises, considerando apenas os efeitos individuais dos locos, o que pode conduzir à identificação de um loco associado a um caráter quantitativo (QTL) que não tenha apenas efeito principal, mas que também interaja epistaticamente com outros locos ou QTL. Segundo Liu et al. (2003) e Causse et al. (2007), isso poderia restringir os ganhos genéticos obtidos por meio da seleção assistida por marcadores moleculares e também dificultaria o isolamento desses QTL.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Material genético

A população utilizada foi originada do cruzamento das linhagens endogâmicas de milho L08-05F e L38-05D, que foram obtidas pelo Programa de Melhoramento de Milho do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). A linhagem L08-05F foi extraída da população IG-1 e apresenta grãos alaranjados duros, já a linhagem L38-05D possui grãos amarelos dentados e foi extraída de um híbrido simples utilizado como genitor feminino na produção do híbrido duplo BR-201 (AGUIAR et al., 2003). Essas linhagens foram selecionadas para estudo após realização de avaliação inicial onde se constatou que a linhagem L08-05F apresentou ser resistente ao ataque do *Sitophilus zeamais* em relação à linhagem L38-05D, que foi considerada susceptível (Anexo A).

2.2.2 Obtenção das progênes de retrocruzamento

A geração F_1 foi obtida do cruzamento entre as linhagens endogâmicas L08-05F e L38-05D, as quais pertencem a grupos heteróticos distintos, apresentam divergência genética para diversos caracteres e alta capacidade específica de combinação para produção de grãos (AGUIAR et al., 2003). A geração F_1 foi autofecundada para dar origem a uma população F_2 . Uma amostra de 100 plantas da população F_2 foi autofecundada para dar origem a 100 progênes $F_{2:3}$, as quais foram retrocruzadas para ambas as linhagens parentais e com a geração F_1 ,

gerando assim, 300 progênies de retrocruzamento, segundo o delineamento genético *triple test cross* (TTC), descrito por Kearsey e Jinks (1968). Os três retrocruzamentos foram realizados em três campos isolados de despendoamento na Estação Experimental Anhumas, pertencente ao Departamento de Genética da ESALQ/USP, no ano agrícola 2007/2008. As progênies $F_{2:3}$ foram utilizadas como genitor feminino e ambas as linhagens parentais e a geração F_1 como genitor masculino, utilizando uma relação macho/fêmeas 1:3. Para isso, foram semeadas 60 sementes de cada progênie $F_{2:3}$ e de cada macho em uma linha de 6 m, com espaçamento de 0,80 m entre linhas e 0,20 m entre plantas, restando, após o desbaste, 30 plantas por linha de semeadura. Para garantir que houvesse coincidência entre florescimentos, as linhas de machos foram semeadas em três épocas distintas: cinco dias antes, no mesmo dia e cinco dias após a semeadura das linhas de fêmeas. O despendoamento foi feito manualmente, retirando os pendões de todas as plantas nas linhas de fêmeas, antes da ocorrência da antese, garantindo assim, que as linhas de machos fossem a única fonte de pólen. As espigas de cada progênie foram colhidas em conjunto, debulhadas e as sementes misturadas para, posteriormente, serem utilizadas na semeadura dos experimentos. Dessa maneira, foram obtidas 100 progênies de retrocruzamento com cada um dos parentais e com a geração F_1 , totalizando 300 progênies de retrocruzamento. Nesse trabalho, foram utilizadas progênies $F_{2:3}$ ao invés de plantas F_2 , devido à maior facilidade para obtenção das progênies de retrocruzamento por meio de cruzamentos via despendoamento em campos isolados e, dessa maneira, obter sementes suficientes das progênies de retrocruzamento para sua avaliação *per se* em experimentos em diversos locais e anos. É importante ressaltar que a constituição gamética das progênies $F_{2:3}$ é, em média, a mesma da planta F_2 que lhes deu origem. Dessa forma, cada progênie $F_{2:3}$ retrocruzada para um genitor é geneticamente igual à planta F_2 que lhe deu origem retrocruzada para o genitor correspondente.

2.2.3 Procedimento experimental

2.2.3.1 Ambientes de avaliação

A avaliação experimental das progênes de retrocruzamentos foi realizada no ano agrícola 2008/2009, em dois locais distintos, no município de Piracicaba/SP, sendo um na Estação Experimental de Anhumas e o outro na Estação Experimental Caterpillar, ambos pertencentes ao Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP). Os dois ensaios foram plantados na primeira época de plantio, o que corresponde à temporada convencional de plantio comercial do milho em cada local, considerada a melhor época para a cultura na região (safra). Cada local foi considerado como um ambiente distinto, totalizando dois ambientes de avaliação (Anexo B).

2.2.3.2 Delineamento experimental

As 300 progênes provenientes dos três retrocruzamentos foram plantadas num mesmo experimento, utilizando o delineamento experimental alfa-látice 15 x 20 em um arranjo fatorial com dois fatores e duas repetições por ambiente. Nesse esquema, as progênes de retrocruzamento representaram o primeiro fator referentes a *i*-ésima planta F_2 , ($i = 1, \dots, 100$) e o segundo a *l*-ésima geração de retrocruzamento ($l = 1, 2, 3$). Cada parcela foi constituída de uma linha de 4 m semeadas com 40 sementes e após 30 dias foi realizado o desbaste, restando 20 plantas na parcela. O espaçamento entre plantas foi de 0,20 m e 0,80 m entre parcelas, para ter uma população de aproximadamente 62.500 plantas ha⁻¹.

2.2.4 Ensaios de resistência

Os experimentos foram conduzidos no Departamento de Entomologia e Acarologia no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), à temperatura de $25^\circ \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

2.2.4.1 Criação de manutenção de *Sitophilus zeamais* Mots.

A criação de *S. zeamais*, iniciou-se a partir de uma população obtida junto ao Centro Nacional de Energia Nuclear (CENA), e mantida em laboratório, em grãos de trigo, utilizando-se frascos de vidro de 2 litros, com a boca vedada com filó. Tal criação teve por objetivo obter insetos em quantidade e idade adequadas para utilização nos testes.

2.2.4.2 Montagem dos bioensaios

Para a execução dos bioensaios, foram utilizadas amostras de grãos das 300 progênes de retrocruzamentos do TTC para cada ambiente de avaliação. Após a debulha do material colhido, extraiu-se uma amostra de 200 g de cada parcela que foi previamente identificada e acondicionada em sacos de papel e expurgada com fosfina de alumínio para eliminação de possíveis adultos de *S. zeamais* provenientes do campo. Armazenou-se o material já expurgado na câmara de conservação de sementes (13°C, 5% UR) do Departamento de Genética da ESALQ/USP. Trinta dias antes da execução dos bioensaios, transferiu-se o material selecionado da câmara fria para o laboratório de Resistência de Plantas do Departamento de Entomologia e Acarologia onde foi congelado por sete dias para eliminação de possíveis ovos de *S. zeamais* provenientes do campo. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em sala climatizada com umidade relativa de $70 \pm 10\%$ para entrar em equilíbrio higroscópico com o ambiente.

Os bioensaios foram realizados com 300 progênes e duas repetições. A parcela foi constituída por três placas entomológicas com dimensões de 6 cm de diâmetro x 2 cm de altura, contendo uma amostra de 20 g de grãos de milho. Para infestação inicial das placas entomológicas utilizaram-se 20 adultos de *S. zeamais*, com idade entre 10 e 20 dias, a fim de realizar a oviposição nas mesmas. Os seguintes caracteres foram coletados em cada uma das três placas entomológicas dentro de cada parcela:

- a) Mortalidade aos dez dias (*NM*): após dez dias de infestação os insetos adultos foram retirados de cada unidade experimental. Os insetos vivos foram descartados e anotou-se o número de insetos mortos.

- b) Número de adultos emergidos (EM): após vinte dias da retirada dos insetos adultos utilizados para a oviposição, iniciou-se a contagem da emergência dos insetos resultantes dessa oviposição. Ao final da avaliação os insetos emergidos eram descartados. Essa avaliação foi repetida a cada dois dias até o 50^o dia após a retirada dos insetos adultos utilizados para a oviposição.
- c) Tempo médio de desenvolvimento (TM): é o tempo médio necessário para que o inseto se desenvolva de ovo a adulto. Esse índice é obtido a partir da eq. (1) proposta por Marsaro Júnior et al. (2005a):

$$TM = \frac{\sum(EMy)}{\sum EM} \quad (1)$$

em que:

y é o número de dias relacionado a cada uma das avaliações de EM, tendo como dia 0 a infestação. Logo a primeira avaliação de EM ocorreu no 30^o dia após a infestação e a última avaliação ocorreu no 60^o dia após a infestação.

- d) Índice de suscetibilidade (IS): avaliou-se a resistência dos genótipos de milho pelo índice de suscetibilidade (IS) (DOBIE, 1977), onde se relacionou o total de insetos emergidos e o tempo médio de desenvolvimento do *S. zeamais*. Esse índice foi determinado pela eq. (2):

$$IS = \frac{\ln(\sum EM)}{TM} \cdot 100 \quad (2)$$

em que $\ln(\sum EM)$ é o logaritmo neperiano do total de insetos emergidos.

- e) Perda percentual de massa seca dos grãos (PE): é o dano na massa de grãos ocasionada pelas larvas de *S. zeamais* durante o período de desenvolvimento. A PE foi obtida pela diferença entre o peso de massa seca inicial ($PE_{inicial}$) e o peso de massa seca final (PE_{final}) aos sessenta dias após a infestação. Para isso foi necessário obter a massa seca inicial por meio da eq. (3) (PUZZI, 2000):

$$PE_{inicial} = PT_{inicial} - \left(\frac{U\%_{inicial} \times PT_{inicial}}{100} \right) \quad (3)$$

em que $PE_{inicial}$ é a peso da matéria seca inicial que é obtida através do peso total inicial ($PT_{inicial}$) da amostra e da umidade inicial ($U\%_{inicial}$), obtida utilizando-se determinador eletrônico portátil Dikey-John®. Para a obtenção da PE_{final} , utilizou-se a metodologia descrita por Puzzi (2000) da seguinte maneira: passados os 60 dias da infestação, as amostras foram colocadas em latas de metal e levadas para a estufa modelo Marconi 37®, a 105°C por 24 horas. Imediatamente após este período, as amostras foram pesadas obtendo-se o peso de massa seca final (PE_{final}). A perda de massa seca dos grãos foi então obtida pela eq. (4):

$$PE = \frac{(PE_{inicial} - PE_{final})}{PE_{inicial}} 100 \quad (4)$$

2.2.5 Análises estatístico-genéticas

2.2.5.1 Análises de variância

Utilizou-se a média das parcelas para a realização das análises estatístico genéticas. Os caracteres NM, EM e PE foram transformados em $\sqrt{x+1}$ no momento da análise estatística, em função da presença de valores iguais ou próximos de zero. Antes de proceder cada análise, a normalidade dos resíduos foi testada pelo teste de Shapiro-Wilks (SHAPIRO; WILKS, 1965) através do software SAS 8.2 (SAS INSTITUTE, 2001), a homogeneidade das variâncias dos erros entre retrocruzamentos e entre os ambientes foram verificadas pelo teste de Hartley (HARTLEY, 1950).

As análises de variância individuais foram realizadas para cada ambiente de acordo com o seguinte modelo matemático, eq. (5):

$$Y_{ijkl} = \mu + p_i + g_l + r_j + b_{k(j)} + (pg)_{il} + \varepsilon_{ijkl} \quad (5)$$

em que:

Y_{ijkl} : é o valor observado da i -ésima progênie, na j -ésima repetição, no k -ésimo bloco, na l -ésima geração de retrocruzamentos.

μ : é a média geral.

p_i : é o efeito aleatório da i -ésima progênie, com $i = 1, 2, \dots, 100$.

g_l : é o efeito fixo do l -ésimo retrocruzamento, com $l = 1, 2, 3$.

r_j : é o efeito aleatório da j -ésima repetição com $j = 1, 2$.

$b_{k(j)}$: é o efeito aleatório do k -ésimo bloco dentro da repetição j com $k = 1, 2, \dots, 20$.

$(pg)_{il}$: é o efeito aleatório da interação progênies x retrocruzamentos.

ε_{ijkl} : é o erro experimental associado à observação Y_{ijkl}

Posteriormente, foram realizadas as análises conjuntas utilizando as médias ajustadas e os quadrados médios dos erros efetivos de cada ambiente, através do seguinte modelo matemático eq. (6):

$$Y_{ijklm} = \mu + p_i + g_l + e_m + (pe)_{im} + (pg)_{il} + (ge)_{lm} + (pge)_{ilm} + \varepsilon_{ijklm} \quad (6)$$

em que:

Y_{ijklm} : é o valor observado da i -ésima progênie, na j -ésima repetição, no k -ésimo bloco, na l -ésima geração de retrocruzamentos e no m -ésimo ambiente.

μ : é a média geral.

p_i : é o efeito aleatório da i -ésima progênie, com $i = 1, 2, \dots, 100$.

g_l : é o efeito fixo do l -ésimo retrocruzamento, com $l = 1, 2, 3$.

e_m : é o efeito fixo do m -ésimo ambiente, com $m = 1, 2$.

$(pe)_{im}$: é o efeito aleatório da interação entre a i -ésima progênie com o m -ésimo ambiente.

$(pg)_{il}$: é o efeito aleatório da interação da i -ésima progênie com o l -ésimo retrocruzamento.

$(ge)_{lm}$: é o efeito fixo da interação da l -ésima geração de retrocruzamentos com o m -ésimo ambiente.

$(pge)_{ilm}$: é o efeito aleatório da interação entre a i -ésima progênie com o l -ésimo retrocruzamento com o m -ésimo ambiente.

ε_{ijklm} : é o erro associado à observação Y_{ijklm} .

