

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

**Mapeamento de QTL em testecrosses de milho doce com diferentes  
testadores e ambientes**

**Vitor Hugo Barbosa Barbieri**

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

**Piracicaba  
2010**

**Vitor Hugo Barbosa Barbieri**  
**Engenheiro Agrônomo**

**Mapeamento de QTL em testecrosses de milho doce com diferentes  
testadores e ambientes**

**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**  
**2010**

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

Barbieri, Vitor Hugo Barbosa

Mapeamento de QTL em testecrosses de milho doce com diferentes testadores e ambientes / Vitor Hugo Barbosa Barbieri. - - Piracicaba, 2010.  
129 p. il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.

1. Mapeamento genético 2. Marcador molecular 3. Milho - Qualidade 4. Produtividade  
I. Título

CDD 633.15  
B236m

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

Aos meus pais José Clóvis e Alba Maria, ao meu amor Flavinha e ao meu querido filho Henrique que ainda não nasceu, mas já enche a minha vida de alegria.

**DEDICO**



## AGRADECIMENTOS

A Universidade de São Paulo por meio do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pelo suporte acadêmico;

A Syngenta Seeds pelo suporte financeiro e por me permitir realizar este trabalho;

Ao professor Dr. Cláudio Lopez de Souza Júnior, pela confiança, orientação e respeito;

Aos professores e funcionários do Departamento de Genética pela contribuição à minha formação.

Ao colega Luiz Savelli Gomes por ser o primeiro a me incentivar a ingressar no doutorado e ter transmitido meus primeiros conhecimentos sobre melhoramento de plantas;

Ao colega Dr. Jair Duarte por sempre ter me incentivado a cursar o doutorado em uma boa escola;

Ao colega Dr. Mateus Santos pelas excelentes discussões sobre genética e pela ajuda com a análise dos dados e correções da tese;

Ao pesquisador Doug Plaisted por ter criado condições para que eu pudesse fazer o doutorado trabalhando pela Syngenta Seeds;

Ao pesquisador Gabe Gusmine por ter me garantido tempo na Syngenta para que eu pudesse me dedicar à redação da tese;

Aos funcionários da Syngenta Seeds, Francisco Silva, Michael e Ramon pela ajuda na condução dos experimentos de campo e avaliações;

Aos colegas da pós-graduação e do laboratório de melhoramento de milho pelo apoio, amizade e conhecimentos compartilhados: Alexandre Morais; Diego Velazquez; Eder Santos; Emiliano Costa; Gustavo Moro; Manoel Gonçalves; Mateus Santos; Maria Santos; Pedro Belicuas; Pedro Mendoza; Roberto Neto; Ruben Díaz; Sanzio Barrios; Tassiano Câmara.

A Deus pelo dom da vida;

Aos meus pais, especialmente minha mãe pelo incentivo e amor incondicional;

A minha esposa Flavinha, companheira de todos os momentos, pelo apoio, amor, carinho, compreensão e por ser sempre a minha maior inspiração para seguir em frente.

Muito obrigado.



## SUMÁRIO

RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
Referências.....	19
2 MAPEAMENTO DE QTL PARA PRODUÇÃO DE GRÃOS E SEUS COMPONENTES EM TESTECROSSES DE MILHO DOCE.....	23
Resumo.....	23
Abstract.....	25
2.1 Introdução.....	27
2.2 Desenvolvimento.....	31
2.2.1 Material e Métodos.....	31
2.2.1.1 Material genético.....	31
2.2.1.2 Locais, delineamento e caracteres avaliados.....	32
2.2.1.3 Análises de variância e covariância.....	33
2.2.1.4 Genotipagem e mapa genético.....	34
2.2.1.5 Mapeamento de QTL.....	35
2.2.2 Resultados e Discussão.....	38
2.2.2.1 Mapeamento de QTL para produção de grãos.....	47
2.2.2.2 Mapeamento de QTL para os componentes de produção.....	52
2.2.2.3 Interação QTL x ambiente.....	63
2.2.2.4 Coincidência de QTL mapeados entre caracteres.....	64
2.2.2.5 Implicações para o melhoramento.....	67
Referências.....	73
3 MAPEAMENTO DE QTL PARA QUALIDADE DE GRÃOS EM TESTECROSSES DE MILHO DOCE.....	81
Resumo.....	81
Abstract.....	83
3.1 Introdução.....	85
3.2 Desenvolvimento.....	89



3.2.1 Material e Métodos.....	89
3.2.1.1 Material genético.....	89
3.2.1.2 Locais, delineamento e caracteres avaliados.....	90
3.2.1.3 Análises de variância e covariância.....	91
3.2.1.4 Genotipagem e mapa genético.....	92
3.2.1.5 Mapeamento de QTL.....	93
3.2.2 Resultados e Discussão.....	96
3.2.2.1 Mapeamento de QTL.....	103
3.2.2.2 Interação QTL x ambiente.....	114
3.2.2.3 Coincidência de QTL mapeados entre caracteres.....	115
3.2.2.4 Considerações finais.....	116
Referências.....	121
ANEXO.....	127