Nas análises de variâncias individuais e conjuntas, todas as fontes de variação foram consideradas de efeitos aleatórios, exceto as fontes retrocruzamento e ambiente, que foram consideradas de efeito fixo. Considerou-se a fonte ambiente de efeito fixo, pois cada ambiente foi completamente distinto. Os esquemas das análises de variância individual e conjunta, com as respectivas esperanças dos quadrados médios e teste de F , estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1- Resumo da análise de variância individual com as esperanças dos quadrados médios e testes de F

Fonte de Variação	G L	QM	E(QM)	F
Repetição (Rep)	$(J - 1) = 1$	QM ₁	$\sigma_e^2 + il\sigma_{B(R)}^2 + il\sigma_R^2$	QM ₁ / QM ₂
Bloco/(Rep)	$J(K - 1) = 38$	QM ₂	$\sigma_e^2 + il\sigma_{B(R)}^2$	QM ₂ / QM ₁₁
Progênes (P)	$I - 1 = 99$	QM ₃	$\sigma_e^2 + jl\sigma_P^2$	QM ₃ / QM ₁₁
Retrocruzamento (RC)	$L - 1 = 2$	QM ₄	$\sigma_e^2 + r\sigma_{PxGRC}^2 + ij \sum_{l=1}^3 \frac{(RC_l)^2}{L - 1}$	QM ₄ / QM ₇
RC ₁ vs RC ₂ (C ₁)	1	QM ₅	$\sigma_e^2 + r\sigma_{Px(RC_1 \text{ vs } RC_2)}^2 + ij \sum_{l=1}^3 (C_1)^2$	QM ₅ /QM ₈
RC ₁ + RC ₂ - 2 RC ₃ (C ₂) (Ep _{aa})	1	QM ₆	$\sigma_e^2 + r\sigma_{Px(RC_1+RC_2-2RC_3)}^2 + ij \sum_{l=1}^3 (C_2)^2$	QM ₆ / QM ₉
P x RC	$(I - 1)(L - 1) = 198$	QM ₇	$\sigma_e^2 + r\sigma_{PxGRC}^2$	QM ₇ / QM ₁₁
P x (C ₁)	$(I - 1) = 99$	QM ₈	$\sigma_e^2 + r\sigma_{Px(C_1)}^2$	QM ₈ / QM ₁₁
P x (C ₂) (Ep _{ad + dd})	$(I - 1) = 99$	QM ₉	$\sigma_e^2 + r\sigma_{Px(C_2)}^2$	QM ₉ / QM ₁₁
Epistasia Total (Ep _{Total})	$I = 100$	QM ₁₀	$\sigma_e^2 + j \sum (Ep_{Total})^2 / I$	QM ₁₀ / QM ₁₁
Erro Experimental	$IL(J - 1) - (JK - 1) = 261$	QM ₁₁	σ_e^2	----

K, I, J, L , referem-se ao número de blocos, progênes, repetições e retrocruzamentos, respectivamente. RC refere-se aos retrocruzamentos, RC₁, RC₂ e RC₃ obtidos com os genitores L08-05F, L38-05D e com a F₁ entre essas duas linhagens, respectivamente. Ep_{aa} e Ep_{ad+dd} referem-se aos tipos de epistasia aditivo x aditivo e a epistasia de tipo não aditivo (aditivo x dominante + dominante x dominante), respectivamente.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância conjunta, com as esperanças dos quadrados médios e testes de F

(continua)

Fonte de Variação	G L	QM	E(QM)	F
Ambientes (E)	$M - 1 = 1$	QM ₁	$\sigma_e^2 + jl\sigma_{PE}^2 + ijl \sum_{m=1}^2 E^2 / (M - 1)$	QM ₁ /QM ₃
Progênies (P)	$I - 1 = 99$	QM ₂	$\sigma_e^2 + jlm\sigma_P^2$	QM ₂ /QM ₁₈
P x E	$(I - 1)(M - 1) = 99$	QM ₃	$\sigma_e^2 + jl\sigma_{PE}^2$	QM ₃ /QM ₁₈
Retrocruzamentos (RC)	$L - 1 = 2$	QM ₄	$\sigma_e^2 + jm\sigma_{PxRC}^2 + ijm \sum_{i=1}^3 RC^2 / (L - 1)$	QM ₄ /QM ₁₀
RC ₁ vs RC ₂ (C ₁)	1	QM ₅	$\sigma_e^2 + jm\sigma_{Px(C_1)}^2 + ijm \sum (C_1)^2$	QM ₅ /QM ₁₁
RC ₁ + RC ₂ - 2RC ₃ (RC ₂)(Ep _{aa})	1	QM ₆	$\sigma_e^2 + jm\sigma_{Px(C_2)}^2 + ijm \sum (RC_2)^2$	QM ₆ /QM ₁₂
RC x E	$(L - 1)(M - 1) = 2$	QM ₇	$\sigma_e^2 + j\sigma_{PxRCxE}^2 + ij \sum (RCxE)^2 / (L - 1)(M - 1)$	QM ₇ /QM ₁₄
(C ₁) x E	$(M - 1) = 1$	QM ₈	$\sigma_e^2 + j\sigma_{Px(C_1)xE}^2 + ij \sum ((C_1)xE)^2$	QM ₈ /QM ₁₅
(C ₂) x E (Ep _{aa} xE)	$(M - 1) = 1$	QM ₉	$\sigma_e^2 + j\sigma_{Px(C_2)xE}^2 + ij \sum ((C_2)xE)^2$	QM ₉ /QM ₁₈

Tabela 2 - Resumo da análise de variância conjunta, com as esperanças dos quadrados médios e testes de F

Fonte de Variação	G L	QM	E(QM)	F (conclusão)
P x RC	$(I - 1)(L - 1) = 198$	QM ₁₀	$\sigma_e^2 + jm\sigma_{P \times RC}^2$	QM ₁₀ /QM ₁₈
P x (C ₁)	$(I - 1) = 99$	QM ₁₁	$\sigma_e^2 + jm\sigma_{P \times (C_1)}^2$	QM ₁₁ /QM ₁₈
P x (C ₂)(Ep_{ad+dd})	$(I - 1) = 99$	QM ₁₂	$\sigma_e^2 + jm\sigma_{P \times (C_2)}^2$	QM ₁₂ /QM ₁₈
Epistasia total (Ep_{Total})	$I = 100$	QM ₁₃	$\sigma_e^2 + j\sigma_{(Ep_{Total}) \times E}^2 + jm \sum (Ep_{Total})^2 / I$	QM ₁₃ /QM ₁₈
P x RC x E	$(I - 1)(L - 1)(M - 1) = 198$	QM ₁₄	$\sigma_e^2 + j\sigma_{P \times RC \times E}^2$	QM ₁₄ /QM ₁₈
(P x (C ₁)) x E (Dominância x E)	$(I - 1)(M - 1) = 99$	QM ₁₅	$\sigma_e^2 + j\sigma_{P \times (C_1) \times E}^2$	QM ₁₅ /QM ₁₈
(P x (C ₂)) x E (Ep_{ad+dd} x E)	$(I - 1)(M - 1) = 99$	QM ₁₆	$\sigma_e^2 + j\sigma_{P \times (C_2) \times E}^2$	QM ₁₆ /QM ₁₈
Ep_{Total} x E	$I(M - 1) = 100$	QM ₁₇	$\sigma_e^2 + j\sigma_{(Ep_{Total}) \times E}^2$	QM ₁₇ /QM ₁₈
Erro médio efetivo	$M(IL(J - 1) - (JK - 1)) = 522$	QM ₁₈	σ_e^2	----

I , J , K , L , e M referem-se ao número de progênies, repetições, blocos, retrocruzamentos e ambiente, respectivamente. RC refere-se aos retrocruzamentos, obtidos com os genitores L08-05F, L38-05D e com a F_1 dessas duas linhagens, respectivamente. Ep_{aa} e Ep_{aa+dd} referem-se aos tipos de epistasia aditivo x aditivo e não aditivo (aditivo x dominante e/ou dominante x dominante), respectivamente.

2.2.5.2 Estimativas de epistasia para as análises individuais e conjunta

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 retrocruzamentos (RC), progênies x retrocruzamentos (PxRC), retrocruzamentos x ambientes (RCxE) e progênies x retrocruzamentos x ambientes (PxRCxE). Sendo que as fontes RC e PxRC foram utilizadas para as análises individual e conjunta, e as fontes RCxE e PxRCxE foram obtidas apenas na análise conjunta.

A fonte de variação (RC), nas análises individuais e conjunta, foi decomposta em dois contrastes ortogonais, $C_1 = RC_1$ vs RC_2 e $C_2 = RC_1 + RC_2 - 2RC_3$, em que o contraste C_1 testou as diferenças entre as médias dos retrocruzamentos de ambas as linhagens genitoras que originaram a população em estudo e o contraste C_2 testou o efeito da epistasia aditiva x aditiva (Ep_{aa}). A fonte de variação (PxRC) também foi decomposta em dois contrastes ortogonais: $Px(C_1)$ e $Px(C_2)$, em que o primeiro testa a variação dos efeitos de dominância e o segundo a variação dos efeitos da epistasia não aditiva (Ep_{ad+dd}), ou seja, os demais tipos de epistasia (os efeitos epistáticos aditivo x dominante e/ou dominante x dominante). As somas de quadrados das fontes de variação ($RC_1 + RC_2 - 2RC_3$) e $Px(RC_1 + RC_2 - 2RC_3)$ foram calculadas para obter a soma de quadrados da epistasia total [$SQ(EP_{Total})$].

Na análise conjunta, as interações da epistasia aditiva x aditiva x ambientes (C_2)xE e da epistasia não aditiva com ambientes $Px(C_2)$ xE foram obtidas do desdobramento das fontes de variação RCxE e PxRCxE, respectivamente. As somas de quadrados das fontes de variação (C_2)xE e $Px(C_2)$ xE forneceram a soma de quadrados para testar a interação epistasia total x ambientes ($EP_{Total} \times E$).

Os contrastes ortogonais RC_2 e $Px(C_2)$ obtidos nas análises da variância individual e conjunta que fornecem as somas de quadrados necessárias para obter, respectivamente, os efeitos da epistasia aditiva x aditiva e da epistasia aditiva x dominante e/ou dominante x dominante, correspondem às equações propostas por Kearsey e Pooni (1998).

Os testes F para avaliar a significância da: epistasia aditiva x aditiva ($F_{Ep_{aa}}$); epistasia não aditiva ($F_{Ep_{ad+dd}}$) (aditiva x dominante e/ou dominante x dominante); epistasia total ($F_{Ep_{Total}}$), nas análises individuais e conjunta; e a interação da epistasia

aditiva x aditiva x ambientes $[(F_{(Ep_{aa}xE)})]$, a interação da epistasia não aditiva x ambientes $[(F_{(Ep_{(ad+dd)xE)})}]$ e o efeito da interação da epistasia total x ambientes para a análise conjunta foram descritos anteriormente (Tabelas 1 e 2).

2.2.5.3 Estimativas de efeitos epistáticos em cada planta F_2 nas análises individuais e conjunta

Uma vez confirmada a presença da epistasia, segundo as análises de variância individuais e a conjunta do delineamento TTC realizadas para os diferentes caracteres, os efeitos epistáticos (I_i) foram estimados para a i -ésima planta F_2 , conforme sugerido por Kearsey e Jinks (1968), utilizando o seguinte contraste, eq. (7):

$$I_i = \overline{RC}_{1i} + \overline{RC}_{2i} - 2\overline{RC}_{3i} \quad (7)$$

em que, I_i é o efeito epistático da progênie de retrocruzamento referente à i -ésima planta F_2 , sendo igual a zero na ausência de epistasia. $\overline{RC}_{1i}$, $\overline{RC}_{2i}$ e $\overline{RC}_{3i}$ referem-se a média geral do retrocruzamento da i -ésima planta F_2 para o genitor L_1 (L08-05F), para o genitor L_2 (L38-05D) e para a geração F_1 (L08-05F x L38-05D), respectivamente.

Para testar a epistasia em cada planta F_2 foi utilizado o teste t , da seguinte maneira, eq. (8) (ETA-NDU; OPENSHAW, 1999):

$$t_i = |\overline{RC}_{1i} + \overline{RC}_{2i} - 2\overline{RC}_{3i}| / \sqrt{6QM_{Erro}/JM} \quad (8)$$

em que t é o teste- t bi-caudal para o efeito de epistasia de cada planta F_2 , o numerador é o valor absoluto do contraste epistático ($|\overline{RC}_{1i} + \overline{RC}_{2i} - 2\overline{RC}_{3i}|$) e refere-se à contribuição epistática da i -ésima planta F_2 , QM_{Erro} é o quadrado médio do erro da análise de variância individual ou conjunta, J e M são os números de repetições e de ambientes, respectivamente, sendo que na análise individual o valor de M foi igual a 1. O valor 6 refere-se à soma dos coeficientes quadráticos de cada grupo de progênies de retrocruzamentos elevados ao quadrado.

2.2.5.4 Correspondência de plantas epistáticas entre os caracteres

Após a identificação das plantas F_2 com epistasia significativa nas análises individuais e conjunta, foi verificado se uma mesma planta F_2 apresentou epistasia para mais de um caráter eq.(9).

$$PC_{(AB)}\% = \left(\frac{NC}{(NA + NB) - NC} \right) 100 \quad (9)$$

em que $PC_{(AB)}\%$ é o percentual de plantas que apresentaram epistasia significativa para dois caracteres; NC é o número de plantas que coincidiram nos caracteres A e B ; NA e NB é o número de plantas com efeito epistático significativo no caráter A e B , respectivamente.

2.2.5.5 Estimativa dos componentes de variância para as análises individuais e conjunta

A partir das esperanças matemáticas dos quadrados médios das análises de variância individuais e conjunta, seguindo os procedimentos propostos por Searle, Casela e MacCulloch (1992), foram estimados os seguintes componentes da variância, eq. (10, 11, 12 e 13):

$$\hat{\sigma}_P^2 = (QM_P - QM_{ERRO})/JLM \quad (10)$$

$$\hat{\sigma}_{PxE}^2 = (QM_{PxE} - QM_{ERRO})/JL \quad (11)$$

$$\hat{\sigma}_{Px(C_1)}^2 = (QM_{Px(C_1)} - QM_{ERRO})/JM \quad (12)$$

$$\hat{\sigma}_{Px(C_1)xE}^2 = (QM_{Px(C_1)xE} - QM_{ERRO})/J \quad (13)$$

em que $\hat{\sigma}_P^2$, $\hat{\sigma}_{PxE}^2$, $\hat{\sigma}_{Px(C_1)}^2$ e $\hat{\sigma}_{Px(C_1)xE}^2$ referem-se, respectivamente, à variância genética de progênies de retrocruzamentos, variância do efeito de interação progênies de retrocruzamentos com os ambientes, variância do efeito de interação progênies de retrocruzamentos com o contraste C_1 e do efeito de interação progênies de retrocruzamentos x C_1 x ambientes. QM_P , QM_{PxE} , $QM_{Px(C_1)}$, $QM_{Px(C_1)xE}$ e QM_{ERRO} referem-se aos quadrados médios das fontes de variação progênies,

progênies x ambientes, progênies x C_1 , progênies x (C_1) x ambientes e do erro, respectivamente; os coeficientes J , L e M , referem-se ao número de repetições, retrocruzamentos e ambientes, respectivamente. As equações 10 e 12 foram utilizadas na obtenção dos componentes para as análises individuais e a conjunta, sendo que para a análise individual o valor do coeficiente M foi igual a 1. As equações 11 e 13 foram utilizadas apenas para a estimativa de componentes de variância da análise conjunta.

As estimativas da variância genética aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$) e de dominância ($\hat{\sigma}_D^2$) obtidas nas análises individuais e conjunta, as estimativas das interações com ambientes ($\hat{\sigma}_{AxE}^2$; $\hat{\sigma}_{DxE}^2$) na análise conjunta e a estimativa do grau médio de dominância ($\hat{d}$) para as análises individuais e a conjunta foram calculadas segundo Hallauer e Miranda Filho (1988) pelas eq. (14, 15, 16, 17 e 18), respectivamente:

Variância genética aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$):

$$\hat{\sigma}_P^2 = (1/4) (\hat{\sigma}_A^2) \Rightarrow \hat{\sigma}_A^2 = 4\hat{\sigma}_P^2 \quad (14)$$

$$\hat{\sigma}_D^2 = \hat{\sigma}_{Px(C_1)}^2 \quad (15)$$

$$\hat{\sigma}_{PxEx}^2 = (1/4) (\hat{\sigma}_{AxEx}^2) \Rightarrow \hat{\sigma}_{AxEx}^2 = 4\hat{\sigma}_{PxEx}^2 \quad (16)$$

$$\hat{\sigma}_{DxE}^2 = \hat{\sigma}_{Px(C_1)xE}^2 \quad (17)$$

$$\hat{d} = \sqrt{2\hat{\sigma}_D^2/\hat{\sigma}_A^2} \quad (18)$$

Foram estimados, para as análises individuais e a conjunta, os coeficientes de herdabilidade em nível de médias de progênies de meios irmãos ($\hat{h}_{PMI}^2$) em nível de plantas F_2 , no sentido amplo ($\hat{h}_{Fa}^2$) e restrito ($\hat{h}_{Fr}^2$), pelas eq. (19, 20 e 21), respectivamente:

$$\hat{h}_{PMI}^2 = \hat{\sigma}_P^2/\hat{\sigma}_{FMI}^2 \quad (19)$$

$$\hat{h}_{Fa}^2 = \hat{\sigma}_G^2/\hat{\sigma}_{Fpt}^2 \quad (20)$$

$$\hat{h}_{Fr}^2 = \hat{\sigma}_A^2/\hat{\sigma}_{Fpt}^2 \quad (21)$$

em que $\hat{\sigma}_{FMI}^2$ é a variância fenotípica com base em média de progênies estimada para as análises individuais e conjunta pelas equações (22 e 23), respectivamente; $\hat{\sigma}_G^2$ é a variância genética para as análises individuais e a conjunta estimada pela eq. (24) e $\hat{\sigma}_{Fpt}^2$ é a variância fenotípica em nível de planta, sendo estimada para as análises individuais e a conjunta pelas eq. (25 e 26), respectivamente:

$$\hat{\sigma}_{F_{MI}}^2 = \hat{\sigma}_P^2 + (\hat{\sigma}_e^2/J) \quad (22)$$

$$\hat{\sigma}_{F_{MI}}^2 = \hat{\sigma}_P^2 + (\hat{\sigma}_{PxE}^2/M) + (\hat{\sigma}_e^2/JM) \quad (23)$$

$$\hat{\sigma}_G^2 = \hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2 \quad (24)$$

$$\hat{\sigma}_{F_{Pt}}^2 = \hat{\sigma}_G^2 + \hat{\sigma}_e^2 \quad (25)$$

$$\hat{\sigma}_{F_{Pt}}^2 = \hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2 + \hat{\sigma}_{AxE}^2 + \hat{\sigma}_{DxE}^2 + \hat{\sigma}_e^2 \quad (26)$$

Os intervalos de confiança para as estimativas dos componentes da variância e grau médio de dominância a 0,95 de probabilidade, para as análises individuais e a conjunta, foram obtidos seguindo os procedimentos sugeridos por Burdick e Graybill (1992), (eq. 27 e 28, respectivamente):

O intervalo de confiança para os componentes de variância:

$$IC(\hat{\sigma}^2) = \frac{nt\hat{\sigma}^2}{\chi_{nt0,975}^2} \leq \hat{\sigma}^2 \leq \frac{nt\hat{\sigma}^2}{\chi_{nt0,025}^2} \quad (27)$$

sendo nt o número de graus de liberdade associado à estimativa do componente de variância ($\hat{\sigma}^2$), calculado segundo a expressão de Satterthwaite (1946). $\chi_{nt0,975}^2$ e $\chi_{nt0,025}^2$ referem-se ao valor tabelado de χ^2 com nt graus de liberdade, ao nível de probabilidade de 0,975 e 0,025, respectivamente.

O intervalo de confiança para o grau médio de dominância:

$$IC(\hat{d})_{0,95} = \sqrt{\frac{M_1}{M_{2(F\ 0,975\ n_1; n_2)}}} \leq \hat{d} \leq \sqrt{\frac{M_1}{M_{2(F\ 0,025\ n_1; n_2)}}} \quad (28)$$

em que:

$M_1 = (QM_{Px(C_1)} - QM_{ERRO})$, $M_2 = (QM_P - QM_{ERRO})$ e $F_{0,975,n_1;n_2}$ e $F_{0,025,n_1;n_2}$ referem-se aos valores tabelados de F a 0,975 e 0,025 de probabilidade, respectivamente, com n_1 e n_2 graus de liberdade associados aos componentes M_1 e M_2 , respectivamente, estimados pela expressão de Satterthwaite (1946).

A precisão das estimativas para o coeficiente de herdabilidade em nível de médias de progênies (eq. 29) e em nível de plantas F_2 , tanto no sentido restrito, quanto no sentido amplo (eq. 30), para as análises individuais e a conjunta, foi obtida seguindo os procedimentos apresentados por Knapp Stroup e Ross (1985) e Falconer e Mackay (1996), respectivamente.

O intervalo de confiança para o coeficiente de herdabilidade em nível de médias de progênies:

$$IC \hat{h}_{PM}^2 = \left(1 - \frac{1}{[QM_P/QM_E]F_{0,975; GL_1; GL_2}} \leq \hat{h}_{PM}^2 \leq 1 - \frac{1}{[QM_P/QM_E]F_{0,025; GL_1; GL_2}} \right) \quad (29)$$

sendo que $F_{0,975; GL_1; GL_2}$ e $F_{0,025; GL_1; GL_2}$ referem-se ao valor tabelado de F a 0,975 e 0,025 de probabilidade, respectivamente, com os graus de liberdade associados às progênes de retrocruzamentos referentes às plantas F_2 (GL_1) e à fonte de variação erro (GL_2).

O intervalo de confiança para o coeficiente de herdabilidade no sentido amplo e no sentido restrito:

$$IC(\hat{h}_{Fr,a}^2)_{0,95} = \left[\hat{h}_{Fr,a}^2 - \sqrt{(\hat{h}_{Fr,a}^2 16)/n} \right] \leq \hat{h}_{Fr,a}^2 \leq \left[\sqrt{(\hat{h}_{Fr,a}^2 16)/n} + \hat{h}_{Fr,a}^2 \right] \quad (30)$$

em que n é o número total de observações utilizadas para estimativa da herdabilidade em nível de plantas na análise individual ($n=600$) e na conjunta ($n=1200$).

Os intervalos de confiança foram utilizados na comparação das estimativas dos componentes de variância e dos coeficientes de herdabilidade. Duas estimativas foram consideradas diferentes entre si ($P \leq 0,05$), somente quando nenhuma delas estivesse dentro do intervalo de confiança da outra.

2.2.5.6 Análises de covariância e correlações entre caracteres

Foram estimados os coeficientes de correlação genética e fenotípica entre os caracteres analisados, na análise conjunta, com o objetivo de verificar as associações entre eles. Para isso, inicialmente foram realizadas as análises de variância conjunta para os caracteres x e y e para a variável fornecida pela soma entre x e y . Os produtos médios (PM) foram obtidos, utilizando a seguinte propriedade (STEEL; TORRIE, 1980) (eq. 31):

$$PM = (1/2)(QM_{x+y} - QM_x - QM_y) \quad (31)$$

em que: QM_{x+y} , QM_x e QM_y referem-se aos quadrados médios das análises, considerando a soma entre os caracteres x e y , do caráter x e do y , respectivamente.

As esperanças matemáticas dos produtos médios são semelhantes às dos quadrados médios apresentadas na Tabela 2, com a diferença que ao invés de

componentes de variância são componentes de covariâncias. A partir destas esperanças foi possível estimar os seguintes parâmetros genéticos:

Covariância aditiva ($C\hat{v}_{A_{xy}}$) (eq. 32):

$$C\hat{v}_{A_{xy}} = 4 C\hat{v}_{P_{xy}} = \frac{4 (PM_{P_{xy}} - PM_{erro_{xy}})}{JLM} \quad (32)$$

Covariância de dominância ($C\hat{v}_{D_{xy}}$) (eq. 33):

$$C\hat{v}_{D_{xy}} = C\hat{v}_{P_{X(C_1)_{xy}}} = \frac{(PM_{P_{X(C_1)_{xy}}} - PM_{erro_{xy}})}{J} \quad (33)$$

Covariância da interação aditiva com ambiente ($C\hat{v}_{(AxE)_{xy}}$) (eq. 34):

$$C\hat{v}_{(AxE)_{xy}} = 4C\hat{v}_{(Px E)_{xy}} = \frac{(PM_{(Px E)_{xy}} - PM_{erro_{xy}})}{JL} \quad (34)$$

Covariância da interação de dominância com ambiente ($C\hat{v}_{(DxE)_{xy}}$) (eq. 35):

$$C\hat{v}_{(DxE)_{xy}} = C\hat{v}_{(Px(C_1)xE)_{xy}} = \frac{(PM_{(Px(C_1)xE)_{xy}} - PM_{erro_{xy}})}{J} \quad (35)$$

Covariância do erro ($C\hat{v}_{e_{xy}}$) (eq. 36):

$$C\hat{v}_{e_{xy}} = PM_{erro_{xy}} \quad (36)$$

A covariância genética ($C\hat{v}_{G_{xy}}$) (eq. 37):

$$C\hat{v}_{G_{xy}} = C\hat{v}_{A_{xy}} + C\hat{v}_{D_{xy}} \quad (37)$$

Covariância fenotípica ($C\hat{v}_{F_{xy}}$) (eq. 38):

$$C\hat{\sigma}v_{F_{xy}} = C\hat{\sigma}v_{A_{xy}} + C\hat{\sigma}v_{D_{xy}} + C\hat{\sigma}v_{AxExy} + C\hat{\sigma}v_{DxE_{xy}} + C\hat{\sigma}v_{e_{xy}} \quad (38)$$

em que: PM refere-se a produtos médios e os coeficientes J , L e M referem-se ao número de repetições, retrocruzamentos e ambientes, respectivamente.

A partir destes parâmetros genéticos foram estimadas as correlações genéticas ($r_{G_{xy}}$) e fenotípicas ($r_{F_{xy}}$) entre os caracteres x e y , respectivamente (eq. 39 e 40):

$$\hat{r}_{G_{xy}} = \frac{C\hat{\sigma}v_{G_{xy}}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{G_x}^2 \hat{\sigma}_{G_y}^2}} \quad (39)$$

$$\hat{r}_{F_{xy}} = \frac{C\hat{\sigma}v_{F_{xy}}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{F_x}^2 \hat{\sigma}_{F_y}^2}} \quad (40)$$

em que: $\hat{\sigma}_{G_x}^2$ e $\hat{\sigma}_{G_y}^2$ são as estimativas das variâncias genéticas dos caracteres x e y ; $\hat{\sigma}_{F_x}^2$ e $\hat{\sigma}_{F_y}^2$ são as estimativas das variâncias fenotípicas dos caracteres x e y , respectivamente.

A correlação fenotípica foi testada utilizando procedimento apresentado por Stell e Torrie (1980). O valor de t foi calculado pela seguinte expressão (eq. 41):

$$t = \frac{\hat{r}_{F_{xy}}}{\sqrt{(1 - \hat{r}_{F_{xy}}^2)/(n - 2)}} \quad (41)$$

em que, n é o número de progênies avaliadas ($n = 300$) e $\hat{r}_{F_{xy}}$ é a estimativa da correlação fenotípica.

Utilizou-se o teste t de Student para testar as significâncias das estimativas dos coeficientes de correlações genéticas, seguindo os procedimentos sugeridos por Vencovsky e Barriga (1992). O valor de t foi obtido pela seguinte expressão (eq.42):

$$t = \hat{r}_{Gxy} / \hat{s}_{(\hat{r}_{Gxy})} \quad (42)$$

em que $\hat{r}_{Gxy}$ é a estimativa da correlação genética associada aos caracteres x e y e $\hat{s}_{(\hat{r}_{Gxy})}$ é a estimativa do desvio padrão associado a $\hat{r}_{Gxy}$ que foi obtido através da seguinte expressão proposta por Falconer e Mackay (1960) (eq. 43):

$$\hat{s}_{(\hat{r}_{Gxy})} = \frac{1 - \hat{r}_{Gxy}}{\sqrt{2}} \sqrt{\frac{\hat{s}(h_x^2) \hat{s}(h_y^2)}{h_x^2 h_y^2}} \quad (43)$$

em que a $\hat{s}(h_x^2)$ e $\hat{s}(h_y^2)$ são as estimativas do desvio padrão do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo dos caracteres x e y , respectivamente, estimada pela equação proposta por Falconer (1960) (eq. 44):

$$\hat{s}(h^2) = \sqrt{16\hat{h}_A^2/N} \quad (44)$$

em que $\hat{h}_A^2$ é a herdabilidade no sentido amplo do caráter em questão e N é o número total de observações ($N = 1200$).

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Médias e análises de variância

A média geral, no ambiente E. E. Anhumas onde as sementes foram obtidas em sistema irrigado foi de 1,14; 28,36; 43,89; 7,25 e 3,60, para os caracteres número de insetos mortos (NM), emergência de insetos (EM), tempo médio de desenvolvimento (TM), índice de suscetibilidade (IS) e perda percentual de massa seca dos grãos (PE), respectivamente. Os valores de NM, EM, TM, IS e PE, para o ambiente E. E. Caterpillar onde houve ausência de irrigação foi de 1,03; 32,78; 43,41; 7,64 e 3,94, respectivamente. Os valores obtidos na análise conjunta foram de 1,14; 28,34; 44,92; 7,25 e 3,60 para os caracteres NM, EM, TM, IS e PE, respectivamente (Anexo B) (Tabelas 3, 4 e 5).

O intervalo de variação (IV) das médias para cada caráter, nas análises individuais, sugere que as progênies apresentaram níveis diferenciados de resistência ao *S. zeamais* entre esses dois ambientes, sendo que no ambiente E. E. Anhumas o IV foi de 0,00 a 7,77; 5,25 a 53,57; 41,47 a 49,00; 3,8 a 9,05 e 0,00 a 11,07 para os caracteres NM, EM, TM, IS e PE, respectivamente. No ambiente E. E. Caterpillar os valores do intervalo de variação para os caracteres NM, EM, TM, IS e PE foram de 0,00 a 6,53; 6,62 a 81,91; 40,54 a 47,35; 4,34 a 9,85 e 0,78 a 11,44, respectivamente. Para a análise conjunta o intervalo de variação foi de 0,00 a 5,85; 9,67 a 54,59; 42,15 a 46,36; 4,40 a 9,14; 0,80 a 7,64 para os caracteres NM, EM, TM, IS e PE (Anexo C).

Diferenças na expressão da resistência entre ambientes, também foram observadas por Tipping et al. (1989), onde esses autores verificaram que as mesmas progênies testadas em dois ambientes distintos, apresentaram comportamento diferenciado quanto a resistência ao ataque do *S. zeamais*. Kim e Kossou (2003), avaliando a resistência de germoplasma de milho africano para oviposição do *S. zeamais* observaram que em condição de estresse hídrico, a dureza do grão é alterada e conseqüentemente há um aumento da oviposição e emergência de insetos. Os resultados obtidos com as médias e o intervalo de variação dos caracteres EM e PE sugerem que a resistência ao *S. zeamais*, para a população em estudo, é do tipo antixenose e/ou antibiose para alimentação. Sendo que a antixenose ou não-preferência ocorre quando a planta é menos utilizada pelo inseto para oviposição, alimentação ou abrigo. A antibiose ocorre quando o tecido vegetal é consumido normalmente pelo inseto e este causa um efeito adverso em sua biologia como aumento do seu período de desenvolvimento, mortalidade na fase adulta ou imatura. Alguns dos fatores que causam a antibiose é a deficiência de nutrientes necessários para o desenvolvimento do inseto e metabólitos tóxicos ao inseto. A resistência do tipo antixenose para alimentação e a do tipo antibiose para alimentação podem reduzir a emergência de insetos e a perda percentual de massa seca da semente. Logo serão necessários estudos mais detalhados, uma vez que esses dois tipos de resistência afetam na biologia do inseto (VENDRAMIN; NISHIKAWA, 2001).

As análises de variância individuais apresentaram diferenças altamente significativas entre as progênies para todos os caracteres nos dois ambientes. Esses resultados mostram a existência de variabilidade genética na população. Para os

retrocruzamentos, a maioria dos caracteres avaliados diferiu estatisticamente de zero ($P \leq 0,01$ ou $P \leq 0,05$) nos dois ambientes de avaliação, indicando que houve diferença entre as médias dos três retrocruzamentos. O contraste $C_1 = RC_1$ vs RC_2 foi significativa ($P \leq 0,01$ ou $P \leq 0,05$) para a maioria dos caracteres avaliados, evidenciando o comportamento diferenciado dos retrocruzamentos dos parentais em ambos os ambientes. Para o contraste $C_2 = RC_1 + RC_2 - 2RC_3$ não foram constatadas diferenças significativas para os caracteres avaliados, mostrando que a média dos retrocruzamentos com os genitores não diferiu da média do retrocruzamento com a geração da F_1 para esses caracteres. A interação progênes x retrocruzamentos ($P \times RC$), apresentou resultados divergentes nos dois ambientes de avaliação (Tabelas 3 e 4).

No ambiente E. E. Anhumas, a interação ($P \times RC$) foi significativa para a maioria dos caracteres avaliados, indicando que para aquele ambiente as progênes apresentaram performances diferenciais nos três retrocruzamentos avaliados. Já para o ambiente E. E. Caterpillar, apenas para o caráter tempo médio de desenvolvimento (TM), o desempenho das progênes diferiu entre os retrocruzamentos (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3 - Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variâncias do delineamento *triple test cross* (TTC), médias gerais e coeficientes de variação (CV%) para caracteres relacionados à resistência ao *S. zeamais* de uma população de milho avaliada na E. E. Anhumas

Fontes de Variação	GL	Caracteres				
		NM	EM	TM	IS	PE
Repetição (Rep)	1	17,07 ^{**}	4,12 ^{**}	109,62 ^{**}	16,71 ^{**}	3,42 ^{**}
Bloco/(Rep)	38	0,35 ^{ns}	1,17 ^{**}	1,31 [*]	1,39 ^{**}	0,15 ^{**}
Progenies (P)	99	0,43 ^{**}	1,68 ^{**}	1,72 ^{**}	1,88 ^{**}	0,30 ^{**}
Retrocruzamentos (RC)	2	0,78 [*]	10,70 ^{**}	1,65 ^{ns}	11,00 ^{**}	1,81 ^{**}
(RC ₁ vs RC ₂) (C ₁)	1	1,50 [*]	20,95 ^{**}	2,25 ^{ns}	21,55 ^{**}	3,61 ^{**}
(RC ₁ + RC ₂ - 2 RC ₃) (C ₂) (EP _{aa})	1	0,05 ^{ns}	0,38 ^{ns}	1,05 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,00 ^{ns}
P x RC	198	0,30 ^{ns}	1,15 ^{**}	1,22 ^{**}	1,34 ^{**}	0,20 ^{**}
P x (C ₁)	99	0,26 ^{ns}	1,13 ^{**}	1,19 [*]	1,26 ^{**}	0,18 ^{**}
P x (C ₂) (EP _{ad + dd})	99	0,34 [*]	1,17 ^{**}	1,32 ^{**}	1,42 ^{**}	0,23 ^{**}
Epistasia Total	100	0,34 [*]	1,16 ^{**}	1,31 ^{**}	1,41 ^{**}	0,22 ^{**}
Erro	261	0,26	0,54	0,89	0,74	0,08
Média:		1,44	24,85	44,38	6,83	3,39
CV(%):		34,10	14,70	2,13	12,58	14,01

ns, * e ** não significativo, significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste de F respectivamente. NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos. RC₁, RC₂, RC₃ referem-se aos retrocruzamentos das plantas F₂ com as linhagens genitoras L08-05F e L38-05D e com a F₁, respectivamente.

Tabela 4 – Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variâncias do delineamento triple test cross (TTC), médias gerais e coeficientes de variação (CV%) para caracteres relacionados à resistência ao *S. zeamais* de uma população de milho avaliada na E. E. Caterpillar

Fontes de Variação	GL	QM				
		NM	EM	TM	IS	PE
Repetição (Rep)	1	0,73 ^{ns}	100,41 ^{**}	76,29 ^{**}	124,32 ^{**}	2,67 ^{**}
Bloco/(Rep)	38	0,20 ^{ns}	0,93 ^{ns}	1,13 [*]	0,86 ^{ns}	0,35 ^{**}
Progenies (P)	99	0,29 [*]	2,24 ^{**}	1,05 [*]	2,07 ^{**}	0,27 ^{**}
Retrocruzamentos (RC)	2	3,60 ^{**}	29,20 ^{**}	2,41 [*]	24,25 ^{**}	4,37 ^{**}
(RC ₁ vs RC ₂) (C ₁)	1	7,18 ^{**}	57,56 ^{**}	1,46 ^{ns}	48,48 ^{**}	8,71 ^{**}
(RC ₁ + RC ₂ - 2 RC ₃) (C ₂) (EP _{aa})	1	0,01 ^{ns}	0,96 ^{ns}	3,39 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,05 ^{ns}
P x RC	198	0,24 ^{ns}	1,19 ^{ns}	0,96 [*]	1,15 ^{ns}	0,14 ^{ns}
P x (C ₁)	99	0,20 ^{ns}	1,27 ^{ns}	1,09 ^{**}	1,20 ^{ns}	0,16 ^{ns}
P x (C ₂) (EP _{ad + dd})	99	0,27 ^{ns}	1,09 ^{ns}	0,92 ^{ns}	1,12 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Epistasia Total	100	0,27 ^{ns}	1,09 ^{ns}	0,94 ^{ns}	1,11 ^{ns}	0,11 ^{ns}
Erro	261	0,22	1,04	0,73	1,01	0,13
Média:		1,03	32,78	43,41	7,67	3,94
CV(%):		34,27	17,87	1,98	13,07	16,24

ns, * e ** não significativo, significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste de F respectivamente. NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos. RC₁, RC₂, RC₃ referem-se aos retrocruzamentos das plantas F₂ com as linhagens genitoras L08-05F e L38-05D e com a F₁, respectivamente.

Na análise de variância conjunta as fontes de variação ambiente (E), progênies (P) e a interação progênies x ambientes (P x E) foram significativas para todos os caracteres analisados indicando, respectivamente, elevada variação entre os ambientes de avaliação, presença de variabilidade genética na população e performance diferencial das progênies de retrocruzamento nos dois ambientes. Foram encontradas diferenças significativas ($P \leq 0,01$) para a fonte de variação retrocruzamento (RC) para os caracteres número de insetos mortos (NM), emergência de insetos (EM), índice de suscetibilidade (IS) e perda percentual de matéria seca (PE), indicando que as médias dos retrocruzamentos diferiram. O contraste C_1 foi altamente significativo ($P \leq 0,01$) para os caracteres NM, EM, IS e PE, demonstrando que as médias dos retrocruzamentos um e dois foram distintas. Entretanto, a média do retrocruzamento com a geração F_1 não diferiu da média dos retrocruzamentos dos dois genitores, uma vez que nenhum dos caracteres avaliados foi significativo para o contraste C_2 . A fonte de variação retrocruzamentos x ambientes (RC x E) não apresentou diferença estatística, indicando que a performance dos retrocruzamentos manteve-se no dois ambientes avaliados, com exceção do caráter EM. Contudo, foi constatado que interação significativa do contraste C_1 com os ambientes ($C_1 \times E$) ($P \leq 0,05$) para os caracteres NM e EM, indicando que as diferenças nas performances entre os retrocruzamentos para os genitores não se mantiveram constantes nos dois ambientes de avaliação. A interação do contraste $RC_1 + RC_2 - 2RC_3$ com ambientes ($C_2 \times E$) não foi significativa para todos os caracteres, indicando que a diferença entre a média dos dois genitores e a média da F_1 se manteve constante em todos os ambientes (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores e significâncias dos quadrados médios do delineamento *triple test cross* (TTC), médias gerais e coeficientes de variação (CV%) da análise de variância conjunta dos ambientes E. E. Anhumas e E. E. Caterpillar para caracteres relacionados à resistência do *S. zeamais* de uma população de milho

Fontes de Variação	GL	QM				
		NM	EM	TM	IS	PE
Ambiente (E)	1	4,35 ^{**}	156,75 ^{**}	281,75 ^{**}	213,79 ^{**}	5,42 ^{**}
Progenies (P)	99	0,66 ^{**}	4,31 ^{**}	2,52 ^{**}	4,78 ^{**}	0,51 ^{**}
P x E	99	0,46 ^{**}	1,89 ^{**}	1,87 ^{**}	1,64 ^{**}	0,36 ^{**}
Retrocruzamentos (RC)	2	3,84 ^{**}	37,54 ^{**}	2,03 ^{ns}	34,23 ^{**}	6,00 ^{**}
RC ₁ vs RC ₂ (C ₁)	1	7,63 ^{**}	75,01 ^{**}	3,72 ^{ns}	68,31 ^{**}	11,98 ^{**}
RC ₁ + RC ₂ - 2RC ₃ (C ₂)(Ep _{aa})	1	0,05 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,03 ^{ns}
RC x E	2	0,53 ^{ns}	2,92 [*]	2,10 ^{ns}	1,55 ^{ns}	0,30 ^{ns}
(C ₁) x E	1	1,06 [*]	4,54 [*]	0,04 ^{ns}	2,77 ^{ns}	0,58 ^{ns}
(C ₂) x E (Ep _{aa} x E)	1	0,01 ^{ns}	1,30 ^{ns}	4,16 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,02 ^{ns}
P x RC	198	0,29 ^{ns}	1,32 ^{**}	1,08 [*]	1,48 ^{**}	0,19 ^{**}
P x (C ₁)	99	0,24 ^{ns}	1,40 ^{**}	1,31 ^{**}	1,43 ^{**}	0,20 ^{**}
P x (C ₂) (Ep _{ad+dd})	99	0,34 [*]	1,25 ^{**}	0,85 ^{ns}	1,54 ^{**}	0,18 ^{**}
Epistasia Total (EP _{Total}) ¹	100	0,33 [*]	1,24 ^{**}	0,85 ^{ns}	1,53 ^{**}	0,17 ^{**}
P x RC x E	198	0,25 ^{ns}	1,07 [*]	1,36 ^{**}	1,08 ^{ns}	0,17 ^{**}
P x (C ₁) x E	99	0,23 ^{ns}	1,06 ^{ns}	1,27 ^{**}	1,10 ^{ns}	0,16 [*]
P x (C ₂) x E (Ep _{ad+dd}) x E	99	0,28 ^{ns}	1,09 ^{ns}	1,46 ^{**}	1,06 ^{ns}	0,18 ^{**}
EP _{Total} x E	100	0,27 ^{ns}	1,09 ^{ns}	1,49 ^{**}	1,06 ^{ns}	0,18 ^{**}
Erro	522	0,26	0,86	0,89	0,94	0,12
Média Geral:		1,14	28,34	43,89	7,25	3,60
CV%:		35,51	17,26	2,15	13,39	16,29

ns, * e ** não significativo, significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste de F, respectivamente. NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos.

¹Para os caracteres NM, EM, IS e PE o denominador apropriado para o teste F foi o quadrado médio do erro. RC₁, RC₂, RC₃ referem-se aos retrocruzamentos das plantas F₂ com as linhagens parentais L08-05F e L38-05D e com a F₁, respectivamente.

Foram detectadas diferenças altamente significativas para a interação $P \times RC$ para a os caracteres EM, TM, IS e PE, sugerindo que as progênies apresentaram uma performance diferencial nos três retrocruzamentos. A interação $P \times RC \times E$ foi significativa ($P \leq 0,01$ ou $P \leq 0,05$) para a maioria dos caracteres, sugerindo que a interação progênies $\times$ retrocruzamento apresentou um comportamento diferenciado em cada ambiente. As fontes de variação ($P \times C_1 \times E$) e ($P \times C_2 \times E$) apresentaram diferenças não significativas para os caracteres NM, EM e IS, indicando que as interações ($P \times C_1$) e ($P \times C_2$) mantiveram-se constantes nos ambientes de avaliação, para os caracteres TM e PE essas fontes de variação foram significativas.

Os coeficientes de variação experimental (CV%) nas análises em nível de ambientes bem como na conjunta foram, em geral, de baixa magnitude, evidenciando a boa precisão da condução dos experimentos. Os coeficientes de variação obtidos para todos os caracteres estudados estão dentro dos limites reportados na literatura para os caracteres avaliados (WIDSTROM; REDLINGER; WISER, 1972; WIDSTROM; McMILLIAN; WISEMAN, 1978; DHLIWAYO; PIXLEY, 2001; DHLIWAYO; PIXLEY, 2003; DHLIWAYO; PIXLEY; KAZEMBE, 2005).

2.3.2 Estimativa dos efeitos epistáticos

Nas análises de variância individuais pode-se verificar o comportamento diferenciado nos ambientes E. E. Anhumas e E. E. Caterpillar com relação à detecção da epistasia. No ambiente E. E. Anhumas detectou-se efeitos epistáticos significativos ($P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$) para epistasia total para todos os caracteres. Esses resultados indicam a presença de epistasia na população, para os caracteres estudados. Entretanto, a epistasia significativa nesse ambiente é do tipo aditivo $\times$ dominante e/ou dominante $\times$ dominante (Tabelas 3 e 4).

No ambiente Caterpillar não foi detectada epistasia total e, consequentemente, para os outros componentes, ou seja a epistasia aditiva $\times$ aditiva e a epistasia aditiva dominante ou dominante $\times$ dominante. A ausência de epistasia no ambiente E. E. Caterpillar pode ter sido influenciada pelo estresse hídrico sofrido nesse ambiente durante a fase de desenvolvimento reprodutivo da cultura, uma vez que neste ambiente não havia sistema de irrigação, já no ambiente E. E. Anhumas o ensaio foi conduzido com irrigação. A precipitação foi irregular para o ambiente E. E.

Caterpillar que passou por cinco períodos com ausência de chuva. (Tabela 4)(Anexos B, D e E).

Outra evidência da ação do estresse hídrico é a produção média de grãos nos dois ambientes. Silva Díaz (2011) avaliando as mesmas progênies de retrocruzamento no ano de 2008 a 2009 observou que para o ambiente E. E. Caterpillar a produção média de grãos foi de 7,12 ton ha⁻¹, enquanto que no ambiente E. E. Anhumas a produção média de grãos foi de 7,42 ton ha⁻¹. Essa diferença na produção sugere que o estresse hídrico pode ter afetado também na produção de grãos.

Na análise conjunta, a epistasia total foi significativa ($P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$) para os caracteres NM, EM, IS e PE indicando, a presença da epistasia para a população em estudo. Não foi detectada epistasia do tipo aditiva x aditiva para os caracteres avaliados. Entretanto a epistasia do tipo aditiva x dominante ou dominante x dominante foi significativa ($P \leq 0,05$) para o caráter NM e altamente significativa ($P \leq 0,01$) para os caracteres EM, IS e PE. A interação dos efeitos epistáticos aditivo x dominante e/ou dominantes x dominante com os ambientes foram altamente significativo ($P \leq 0,01$) apenas para os caracteres TM e PE indicando que a magnitude da epistasia do tipo aditiva x dominante e/ou dominante x dominante foi diferenciada entre os dois ambientes de avaliação. A interação da epistasia total com os ambientes também foi altamente significativa ($P \leq 0,01$) para os caracteres TM e PE. Wolf e Hallauer (1997), relataram a interação do efeito epistático aditivo x dominante e/ou dominante x dominante com ambientes, para outros caracteres do milho (florescimento feminino e altura de planta). Para os caracteres NM, EM e IS a interação da epistasia do tipo aditiva x dominante e/ou dominante x dominante e a interação da epistasia total com os ambientes foram não significativas, ou seja, os efeitos desses tipos de epistasia possuem um comportamento estável nos ambientes avaliados (Tabela 5).

2.3.3 Estimativas de efeitos epistáticos em plantas F_2

No ambiente da E. E. Anhumas detectaram-se plantas F_2 com efeitos epistáticos significativos ($P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$) para todos os caracteres avaliados. Para o caráter NM, nove plantas F_2 apresentaram efeitos epistáticos significativos sendo seis com efeitos positivos e três com efeitos negativos, variando de -11,13 a 8,20 insetos mortos. Para o caráter EM, 21 plantas apresentaram efeitos epistáticos significativos, sendo 11 plantas com efeitos positivos e 11 com efeitos negativos, variando de -54,46 a 38,76 insetos emergidos. Para o caráter TM, identificou-se doze plantas com efeito epistático significativo sendo sete plantas F_2 com efeito epistático positivo e cinco com efeito epistático negativo, variando de -4,26 a 6,22 dias. Para o caráter IS constatou-se a presença de 18 plantas com efeitos epistáticos significativos, variando de -4,48 a 4,00. O caráter PE apresentou 20 plantas com efeitos epistáticos significativos, sendo dez com efeitos epistáticos positivos e dez plantas com efeitos epistáticos negativos variando de -2,87 a 1,82 % de perda de massa seca (Tabela 6).

A ausência da epistasia no ambiente E. E. Caterpillar difere do resultado obtido por Wolf e Hallauer (1997), onde esses autores trabalharam com o delineamento TTC para detecção da epistasia no milho, e verificaram que a epistasia era mais expressiva em ambientes bem divergentes. Em estudos de resistência de plantas, ambientes extremos podem, interferir na obtenção dos resultados (TIPPING et al., 1989; VENDRAMIN; NISHIKAWA, 2001).

Tabela 6 - Valores e significâncias dos efeitos epistáticos de plantas F₂ para caracteres relacionados à resistência ao *S. zeamais* de uma população de milho avaliada do E. E. Anhumas.

Planta F ₂	NM	Planta F ₂	EM	Planta F ₂	TM	Planta F ₂	IS	Planta F ₂	PE
1	-7,29*	20	27,39*	24	4,39**	20	3,51*	7	-1,11*
24	6,82*	25	-29,03*	36	-3,51*	21	-3,28*	11	-1,14*
26	8,20**	26	-45,60**	38	-4,26**	25	-3,32*	16	1,75**
32	5,52*	27	-49,42**	42	-3,52*	26	-3,75*	19	1,34**
34	6,83*	34	-18,39*	49	-6,24**	27	-3,87**	20	1,74**
40	-4,99*	37	28,04**	50	3,90*	28	3,64*	21	-1,15*
41	5,18*	39	-18,67*	57	3,65*	37	3,50*	26	-2,11**
50	7,73*	42	-26,29*	58	4,40**	40	3,02*	27	-1,85**
98	-11,13**	56	37,03**	70	3,77*	56	3,89**	28	1,28*
		60	-34,45*	82	-4,26**	58	-3,72*	37	1,82**
		61	30,33*	91	3,65*	61	4,00**	60	-1,01*
		62	-54,46**	100	6,22**	62	-4,15**	62	-1,95**
		64	-45,60**			64	-4,48**	68	-1,52**
		70	-29,74**			70	-4,04**	74	-1,28*
		76	25,27*			76	2,97*	76	1,82**
		82	-38,07*			91	3,92**	80	1,29*
		87	30,91*			96	3,33*	90	-2,87**
		88	23,03*			98	3,47*	96	1,42**
		96	38,76**					98	1,07*
		98	29,52*					100	1,60**
		100	31,57*						

** e * significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste de F respectivamente; NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos.

Para a análise conjunta verificou-se um menor número de plantas F₂ com efeitos epistáticos significativos para os caracteres EM, IS e PE. O caráter NM apresentou 10 plantas com efeitos epistáticos significativos, que variaram de -5,51 a 5,76 insetos mortos, sendo cinco plantas com efeitos positivos e cinco com efeitos negativos. Treze plantas apresentaram efeitos epistáticos significativos, sendo quatro plantas com efeitos positivos e nove plantas com efeitos negativos, para o caráter EM que variou de -34,58 a 34,63 insetos emergidos. Para o caráter IS constatou-se a presença de 15 plantas, sendo seis plantas com efeito positivo e nove plantas com efeitos negativos variando de -3,64 a 4,03. Para o caráter PE, oito

plantas apresentaram efeitos epistáticos significativos, variando de -6,43 a 6,34% da perda de massa seca, sendo quatro plantas com efeito positivo e quatro plantas com efeitos epistáticos negativos. Apesar de o caráter TM apresentar plantas com efeitos epistáticos significativos no ambiente E. E. Anhumas, a magnitude destes efeitos pode não ter sido suficiente, para ser detectada na análise conjunta (Tabelas 6 e 7).

Tabela 7 – Valores e significâncias dos efeitos epistáticos de plantas F_2 da análise de variância conjunta dos ambientes Anhumas e Caterpillar para caracteres relacionados à resistência do *S. zeamais* de uma população de milho

Planta F_2	NM	Planta F_2	EM	Planta F_2	IS	Planta F_2	PE
11	-3,82*	7	-28,02*	7	-2,57*	19	4,10*
26	4,36**	19	27,78**	19	3,57**	26	-6,29**
31	-4,31*	25	-25,49*	25	-2,55*	37	3,86*
34	5,76*	26	-33,35**	26	-2,92*	39	-3,36*
36	-5,19*	34	-20,05*	34	-2,39*	62	-6,43**
39	6,12**	39	-34,58**	39	-3,64**	76	4,23*
41	4,51*	46	-26,24*	51	-2,52*	90	-6,03**
52	-5,45*	56	34,63**	56	4,03**	100	6,34**
58	4,45*	62	-34,01*	58	-3,55**		
88	-5,51*	64	-28,00*	64	-2,50*		
		89	22,04*	77	2,71*		
		94	-33,65*	86	2,41*		
		100	32,82*	91	3,64**		
				94	-2,50*		
				100	2,52*		

** e * significativo a 0,05 e 0,01 de probabilidade pelo teste de F respectivamente; NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos.

No ambiente E. E. Anhumas, das 21 plantas que apresentaram efeitos epistáticos significativos para EM, 13 plantas (50,00%) coincidiram com epistasia significativa para o caráter IS, sendo também coincidentes no sinal do efeito. Da mesma forma, o caráter PE apresentou 11 plantas (36,67%) e 10 plantas (35,71%) que coincidiram com as plantas com efeito epistático significativo para os caracteres EM e IS, respectivamente. A coincidência de plantas epistáticas significativas também foi observada entre os demais caracteres (Tabela 8).

Tabela 8 - Número de plantas F_2 (diagonal inferior) e porcentagem de plantas F_2 (diagonal superior) com efeitos epistáticos significativos coincidentes entre os caracteres no ambiente E. E. Anhumas.

Caráter	NM	EM	TM	IS	PE
NM	-	3	2	3	2
EM	11,11%	-	2	13	11
TM	10,53%	6,45%	-	3	0
IS	12,50%	50,00%	11,11%	-	10
PE	7,41%	36,67%	0,00%	35,71%	-

NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos.

Na análise conjunta entre os ambientes E. E. Anhumas e E. E. Anhembí, a maior coincidência de plantas com efeitos epistáticos significativos foi entre os caracteres EM e IS, onde 10 plantas (55,56%) com efeitos epistáticos significativos apresentaram coincidência entre esses caracteres. Cinco plantas (31,25%) com efeitos epistáticos significativos apresentaram coincidência entre os caracteres EM e PE. Para os caracteres os IS e PE a coincidência foi de 4 plantas (21,05%) com efeitos epistáticos significativos (Tabelas 9).

Tabela 9 - Números de plantas F_2 (diagonal inferior) e porcentagem de plantas F_2 (diagonal superior) com efeitos epistáticos significativos coincidentes entre os caracteres na análise conjunta

Caráter	NM	EM	IS	PE
NM	-	3	4	2
EM	15,00%	-	10	5
IS	19,05%	55,56%	-	4
PE	12,50%	31,25%	21,05%	-

NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos.

Esses resultados sugerem a presença de epistasia pleiotrópica entre os pares de caracteres mencionados. Na literatura, resultados com outros caracteres têm relatado a coincidência de plantas F_2 com epistasia para vários caracteres simultaneamente. Silva (2011) identificou 18, 11, 10 e 9 plantas F_2 de milho que apresentaram interações inter-alélicas significativas entre os caracteres florescimento masculino (FF) e florescimento masculino (FM), altura de planta (AP) e altura de espiga (AE), peso de grão (PG) e prolificidade (PROL) e altura da espiga e (AE) e posição relativa da espiga (PRE), respectivamente, sugerindo a ocorrência de epistasia pleiotrópica entre esses caracteres. Silva Díaz (2011) avaliando o efeito da

epistasia no milho observou que 44,4% das plantas F_2 com efeitos epistáticos significativos entre os caracteres FM e PG eram coincidentes. Khattak et al. (2001) identificaram genótipos de *Vigna radiata* L. que apresentavam, simultaneamente, efeitos epistáticos significativos para vagens por planta e sementes por planta e entre vagens por plantas e biomassa, respectivamente.

2.3.4 Estimativas de componentes de variância e parâmetros genéticos

No ambiente Anhumas, as estimativas de variância aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$) para todos os caracteres, e as estimativas de variância de dominância ($\hat{\sigma}_D^2$) para os caracteres EM, TM, IS e PE foram significativamente diferentes de zero ($P \leq 0,05$). As estimativas da variância aditiva foram significativamente superiores às estimativas da variância de dominância, para os caracteres EM, TM, IS e PE sendo que a $\hat{\sigma}_A^2$ apresentou ser até 3,6 vezes (TM) superior à $\hat{\sigma}_D^2$ (Tabela 10).

Tabela 10 – Estimativas dos parâmetros genéticos e seus respectivos intervalos de confiança para caracteres relacionados à resistência ao *S. zeamais* em uma população de milho avaliada na E. E. Anhumas.

Componentes	Caracteres				
	NM	EM	TM	IS	PE
$\hat{\sigma}_A^2$	0,11 (0,06; 0,31)	0,76 (0,53; 1,24)	0,55 (0,45; 0,69)	0,76 (0,50; 1,32)	0,14 (0,10; 0,22)
$\hat{\sigma}_D^2$	0,00	0,30 (0,18; 0,57)	0,15 (0,12; 0,20)	0,26 (0,15; 0,69)	0,05 (0,03; 0,09)
$\hat{\sigma}_G^2$	0,11 (0,06; 0,31)	1,06 (0,71; 1,81)	0,70 (0,57; 0,89)	1,02 (0,65; 2,01)	0,19 (0,13; 0,32)
$\hat{d}$	0,00	0,89 (0,52; 1,05)	0,74 (0,33; 1,52)	0,83 (0,45; 1,11)	0,83 (0,49; 0,97)
$\hat{\sigma}_{FMI}^2$	0,16 (0,12; 0,23)	0,46 (0,36; 0,63)	0,58 (0,49; 0,71)	0,56 (0,43; 0,75)	0,08 (0,06; 0,11)
$\hat{\sigma}_{FPt}^2$	0,37 (0,28; 0,62)	1,59 (1,17; 2,46)	1,59 (1,32; 1,97)	1,76 (1,28; 2,90)	0,27 (0,20; 0,42)
$\hat{h}_a^2$	0,31 (0,22; 0,40)	0,66 (0,53; 0,80)	0,44 (0,33; 0,55)	0,58 (0,50; 0,70)	0,70 (0,56; 0,83)
$\hat{h}_r^2$	0,31 (0,22; 0,40)	0,48 (0,36; 0,59)	0,35 (0,25; 0,44)	0,43 (0,32; 0,54)	0,52 (0,40; 0,64)
$\hat{h}_{MI}^2$	0,18 (0,16; 0,38)	0,44 (0,40; 0,71)	0,24 (0,27; 0,48)	0,40 (0,40; 0,61)	0,46 (0,44; 0,70)

NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos. $\hat{\sigma}_A^2$, $\hat{\sigma}_D^2$, $\hat{\sigma}_G^2$, $\hat{\sigma}_F^2$, $\hat{h}_a^2$, $\hat{h}_r^2$, $\hat{h}_{MI}^2$ e $\hat{d}$ são as estimativas da variância aditiva, variância de dominância, variância genética, variância fenotípica, coeficiente de herdabilidade no sentido amplo em nível de plantas F_2 , coeficiente de herdabilidade no sentido restrito em nível de plantas F_2 , do coeficiente de herdabilidade em nível de médias de meios irmãos e do grau médio de dominância.

No ambiente E. E. Caterpillar, as $\hat{\sigma}_A^2$ foram significativamente diferente de zero ($P \leq 0,05$) para todos os caracteres, para as estimativas da variância de dominância, com exceção dos caracteres TM e PE, os demais caracteres não diferiram significativamente de zero. Apesar das $\hat{\sigma}_A^2$ apresentarem uma maior magnitude em relação à $\hat{\sigma}_D^2$, para os caracteres TM e PE, os intervalos de confiança destas estimativas se sobrepuseram, indicando que estas não diferiram significativamente entre si. Nos dois ambientes de avaliação a $\hat{\sigma}_A^2$ contribuiu com uma grande porção da variância genética total ($\hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2$), que oscilou de 71,69% (TM) até 100% (NM) no ambiente E. E. Anhumas e de 53,84% (TM) a 100%(NM, EM e IS) no ambiente E. E. Caterpillar. Os resultados obtidos nos 2 ambientes sugerem que a $\hat{\sigma}_A^2$ é mais importante na expressão dos caracteres que a $\hat{\sigma}_D^2$ (Tabela 10 e 11).

Tabela 11 – Estimativas dos parâmetros genéticos e seus respectivos intervalos de confiança para caracteres relacionados à resistência ao *S. zeamais* em uma população de milho avaliada no ambiente E. E. Caterpillar.

Componentes	Caracteres				
	¹ NM	EM	TM	IS	PE
$\hat{\sigma}_A^2$	4,90 (1,98; 30,52)	0,80 (0,50; 1,51)	0,21 (0,10; 0,95)	0,71 (0,44; 1,44)	0,10 (0,06; 0,19)
$\hat{\sigma}_D^2$	0,00	0,00	0,18 (0,09; 0,60)	0,00	0,02 (0,01; 0,14)
$\hat{\sigma}_G^2$	4,90 (1,98; 30,52)	0,80 (0,50; 1,51)	0,39 (0,19; 1,51)	0,71 (0,44; 1,44)	0,11 (0,07; 0,33)
$\hat{d}$	0,00	0,00	1,30 (0,48; 2,17)	0,00	0,59 (0,25; 1,79)
$\hat{\sigma}_{F_{MI}}^2$	12,15 (9,76; 20,70)	0,72 (0,57; 1,00)	0,42 (0,33; 0,68)	0,68 (0,54; 0,96)	0,09 (0,07; 0,12)
$\hat{\sigma}_{F_{Pt}}^2$	26,74 (20,51; 56,65)	1,84 (1,38; 2,76)	1,12 (0,80; 2,43)	1,72 (1,30; 2,65)	0,24 (0,18; 0,61)
$\hat{h}_a^2$	0,18 (0,11; 0,25)	0,43 (0,33; 0,54)	0,35 (0,25; 0,44)	0,40 (0,31; 0,52)	0,48 (0,36; 0,59)
$\hat{h}_r^2$	0,18 (0,11; 0,25)	0,43 (0,33; 0,54)	0,19 (0,12; 0,26)	0,40 (0,31; 0,52)	0,41 (0,30; 0,51)
$\hat{h}_{MI}^2$	0,10 (0,02; 0,23)	0,27 (0,26; 0,47)	0,13 (0,02; 0,23)	0,30 (0,29; 0,50)	0,28 (0,28; 0,46)

NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos.¹Estimativas da variância multiplicadas por 10^2 . $\hat{\sigma}_A^2$, $\hat{\sigma}_D^2$, $\hat{\sigma}_G^2$, $\hat{\sigma}_F^2$, $\hat{h}_a^2$, $\hat{h}_r^2$, $\hat{h}_{MI}^2$ e $\hat{d}$ são as estimativas da variância aditiva, variância de dominância, variância genética, variância fenotípica, coeficiente de herdabilidade no sentido amplo em nível de plantas F_2 , coeficiente de herdabilidade no sentido restrito em nível de plantas F_2 , do coeficiente de herdabilidade em nível de médias de meios irmãos e do grau médio de dominância.

Na análise conjunta, a maioria das estimativas de variância diferiram significativamente de zero. A $\hat{\sigma}_A^2$ e $\hat{\sigma}_D^2$ foram significativamente ($P \leq 0,05$) diferentes

para os caracteres EM, TM, IS e PE, para o caráter NM a $\hat{\sigma}_D^2$ não diferiu significativamente de zero. Para os caracteres EM, TM, IS e PE a $\hat{\sigma}_A^2$ foi superior à $\hat{\sigma}_D^2$ variando de 4,9 (TM) a 10,66 vezes (IS), sendo que a $\hat{\sigma}_A^2$ contribuiu com uma grande porção da variância genética total ($\hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2$), que oscilou de 83,00%(TM) até 100%(NM). Em um programa de melhoramento, caracteres predominantemente controlados por efeitos aditivos favorecem a seleção, isso porque os efeitos aditivos representam os efeitos médios dos alelos. Vários trabalhos na literatura reportam a magnitude da estimativa da variância aditiva superior à de dominância para vários caracteres como a produção de grãos em milho (HALLAUER; MIRANDA-FILHO, 1988) (Tabela 12).

Os resultados obtidos com a $\hat{\sigma}_A^2$ e a $\hat{\sigma}_D^2$ para as duas análises individuais e para a análise conjunta são diferentes daqueles encontrados na literatura para os caracteres EM e PE. Widstrom, Hanson e Redlinger (1975), avaliando a resistência do milho dentado ao ataque de *S. zeamais* para os caracteres EM e PE observaram que estimativa da variância de dominância tinha uma maior magnitude em relação a estimativa da variância aditiva. Esses mesmos autores verificaram que a estimativa da variância aditiva, para os caracteres EM e PE, contribuía com 6,00% e 10,00% da estimativa da variância genética total, respectivamente. Para os caracteres NM, TM e IS, estudos envolvendo a $\hat{\sigma}_A^2$ e a $\hat{\sigma}_D^2$ é escassa ou inexistente.

Apesar de as estimativas da variância da interação aditiva com ambientes ($\hat{\sigma}_{AxE}^2$) apresentarem elevada magnitude em relação às $\hat{\sigma}_A^2$, para os caracteres NM, EM, TM e PE o intervalo de confiança destas estimativas se sobrepuseram, indicando que estas não diferiram significativamente entre si. Para o caráter IS, a $\hat{\sigma}_{AxE}^2$ foi significativamente ($P \leq 0,05$) inferior à $\hat{\sigma}_A^2$, sugerindo que os efeitos ambientais tiveram uma menor contribuição para o controle genético desse caráter. Para os caracteres NM, EM e IS, a estimativa da variância da interação dominância com ambientes ($\hat{\sigma}_{DxE}^2$) não diferiram de zero. As estimativas da variância da interação dominância com ambientes, para os caracteres TM e PE, foram não significativas em relação às $\hat{\sigma}_D^2$. Para os caracteres TM e PE, a $\hat{\sigma}_{AxE}^2$ diferiu significativamente da $\hat{\sigma}_{DxE}^2$, e a $\hat{\sigma}_{AxE}^2$ foi significativamente ($P \leq 0,05$) superior a $\hat{\sigma}_{DxE}^2$ indicando que os efeitos aditivos, para ambos os caracteres, interagem mais com o ambiente que os efeitos de dominância (Tabela 12).

Tabela 12 - Estimativa dos parâmetros genéticos e seus respectivos intervalos de confiança da análise de variância conjunta dos ambientes E. E. Anhumas e E. E. Caterpillar para caracteres relacionados à resistência do *S. zeamais* em uma população de milho

Componentes	Parâmetro				
	NM	EM	TM	IS	PE ¹
$\hat{\sigma}_A^2$	0,12 (0,08; 0,20)	1,15 (0,84; 1,69)	0,54 (0,37; 0,90)	1,28 (0,93; 1,88)	1,30 (0,93; 1,96)
$\hat{\sigma}_D^2$	0,00	0,14 (0,08; 0,37)	0,11 (0,05; 0,37)	0,12 (0,06; 0,39)	0,19 (0,11; 0,53)
$\hat{\sigma}_{AxE}^2$	0,16 (0,09; 0,34)	0,69 (0,44; 1,28)	0,66 (0,41; 1,24)	0,47 (0,27; 1,14)	1,63 (1,13; 2,66)
$\hat{\sigma}_{DxE}^2$	0,00	0,00	0,19 (0,09; 0,49)	0,00	0,19 (0,08; 1,26)
$\hat{\sigma}_G^2$	0,12 (0,08; 0,20)	1,29 (0,91; 2,07)	0,65 (0,42; 1,27)	1,40 (0,99; 2,28)	1,49 (1,04; 2,48)
$\hat{d}$	0,00	0,48 (0,27; 0,65)	0,62 (0,32; 0,95)	0,44 (0,24; 0,64)	0,54 (0,30; 0,73)
$\hat{\sigma}_{F_{MI}}^2$	0,12 (0,09; 0,17)	0,59 (0,45; 0,83)	0,44 (0,34; 0,63)	0,61 (0,48; 0,88)	0,08 (0,06; 0,12)
$\hat{\sigma}_{F_{Pt}}^2$	0,54 (0,40; 0,83)	2,83 (2,11; 4,31)	2,38 (1,71; 4,21)	2,81 (2,10; 4,48)	4,51 (3,32; 7,76)
$\hat{h}_a^2$	0,22 (0,17; 0,28)	0,45 (0,38; 0,53)	0,27 (0,21; 0,33)	0,50 (0,42; 0,58)	0,33 (0,26; 0,40)
$\hat{h}_r^2$	0,22 (0,17; 0,28)	0,41 (0,33; 0,48)	0,23 (0,17; 0,28)	0,46 (0,38; 0,53)	0,29 (0,23; 0,35)
$\hat{h}_{MI}^2$	0,30 (0,28; 0,62)	0,60 (0,58; 0,83)	0,33 (0,25; 0,70)	0,52 (0,49; 0,77)	0,39 (0,30; 0,66)

¹estimativas das variâncias multiplicadas por 10. NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio de desenvolvimento, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos. $\hat{\sigma}_A^2$, $\hat{\sigma}_D^2$, $\hat{\sigma}_G^2$, $\hat{\sigma}_F^2$, $\hat{\sigma}_{AxE}^2$, $\hat{\sigma}_{DxE}^2$, $\hat{h}_a^2$, $\hat{h}_r^2$, $\hat{h}_{MI}^2$ e $\hat{d}$ são as estimativas da variância aditiva, variância de dominância, variância genética, variância fenotípica, variância da interação aditiva x ambiente, variância da interação dominância x ambiente, coeficiente de herdabilidade no sentido amplo em nível de plantas F₂, coeficiente de herdabilidade no sentido restrito em nível de plantas F₂, do coeficiente de herdabilidade em nível de médias de meios irmãos e do grau médio de dominância.

No ambiente E. E. Anhumas as estimativas do grau médio de dominância ($\hat{d}$), para os caracteres EM, TM, IS e PE apresentaram dominância parcial variando de 0,74 a 0,89. As estimativas do $\hat{d}$ no ambiente E. E. Caterpillar variaram de dominância parcial (0,59)(PE) a sobredominância (1,30)(TM). Na análise conjunta, a maioria dos caracteres o $\hat{d}$ apresentou dominância parcial, variando de 0,48 a 0,62 (Tabelas 10, 11 e 12).

Comstock e Robinson (1952) demonstraram que populações F₂ apresentam elevado desequilíbrio de ligação, o que pode causar vieses nas estimativas da variância aditiva e de dominância, uma vez que na presença de desequilíbrio de

ligação estas variâncias são: $\sigma_A^2 = \sigma_A^2 \pm \left(\sum_{ij} (1 - 2r_{ij}) \right) a_i a_j$ e a variância de dominância de F_2 $\sigma_D^2 = \sigma_D^2 + (1/2) \left(\sum_{ij} (1 - 2r_{ij}) \right)^2 d_i d_j$, em que r_{ij} é a fração de recombinação entre os locos i e j ; e $a_i a_j$ e $d_i d_j$ são os efeitos aditivos e de dominância dos locos i e j respectivamente. Assim, em populações F_2 as estimativas da variância de dominância estarão superestimadas e as estimativas da variância aditiva subestimada ou superestimada, na presença da fase de repulsão ou de associação, respectivamente. Na presença de ligação em repulsão a estimativa do $\hat{d} = \sqrt{2\hat{\sigma}_D^2 / \hat{\sigma}_A^2}$ está superestimada, o qual poderia gerar valores de pseudo-dominância. Com relação aos efeitos do desequilíbrio de ligação sob as estimativas da $\hat{\sigma}_A^2$, $\hat{\sigma}_D^2$ e da $\hat{d}$, tem sido demonstrado que após vários ciclos de recombinação nas populações F_2 , a $\hat{\sigma}_D^2$ é reduzida significativamente, enquanto a $\hat{\sigma}_A^2$ permanece inalterada, diminuindo assim as estimativas do $\hat{d}$ (GARDNER, 1963; HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988). Os resultados das estimativas do $\hat{d}$, obtidos neste estudo, sugerem que o desequilíbrio de ligação na população F_2 ocorreu devido a fase de ligação de repulsão, o que pode ter superestimado o $\hat{d}$.

Todas as estimativas dos coeficientes de herdabilidade foram significativamente diferentes de zero. Os valores obtidos das estimativas dos coeficientes de herdabilidade ao nível de médias de progênie de meios-irmãos ($\hat{h}_{MI}^2$) para o ambiente E. E. Anhumas variaram entre os caracteres sendo de 0,18, 0,24, 0,40, 0,44, e 0,46 para NM, TM, IS, EM e PE, respectivamente. Baixos valores da $\hat{h}_{MI}^2$ também foram obtidos no ambiente E. E. Caterpillar (Tabelas 10 e 11).

Na análise conjunta os valores da $\hat{h}_{MI}^2$ foram de 0,30, 0,33, 0,39, 0,52 e 0,60 para os caracteres NM, TM, PE, IS e EM, respectivamente. Estas baixas estimativas de $\hat{h}_{MI}^2$, na análise conjunta, indicam que os efeitos da interação com os ambientes influenciaram no controle genético dos caracteres. Os baixos valores de $\hat{h}_{MI}^2$ decorrem da forma de estimação dos coeficientes de herdabilidade de progênie de meios-irmãos. Ela foi realizada utilizando-se as médias das progênie $F_{2:3}$, onde a variância da interação progênie x ambientes ($\hat{\sigma}_{P \times E}^2$) é dividido pelo número de ambientes (dois) e a estimativa da variância do erro ($\hat{\sigma}_e^2$) é dividida pelo número de ambientes (dois) e repetições (dois), isto é, $\hat{\sigma}_{FMI}^2 = \hat{\sigma}_P^2 + (\hat{\sigma}_{P \times E}^2 / 2) + (\hat{\sigma}_e^2 / 4)$ para

todos os caracteres. Logo, a magnitude da $\hat{\sigma}_{P_{XE}}^2$ e da $\hat{\sigma}_e^2$ ainda contribuem apesar das divisões e, conseqüentemente, reduzem os valores da $\hat{h}_{MI}^2$ (Tabela 12).

Diferentes magnitudes de estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido amplo ($\hat{h}_A^2$) foram observadas entre os dois ambientes de avaliação. Para o ambiente E. E. Anhumas a $\hat{h}_A^2$ para os caracteres EM, IS e PE, apresentou valores de 0,66, 0,58 e 0,70 indicando que o efeito genético apresentou uma maior influência no controle desses caracteres. Para os caracteres TM (0,44) e NM (0,31) o efeito ambiental influenciou mais a expressão desses caracteres. A influência do ambiente sobre o controle dos caracteres também foi observada no ambiente E. E. Caterpillar, onde a $\hat{h}_A^2$ apresentou valores de 0,18, 0,35, 0,40, 0,43 e 0,48 para os caracteres NM, TM, IS, EM e PE, respectivamente. Na análise conjunta verificou-se baixas $\hat{h}_A^2$ para os caracteres NM (0,22), TM (0,27), PE (0,33), EM (0,45), e IS (0,50) (Tabelas 10, 11 e 12).

García-Lara et al. (2009), também encontraram baixos valores de herdabilidade no sentido amplo para os caracteres EM (0,45), TM (0,34) e IS (0,48). Contudo, as estimativas de herdabilidade de trabalhos diferentes são difíceis de serem comparadas visto que elas tendem a variar, dentre outros, com o tipo de progênie, número de repetições e número de ambientes utilizados na estimação dos parâmetros e também pela dificuldade em se encontrar trabalhos relacionados ao ponto de vista genético da herança da resistência do milho à infestação por *S. zeamais*.

Para a estimativa do coeficiente de herdabilidade no sentido restrito ($\hat{h}_R^2$) os valores obtidos variaram de 0,31 a 0,52 no ambiente E. E. Anhumas. O caráter PE apresentou uma $\hat{h}_R^2$ de 0,52, sendo este considerado moderado. No ambiente E. E. Caterpillar os valores da $\hat{h}_R^2$ variaram de 0,18 a 0,48 indicando que, para todos os caracteres, o efeito aditivo dos genes tem uma menor influência no controle dos caracteres avaliados. Na análise conjunta a $\hat{h}_R^2$ apresentaram valores de 0,23 (TM), 0,22 (NM), 0,29 (PE), 0,41 (EM) e 0,46 (TM), sendo esses considerados baixos valores de $\hat{h}_R^2$. Os resultados obtidos na análise conjunta demonstram que a seleção em nível de plantas individuais seria de baixa eficiência (Tabelas 10, 11 e 12).

De maneira geral as estimativas de herdabilidade no ambiente E. E. Caterpillar são menores que do ambiente E. E. Anhumas, sugerindo que a ação do ambiente foi maior no ambiente E. E. Caterpillar. Reforçando a hipótese de que o estresse hídrico afetou na obtenção dos resultados para o ambiente E. E. Caterpillar. O baixo número de ambientes testados, bem como o número de repetições, é outro fator que pode estar afetando nos valores da estimativa de herdabilidade na análise conjunta.

2.3.5 Correlações entre caracteres

Devido a dificuldade de obtenção dos caracteres relacionados a resistência utilizados nesse trabalho, estimou-se as correlações genéticas ($\hat{r}_G$) e fenotípicas ($\hat{r}_F$) entre os caracteres para verificar a possibilidade de utilizar caracteres de fácil obtenção como o caráter emergência de insetos, na seleção de caracteres de difícil obtenção, como o caráter perda percentual de massa seca, sendo este considerado o principal caráter desse trabalho.

O caráter NM apresentou estimativas significativas de $\hat{r}_G$ e $\hat{r}_F$ com os caracteres EM, IS e PE, sendo que a $\hat{r}_G$ apresentou uma maior magnitude em relação a $\hat{r}_F$, evidenciando que o fator genético teve uma maior influência na correlação do caráter NM que os efeitos ambientais. O caráter EM apresentou estimativas significativas de $\hat{r}_G$ com os caracteres IS e PE e estimativas significativas de $\hat{r}_F$ para os caracteres TM, IS e PE. A estimativa da correlação genética apresentou uma maior magnitude em relação à estimativa da correlação fenotípica entre o caráter EM e os caracteres IS e PE. A correlação genética entre os caracteres EM e TM foi não significância, isso sugere que os efeitos ambientais estão contribuindo mais para a expressão desses fenótipos (Tabela 13).

Tabela 13 – Estimativas das correlações fenotípicas ($\hat{r}_F$), (diagonal acima) e genéticas ($\hat{r}_G$), (diagonal abaixo) entre os caracteres avaliados

Caráter	NM	EM	TM	IS	PE
NM	-	-0,51 ^{**}	0,09 ^{ns}	-0,49 ^{**}	-0,39 ^{**}
EM	-0,70 ^{**}	-	-0,18 ^{**}	0,96 ^{**}	0,87 ^{**}
TM	0,06 ^{ns}	-0,29 ^{ns}	-	-0,22 ^{**}	-0,17 ^{**}
IS	-0,71 ^{**}	0,99 ^{**}	-0,35 ^{ns}	-	0,82 ^{**}
PE	-0,73 ^{**}	0,97 ^{**}	-0,30 ^{ns}	0,97 ^{**}	-

^{**} significativo, pelo teste *t* a 0,01 de probabilidade. ^{ns} não significativo. NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio necessário para emergência dos insetos, IS: índice de suscetibilidade e PE: perda percentual de massa seca dos grãos.

O caráter TM apresentou uma $\hat{r}_F$ significativa com os caracteres IS e PE. Não foi constatada significância para $\hat{r}_G$ para esses caracteres, sugerindo que os efeitos ambientais são mais importantes para a expressão do caráter. O caráter PE apresentou níveis significativos da $\hat{r}_G$ e da $\hat{r}_F$ para o caráter NM, IS e EM. A alta magnitude da $\hat{r}_G$ sobre a $\hat{r}_F$ indica que os efeitos genéticos são mais importantes que os efeitos fenotípicos (Tabela 13).

Resultados semelhantes foram encontrados por Garcia-lara et al. (2009), esses autores também verificaram que a estimativa da correlação genética do caráter PE para os caracteres EM e IS, era superior à estimativa da correlação fenotípica. Os resultados obtidos nesse ensaio sugerem que o caráter EM, por ser um caráter de fácil obtenção, e altamente correlacionado com PE é o mais indicado para se trabalhar em um programa de melhoramento de milho visando resistência ao *S. zeamais*.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados indicaram a presença de variabilidade genética na população originada do cruzamento entre as linhagens L-08-05F x L-38-05D, para todos os caracteres estudados. Foi constatada uma maior magnitude da variância genética aditiva para todos os caracteres, o que contribuiu para as estimativas dos graus médios de dominância apresentarem dominância parcial. Contudo, as estimativas do grau médio de dominância, para todos os caracteres avaliados podem estar superestimadas, pelo fato de terem sido obtidas a partir de uma população F_2 .

Na análise conjunta, a presença da epistasia foi detectada para todos os caracteres, exceto para o caráter tempo médio de desenvolvimento do inseto (TM). Os efeitos epistáticos estimados nesta população, tanto com o teste baseado na análise de variância seguindo o delineamento TTC, quanto em nível de plantas F_2 , para todos os caracteres relacionados à resistência do milho ao *S. zeamais*, indicam que a epistasia é um componente importante na herança desses caracteres na população em estudo. Os efeitos epistáticos do tipo não aditivo (epistasia aditiva x dominante e/ou dominante x dominante) foram mais importantes que a epistasia do tipo aditiva x aditiva, para a maioria dos caracteres. Entretanto, esses efeitos epistáticos não foram consistentes nos diferentes ambientes, uma vez que foram detectados efeitos significativos para as interações dos diferentes tipos de epistasia com ambientes, exceto para o caráter TM, em que não foi detectado efeitos de epistasia na análise conjunta. Os resultados demonstraram que os efeitos epistáticos também são importantes para os estudos de herança da resistência, apesar das diferenças observadas entre os ambientes de avaliação. Os efeitos epistáticos estimados em nível de plantas, nas análises individuais e conjunta, para os caracteres relacionados à resistência do milho ao *S. zeamais*, não foram unidirecionais. De modo geral, o número de plantas com efeitos epistáticos significativos contribuindo para aumentar a expressão dos caracteres avaliados foi maior, em relação às plantas que apresentaram efeitos epistáticos atuando de forma negativa para esses caracteres. Em um programa de melhoramento, o ideal seria que os efeitos epistáticos atuassem contra os caracteres EM e PE e a favor dos caracteres NM, IS e TM. Esses efeitos epistáticos desejáveis podem ser capitalizados durante o processo de seleção, tanto no desenvolvimento de linhagens

e híbridos, quanto no melhoramento populacional. As estimativas dos efeitos epistáticos em nível de plantas, nas análises individuais e conjunta, sugerem a presença de epistasia pleiotrópica para todos os caracteres, apesar da epistasia pleiotrópica ser raramente considerada nos estudos genéticos.

Resultados obtidos em alguns estudos com animais realizados com o objetivo de verificar o papel da epistasia na determinação de padrões de variação simultânea entre caracteres têm demonstrado que os efeitos epistáticos pleiotrópicos contribuem de maneira significativa à covariação entre caracteres (WOLF et al., 2005, 2006; PAVLICEV et al., 2007). Segundo Pavlicev et al. (2007) presença de variação genética em pleiotropia é necessária para a seleção natural moldar padrões de covariação entre os caracteres. Cheverud e Routman (1995) e Cockerham e Zeng (1996) demonstraram que os efeitos epistáticos contribuem de forma direta para a variância genética aditiva e para a variância de dominância. Consequentemente, a presença de efeitos epistáticos na herança da resistência do milho ao ataque do *S. zeamais* indica que o modelo aditivo-dominante não é suficiente para explicar a variação genética desses caracteres.

As interações epistáticas podem ter diversas implicações práticas nos programas de melhoramento genético de diversas culturas. Holland (2006) reforçou que a presença da epistasia pode ser um dos motivos pelos quais os ganhos realizados com a seleção são frequentemente menores que os preditos, uma vez que os efeitos epistáticos são desconsiderados nas estimativas da herdabilidade e da resposta esperada com a seleção. A presença da epistasia também pode ser a responsável pela manutenção da variabilidade genética em populações pequenas, ou submetidas a sucessivos ciclos de seleção, garantindo, assim, a contínua resposta à seleção (RASMUSSEN; PHILLIPS, 1997; DUDLEY, 2008). Em populações pequenas ou que sofreram efeito de “gargalo” (subdivisão), a variância epistática aditiva x aditiva pode ser convertida em variância aditiva, na qual a seleção natural atua de modo a permitir uma rápida adaptação dessa população a novos ambientes (GOODNIGHT, 1988; WADE, 1992).

Os estudos de herança da resistência a insetos são particularmente trabalhosos, exigindo não só estrutura física adicional (estufas e laboratórios apropriados para criação massal da praga-alvo) como também de uma equipe qualificada, uma vez que desde a instalação de ensaios de campo e/ou laboratório

até a obtenção de resultados, o número de caracteres avaliados, de insetos utilizados e de progênies avaliadas, torna essa tarefa complexa.

A correlação genética entre os diferentes caracteres avaliados evidencia que, para um programa de melhoramento, seria mais importante avaliar o caráter emergência de insetos (EM), por se tratar de um caráter de fácil obtenção e estar altamente correlacionado com os caracteres perda percentual de massa seca (PE). Dessa forma, praticar a seleção no caráter EM também significa praticar a seleção indireta no caráter PE que é um caráter de obtenção mais complexa. Com relação ao tipo de resistência, os resultados obtidos com as médias e os intervalos de variação sugerem que a resistência ao *S. zeamais*, para a população em estudo, é do tipo antixenose (não preferência) e/ou antibiose para alimentação. Entretanto serão necessários estudos mais detalhado, uma vez que esses dois tipos de resistência interferem na biologia do inseto (VENDRAMIN; NISHIKAWA, 2001).

A presença da epistasia também pode ter importantes consequências no sucesso da detecção, da introgressão e da caracterização de genes, ou de regiões contendo genes QTLs que controlam caracteres quantitativos (QTL), já que o efeito de um gene envolvido na variação desses caracteres pode ser alterado por suas interações epistáticas com outros genes (CARLBORG; HALEY, 2004). Segundo Purcell e Sham (2004), como os efeitos epistáticos são parcialmente confundidos com os efeitos aditivos e de dominância, as análises que consideram apenas os efeitos individuais dos locos, podem conduzir à identificação de um loco associado a um caráter quantitativo (QTL), que não tenha apenas efeito principal, mas que também interaja epistaticamente com outros locos. Isso poderia restringir a resposta à seleção, por meio da seleção assistida por marcadores moleculares (LIU et al., 2003) e também dificultar o isolamento desses QTL. Além disso, interações epistáticas, quando são ignoradas nos estudos de mapeamento, podem também ocasionar vieses na estimação dos efeitos dos QTL individuais (CARLBORG; HALEY, 2004).

Devido às diferenças encontradas na detecção da epistasia nos dois ambientes de avaliação, recomenda-se que futuros ensaios de resistência sejam realizados em um grande número de ambientes e com ausência de estresse hídrico. Nesse trabalho encontrou-se evidências que, além da ação epistática, outros

mecanismos, como o estresse hídrico podem estar afetando na resistência do milho ao *S. zeamais*.

De qualquer forma, como exposto por Hallauer (2007), as dificuldades em detectar efeitos epistáticos e suas variâncias, não significa que estes estejam ausentes ou que sejam pouco importantes na herança dos caracteres quantitativos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. M.; CARLINI-GARCIA, L. A.; 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 singlecrosses. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, p. 83-89, 2003.
- ARAÚJO, P. A. **Deteção da epistasia para produção de grãos e caracteres agrônômicos em soja**. 2006. 78 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2006.
- ARNASON, J. T.; LAMBERT, J. D. H.; GALE, J.; MIHM, J.; BJARNASON, M.; JEWELL, D.; SERRATOS, J. A.; FREGEAU-REID, J.; PIETRZAK, L. Is "quality protein" maize more susceptible than normal cultivars to attack by the maize weevil *Sitophilus zeamais*? **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.2, p.359-358, 1993.
- 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, 51, 1959. 531-534.
- BERNARDO, R. **Breeding for Quantitative Traits in Plants**. Woodbury: Stemma Press, 2002. 369 p.
- BETI, J. A.; PHILLIPS, T. W.; SMALLEY, E. B. Effects of maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) on production of aflatoxin B sub (1) by *Aspergillus flavus* in stored corn. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 88, n. 6, p. 1776-1782, 1995.
- BHATTI, M.; AZHAR, F. M.; ALBI, A. W.; AYUB, M. Triple Test Cross analysis of seed cotton (*Gossypium hirsutum* L.) yield and its components grown in salinized conditions. **International Journal of Agriculture and Biology**, Pakistan, v. 8, n. 6, p. 820-823, 2006.
- CARLBORG, O.; HALEY, C. S. Epistasis: too often neglected in complex trait studies? **Natural Review of Genetics**, London, v. 5, p. 618-624, 2004.
- 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 Applied Genetics**, Berlin, v. 115, p. 429-442, 2007.
- CEBALLOS, H.; PANDEY, S.; NARRO, L. ; Pérez, J.C. Additive, dominant, and epistatic effects for maize grain yield in acid and non-acid soils. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 96, p. 662-668, 1998.
- CHEVERUD, J. M.; ROUTMAN, E. J. Epistasis as a source of increase additive genetic variance at populations bottlenecks. **Evolution**, Cambridge, v. 50, p. 1042-1051, 1996.
- CLASSEN, D.; ARNASON, J. T.; SERRATOS, J. A.; LAMBERT, J. D. H.; NOZZOLILLO, C.; PHIIOGENE, B. J. R. Correlation of phenolic acid content of maize to resistance to *Sitophilus zeamais*, the maize weevil in CIMMYT's collections. **Journal of Chemical Ecology**, Dordrecht, v. 16, p. 301-315., 1990.

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.

COCKERHAM, C. C.; ZENG, Z. Design III with marker loci, **Genetics**, Austin, v. 143, p. 1437-1456, 1996.

COMSTOCK, R. E.; ROBINSON, H. F. Estimation of average dominance of genes. In: GOWEN, J. W. **Heterosis**. Iowa: Iowa State Coll, 1952. p. 494-512.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Companhia Nacional de Abastecimento**, 2008. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 15 maio 2008.

CRUZ, I.; VALICENTE, F. H.; SANTOS, J. P.; WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A. **Manual de identificação de pragas da cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, CNPMS, 1997. 67 p.

DERERA, J.; GIGA, P. D.; PIXLEY, K. V. Resistance of maize to the maize weevil : II. Non-preference. **African Crop Science Journal**, Uganda, v. 9, n. 2, p. 441-450, 2001.

DERERA, J.; PIXLEY, K. V.; GIGA, P. D. Resistance of maize to the maize weevil: I. Antibiosis. **African Crop Science Journal**, Uganda, v. 9, n. 2, p. 431-440, 2001.

DHLIWAYO, T.; PIXLEY, K. V. Breeding for resistance to the maize weevil (*Sitophilus zeamais* MOTSCH.): Is it feasible? In: 7th EASTERN AND SOUTHERN AFRICA REGIONAL MAIZE CONFERENCE, 7, 2001, Nairobi. **Anais...** Nairobi: CIMMYT. 2001. p. 134-148.

DHLIWAYO, T.; PIXLEY, K. V. Divergent selection for resistance to maize weevil in six maize populations. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 2043-2049, 2003.

DHLIWAYO, T.; PIXLEY, K. V.; KAZEMBE, V. Combining ability for resistance to maize weevil among 14 southern african maize inbred lines. **Crop Science**, Madison, v. 45, p. 662-667, 2005.

DOBIE, P. An investigation into the use of X-ray technique in the study of pre-emergent stages of *Sitophilus oryzae* L. developing in Manitoba Wheat. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 9, 1973. 7-11.

DOBIE, P. The contribution of the tropical stored products centre to the study of insect resistance in stored maize. **Tropical Stored Products Information**, Slough, v. 34, p. 7-22, 1977.

DOBIE, P.; HAINES, C. P.; HODGES, R. J.; PREVETT, P. F. **Insects and arachnids of tropical stored products, their biology and identification**: a training manual. [S.l.]: Tropical Development and Research Institute, 1984. 273 p.

DOEBLEY, J. F.; STEC, A.; GUSTUC, C. Teosinte branched1 and the origin of maize Evidence for epistasis and the evolution of dominance. **Genetics**, Austin, v. 141, p. 333-346, 1995.

EBERHART, S. A.; MOLL, R. H.; ROBINSON, H. F.; COCKERHAM, C. C. Epistatic and other genetic variances in two varieties of maize. **Crop Science**, Madison, v. 6, p. 275-280, 1966.

ETA-NDU, J. T.; OPENSHAW, S. J. Epistasis for grain yield in two F2 populations of maize. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 346–352, 1999.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. **Introduction to quantitative genetics**. London: Longman, 1996. 464 p.

FAO. **Prevención de pérdidas de alimentos pos-cosecha**: manual de capacitación. Roma: ONU/FAO, 1985. 130 p.

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development**. 2. ed. New York: Macmillan, 1987. 536 p.

FISHER, R. A. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. **Trans Royal Soc Edinburgh**, [s.l.], v. 52, p. 399–433, 1918.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GARCÍA MENDOZA, P. J. **Epistasia pra a produção de grãos e seus componentes em milho**. 2011, 107 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2011.

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.

GARCÍA-LARA, S.; KHAIRALLAH, M. M.; VARGAS, M.; BERGVINSON, D. J. Mapping of QTL associated with maize weevil resistance in tropical maize. **Crop Science**, Madison, v. 49, n. 1, p. 139-149, 2009.

GARDNER, C. O. Estimates of genetic parameters in cross-fertilizing plants and their implications in plant breeding. In: HANSON, W. D.; ROBINSON, H. F. (Ed.). **Statistical genetics and plant breeding**. Washington: National Academy of Sciences, 1963. p. 225-252.

GATEHOUSE, A. M. R.; BOULTER, D.; HILDER, V. A. Potential of plant-derived genes in the genetic manipulation of crops for insect resistance. **Plant Genetic Manipulation for Crop Protection**, Wallingford, v. 7, p. 155-181, 1994.

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

GUPTA, S. C.; ASNANI, V. L.; KHARE, B. P. Effect of the opaque-2 gene in maize (*Zea mays*) on the extent of infestation by *Sitophilus oryzae* L. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 6, 1970. 191-194.

GUZMAN, P. S.; LAMKEY, K. R. Effective population size and genetic variability in the BSII Maize population. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 338-346, 2000.

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**. 2^o. ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.

HARLAN, S. C. The inheritance of immunity to leaf blister mite (*Eriophyes gossypii* Banks) in cotton. **West Indian Bulletin**, Barbados, v. 17, p. 162-166, 1916.

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

HAYMAN, B. I. The separation of epistatic from additive and dominance variation in generation means. **Heredity**, London, v. 12, p. 371-390, 1960.

HINZE, L. L.; LAMKEY, K. R. Absence of epistasis for grain yield in elite maize hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 46-56, 2003.

HOLLAND, J. B. Theoretical and biological foundations of plant breeding. In: LAMKEY, K. R.; LEE, M. (Ed.). **Plant breeding: the Arnel R. Hallauer International Symposium**. Ames: Blackwell Publishing, 2006. p. 127-140.

JINKS, J. L.; PERKINS, J. M. A general method for the detection of additive, dominance and epistatic components of variation: III. F2 and backcross populations. **Heredity**, London, v. 25, p. 419-429, 1970.

JOHNSON, W.; GEPTS, P. 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**, Dordrecht, v. 125, p. 69-79, 2002.

KANG, S. M.; ZHANG, Y.; MAGARI, R. Combining ability for maize weevil preference of grain. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 1556-1559, 1995.

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. **Heredity**, London, v. 23, p. 403- 409, 1968, v. 23, p. 403- 409, 1968.

KEARSEY, M. J.; POONI, H. S. **The genetical analysis of quantitative traits**. United Kingdom: Stanley Thones, 1998. 381 p.

KEMPTHORNE, O. The correlation between relatives in a random mating population. **Proceedings of the Royal Socity of London**, Washington, v. 143, p. 103-113, 1954.

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.; McNEILLY, T. Genetic basis of variation of yield, and yield components in mungbean (*Vigna radiate* (L.) Wilczek). **Hereditas**, Malden, v. 134, p. 211-217, 2001.

KHUSH, G. S.; BRAR, D. S. Genetics of resistance to insects in crop plants. **Advances in Agronomy**, [s.l.], v. 45, p. 223- 274, 1991.

KIM, S. K.; KOSSOU, D. K. Responses and genetics of maize germplasm resistant to the maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky in West Africa. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 39, p. 489–505, 2003.

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

KUBO, K.; YOSHIMURA, A. Complex epistasis underlying hybrid female sterility in japonica-indica rice cross. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 115, p. 346-355, 2005.

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 testcross 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, p. 1272-1281, 1995.

LAZZARI, F. A. Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações. **Curitiba: Paranaset**, 1997. 148.

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.

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

LORINI, I. **Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001, 80 p..

LYON, W. F. **Granary and rice weevils**. Ohio State University Extension Fact Sheet: Entomology, 2001. Disponível em: <<http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/2000/2088.html>>. Acesso em: 20 out. 2001.

MARSARO JÚNIOR, A. L.; LAZZARI, S. M. N.; FIGUEIRA, E. L. Z.; HIROOKA, E. Y. Inibidores de amilase em híbridos de milho como fator de resistência a *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, 2005a. 443-450.

MARSARO JÚNIOR, A. L.; LAZZARI, S. M. N.; KADOZAWA, P.; HIROOKA, E. Y.; GERAGE, A. C. Avaliação da resistência de híbridos de milho ao ataque de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) no grão armazenado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, 2005b. 165-170.

MATHER, K. **The study of continuous variation: biometrical genetics**. London: Dour Publications, 1949. 162 p.

MAZZONETO, F.; BOIÇA JÚNIOR, A. L. Determinação dos tipos de resistência de genótipos de feijoeiro ao ataque de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 307-311, 1999.

MEFFERT, L. M. The evolutionary potencial of morphology and mating behavior: the role of epistasis in bottlenecked populations. In: WOLF, J. B.; BRODIE, E. D.; WADE, M. J. **Epistasis and the evolutionary process**. New York: Oxfor University Press, 2000. p. 177-193.

MEREDITH, W. R.; LASTER, M. L. Agronomic and genetic analysis of tarnished plant bug tolerance in cotton. **Crop Science**, Madison, v. 15, p. 535-358, 1975.

MIHALJEVIC, R.; UTZ, H. F.; MELCHINGER, A. E. No evidence for epistasis in hybrid and per se performance of elite European flint maize inbreds from generation means and QTL analyses. **Crop Science**, Madison, v. 45, p. 2605-2613, 2005.

MIRANDA, M. M. M.; ARAÚJO, J. M.; PICANÇO, M.; F.G., F.; MACHADO, A. T. Detecção de não- preferência a *Sitophilus zeamais* Mots. em espigas e grãos de 49 populações de milho. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.2, n. 20, 1995. 21-25.

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**, New York, v. 119, p. 1361-1369, 2009.

MORETO, A. L. **Epistasia em cruzamento de feijão andino x mesoamericano**. 2008. 67 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras. Lavras. 2008.

MOUND, L. **Common Insect Pests of Stored Food Products: A guide to their identification**. 15. ed. London: British Museum, 1989. 68 p.

NAMAYANDEH, A.; CHOUKAN, R.; MOHAHHADI, S. A.; M.M., K.; GHASEMI, S.; HERVAN, E. M. Genetic analysis of resistance to common smut in maize (*Zea mays* L.) using triple test cross. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 6, n. 3, p. 630-635, 2011.

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.

OPSAHL, B. The discrimination of interactions and linkage in continuous variation. **Biometrics**, Washongton, v. 12, n. 4, p. 415-432, 1956.

PAINTER, R. H. **Insect resistance in crop plants**. New York: McMillian, 1951. 520 p.

PATHAK, M. D. Genetics of plants in pest management. In: RABB, R. L.; GUTHRIE, F. E. (Ed.). **Concepts of pest management**. Raleigh: North Carolina State University Press, 1970. p. 138-157.

PAVLICEV, M.; KENNEY-HUNT, J.; NORGARD, E. A.; ROSEMAN, C. C.; WOLF, J. B.; CHEVERUD, J. M. Genetic variation in pleiotropy: differential epistasis as a source of variation in the allometric relationship between long bone lengths and body weight. **Evolution**, Cambridge, v. 62, n. 1, p. 199-213, 2007.

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.

PUZZI, D. **Abastecimento e armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 2000. 666 p.

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

RAO, P. V. R.; REDDY, A. V.; REDDY, D. L.; GANESH, M. Modified triple test cross in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Journal of Oilseeds Research**, New Delhi, v. 21, p. 34-35, 2004.

RASMUSSEN, D. C.; PHILLIP, R. L. Review and interpretation: plant breeding progress and genetic diversity from the new variation and elevated epistasis. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 303-310, 1997.

RITCHIE, S.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1989, 21p.

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.

ROFF, D. A.; EMERSON, K. Epistasis and dominance: Evidence for differential effects in life history versus morphological traits. **Evolution**, Cambridge, v. 60, n. 10, p. 1981-1990, 2006.

SADASIVAM, S.; THAYUMANAVAN, B. **Molecular Host Plant Resistance to Pests**. New York: CRC Press, 2003. 479 p.

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.

SAS INSTITUTE. **Sas system for windows**. Version 8.2, Cary, 2001.

SATTERTHWAITE, R. E. An approximate distribution of estimates of variance components. **Biometrics**, Washington, v. 2, n. 6, p. 110-114, 1946.

SCHOONHOVEN, A.; HOBER, E.; WASSON; MILLS, R. B. Selection for resistance to maize weevil in kernels of maize. **Euphytica**, Dordrecht, v. 24, n. 3, p. 639-644, 1975.

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

SERRATOS, J. A.; BLANCO-LABRA, A.; ARNASON, J. T.; MIHM, J. A. Genetics of maize grain resistance to maize weevil. In: MIHM, J. A. **Proceedings of an International Symposium held at the international maize and wheat improvement center**. Mexico: CIMMYT, 1994. p. 132-138.

SERRATOS, J. A.; BLANCO-LABRA, A.; MIHM, J. A.; PIETRZAK, L.; ARNASON, J. T. Generation means analysis of phenolics compounds in maize grain and susceptibility to maize weevil *Sitophilus zeamais* infestation. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 71, p. 1176-1181, 1993.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika**, London, v. 42, n. 3/4, p. 591-611, 1965.

SILVA DÍAZ, R. J. **Epistasia para produção de grãos e caracteres da planta em milho**. 2011. 97 p. Tese (Doutorado) - Escola superior de agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2011.

SILVA, D. V. F. **Epistasia em testecrosses de milho**. 2011. 88 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2011.

SILVA, J. C.; HALLAUER, A. R. Estimation of epistatic variance in Iowa stiff synthetic maize. **Journal of Heredity**, Washington, v. 66, p. 290-296, 1975.

SINGH, S. B.; GUPTA, B. B. Triple test cross analysis to detect of epistasis for morphophysiological traits related to drought tolerance and yield components in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Research**, Jammu, v. 7, n. 2, p. 202-209, 2008.

SINGH, S. R.; MCCAIN, F. S. Relationship of some nutritional properties of the corn kernel to weevil infestation. **Crop Science**, Madison, v.3, 1963. 259-261.

SMITH, C. M. **Plant Resistance to Arthropods - Molecular and Conventional Approaches**. [S.l.]: Springer, 2005. 423 p.

SOFI, P. A. Genetic analysis of tassel and ear characters in maize (*Zea mays* L.) using triple test cross. **Asian Journal of Plant Science**, [s.l.], v. 6, p. 881-883, 2007.

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

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

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw Hill Company, 1980. 86-121 p.

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.

TEMPLETON, A. R. Epistasis and complex traits. In: WOLF, J. B.; BRODIE, E. D.; WADE, M. J. (Ed.). **Epistasis and the evolutionary process**. New York: Oxford University Press, 2000. p. 41-57.

TIPPING, P. W.; RODRIGUEZ, J. G.; PONELEIT, C. G.; LEGG, D. E. Resistance of dent corn inbred lines to oviposition by the maize weevil. **Journal of the kansas entomological society**, Washington, v. 66, n. 1, p. 131-134, 1988.

VEIGA, A. F. S. L. **Suscetibilidade relativa de diversas raças de milho da América Latina, híbridos e variedades comerciais no Brasil ao *Sitophilus zeamais* e à traça *Sitotroga cerealella*, pragas de grãos armazenados, em condições de laboratório**. 154 p. 1969. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba. 1969.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica aplicada ao fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VENDRAMIM, J. D.; NISHIKAWA, M. A. N. Melhoramento para resistência a insetos. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. D.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento - plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. Cap. 24, p. 738-781.

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

WARNOCK, D. F.; DAVIS, D. W.; GINGERA, G. R. Inheritance of ear resistance to European corn borer in 'Apache' sweet corn. **Crop Science**, Madison, v. 38, p. 1451-1457, 1998.

WHEATLEY, P. E. Relative susceptibility of maize varieties. **Tropical Stored Products Information**, Slough, v. 30, p. 16-17, 1973.

WIDSTROM, N. W.; HANSON, W. D.; REDLINGER, L. M. Inheritance of Maize Weevil Resistance in Maize. **Crop Science**, Madison, v. 15, p. 467-470, 1975.

WIDSTROM; W, N.; REDLINGER, L. M.; WISER, W. J. Appraisal of methods for measuring corn kernel resistance to *Sitophilus zeamais*. **Journal of Economic Entomology**, Riverside, v. 65, p. 790-792, 1972.

WIDSTRON, N.; McMILLIAN, W.; WISEMAN, B. R. Improving effectiveness of measurements for seed resistance to maize weevil. **Journal of Economic Entomology**, Riverside, v. 71, p. 91-93, 1978.

WILSON, F. D.; GEORGE, B. W. Combining ability in cotton for resistance to pink bollworm. **Crop Science**, Madison, v. 19, p. 834-836, 1979.

WOLF, J. B.; LEAMYE, L. J. R. 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, J. B.; POMP, D.; EISEN, E. J.; CHEVERUD, J. M.; LEAMYE, L. J. The contribution of epistatic pleiotropy to the genetic architecture of covariation among polygenic traits mice. **Evolution & Development**, Malden, v. 8, n. 5, p. 468-476, 2006.

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

ANEXOS

Anexo A – Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variâncias, coeficientes de variação experimental (CV), médias das linhagens L-08-05F, L-38-05D e L-14-04B, média geral e diferença mínima significativa para os caracteres relacionados a resistência do *S. zeamais*

Fontes de Variação	GL	QM		
		TM (dias)	EM (n°)	IS
Linhagens	2	619,03*	2044,90**	5,24**
Erro	27	166,15	88,53	0,48
CV(%)		32,24	37,12	42,13
Média L08-05F:		31,20	9,00	1,29
Média L38-05D:		41,70	33,2	4,00
Média L14-04B:		46,60	7,90	1,34
Média Geral:		39,83	16,70	2,47
DMS:		14,29	10,43	0,77

*e** significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste de F, respectivamente. TM: tempo médio de desenvolvimento; EM: emergência média de insetos; IS: índice de suscetibilidade

Anexo B – Ambientes, nome dos locais, data de plantio e breve descrição dos ambientes utilizados para a avaliação dos experimentos

Ambientes	Local	Plantio	Irrigação	Características do solo e tipo de adubação
Ambiente 1	E. E. Caterpillar	28/11/2008	Ausente	Textura média, baixa fertilidade natural e adubação N-P ₂ O ₅ -K ₂ O.
Ambiente 2	E. E. Anhumas	17/11/2008	Presente	Textura arenosa, fertilidade natural moderada e adubação N-P ₂ O ₅ -K ₂ O.

Anexo C – Médias gerais ($\bar{x}$), intervalo de variação (IV)^a nos ambientes E. E. Anhumas, E. E. Caterpillar e na análise conjunta

Caráter	Parâmetro	Ambiente		
		E. E. Anhumas	E. E. Caterpillar	Conjunta
NM	$\bar{x}$	1,44	1,03	1,14
(n°)	IV	(0,00; 7,77)	(0,00; 6,53)	(0,00; 5,85)
EM	$\bar{x}$	28,45	32,78	28,34
(n°)	IV	(5,25; 53,57)	(6,62; 81,91)	(9,67; 54,59)
TM	$\bar{x}$	44,38	43,41	43,89
(dias)	IV	(41,47; 49,00)	(40,54; 47,35)	(42,15; 46,36)
IS	$\bar{x}$	6,83	7,64	7,25
	IV	(3,8; 9,05)	(4,34; 9,85)	(4,40; 9,14)
PE	$\bar{x}$	3,39	3,94	3,60
(%)	IV	(0,00; 11,07)	(0,78; 11,44)	(0,80; 7,64)

^a(Limite inferior; Limite superior); NM: número de insetos mortos após 10 dias de oviposição, EM: emergência média, TM: tempo médio necessário para emergência dos insetos, IS: índice de suscetibilidade; PE: perda percentual de massa seca dos grão; PG: Produção de grãos

Anexo D – Época de florescimento e estimativas das fases reprodutivas obtidas no ambiente Caterpillar

Fase	Plantio	Fases de Desenvolvimento Reprodutivo (R)					
		R1	R2	R3	R4	R5	R6
Data ¹	28/11/08	01/02/09	11/02/09	19/02/09	25/02/09	08/03/09	07/04/09

¹Datas de florescimento feminino estimadas de acordo com Ritchie, Hanway e Benson (2003). R1: florescimento; R2: grão leitoso; R3: grão pastoso; R4: grão farináceo; R5: grão farináceo-duro; R6: maturidade fisiológica

Anexo E – Dados climatológicos do ambiente E. E. Caterpillar ano de 2009, relacionado à fase reprodutiva do milho