## RESUMO

### Mapeamento de QTL em testecrosses de milho doce com diferentes testadores e ambientes

Um dos principais desafios do melhoramento de milho doce é aumentar a eficiência da seleção para produtividade e qualidade dos grãos. Uma das formas de aumentar essa eficiência é a utilização de marcadores moleculares para auxiliar a seleção nos programas de melhoramento. Para isso, o estudo da herança por meio do mapeamento de QTL é uma ferramenta importante para o conhecimento da base genética dos caracteres e para gerar informações que possam ser utilizadas na seleção assistida por marcadores moleculares. O presente estudo teve como objetivo mapear QTL em testecrosses de milho doce para produção de grãos, seus componentes e caracteres de qualidade, e avaliar o efeito de diferentes testadores e ambientes no mapeamento de QTL. Para tanto, foi utilizada uma população obtida do cruzamento entre as linhagens B532 e B605 do mesmo grupo heterótico e contrastantes para diversos caracteres. Duzentas e cinquenta e seis progênies  $F_{4:5}$  foram genotipadas com marcadores moleculares SNP para a construção do mapa genético. Posteriormente, essas progênies foram cruzadas com os testadores A36 e A17 de um grupo heterótico distinto do grupo da população. Os testecrosses obtidos foram avaliados em dois ambientes, Uberlândia, MG, e Itatiba, SP, em látices simples 16 x 16. Os caracteres avaliados foram produção de grãos (PG), número de fileiras de grãos (NF), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), comprimento de grãos (CG), coloração de grãos (CL), maciez de grãos (MC) e doçura de grãos (DÇ). O método de mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes (mCIM) foi utilizado para mapear QTL e detectar a interação QTL x ambiente. Foram mapeados 116 QTL, sendo 21 para PG, 17 para NF, 22 para CE, 14 para DE, 12 para CG, 11 para CL, 11 para MC e 8 para DÇ. Com exceção de 2 QTL para NF que explicaram 12,19% e 10,03% e de 1 QTL para CE que explicou 10,48%, todos os outros explicaram menos de 10% da variância fenotípica. Considerando todos os caracteres, 91% dos QTL mapeados foram específicos para cada testador, evidenciando uma elevada interação QTL x testador. Dos 116 QTL mapeados apenas 22 apresentaram interação QTL x ambiente, indicando que houve baixa interação QTL x ambiente. Dessa forma, a maioria dos caracteres de importância econômica em milho doce foi controlada por muitos QTL de baixos efeitos na variação fenotípica, os quais apresentaram uma elevada interação QTL x testador e uma reduzida interação QTL x ambiente. O elevado número de QTL controlando os caracteres e a elevada interação QTL x testador mostram a complexidade da aplicação da seleção assistida no melhoramento de milho doce.

Palavras-chave: *Zea mays*; Mapeamento; Marcadores; Produção; Componentes; Qualidade; Sensorial



## ABSTRACT

### QTL mapping in sweet corn testcrosses with different testers and environments

One of the main challenges in sweet corn breeding is to improve the efficiency of selection for grain yield and quality traits. The use of molecular markers would be a way to increase the selection efficiency in breeding programs. QTL mapping is an important tool for understanding the genetic basis of the traits and to generate information that can be used in marker assisted selection. This study aimed to map QTL in sweet corn testcrosses for grain yield, its components and quality traits, and evaluate the effect of different testers and environments in QTL mapping. For this study a population was obtained by crossing lines B532 and B605, from the same heterotic group and contrasting for different traits. Two hundred and fifty-six  $F_{4:5}$  progenies were genotyped with SNP markers for the construction of the genetic map. Subsequently, these progenies were crossed with the testers A36 and A17 from a different heterotic group than the population. The obtained testcrosses were evaluated in two environments, Uberlândia, MG, e Itatiba, SP, in a simple lattice design 16 x 16. The traits evaluated were: grain yield (PG); number of rows (NF); ear length (CE); ear diameter (DE); kernel depth (CG), kernel color (CL); kernel tenderness (MC) and kernel sweetness (DÇ). The composite interval mapping extended to multiple environments (mCIM) was used to map QTL and to detect the QTL x environment interaction. One hundred and sixteen QTL were mapped; with 21 for PG, 17 for NF, 22 for CE, 14 for DE, 12 for CG, 11 for CL, 11 for MC and 8 for DÇ. With the exception of 2 QTL for NF which explained 12%, 19% and 10,03% and by 1 QTL for CE which explained 10,48%, all the others explained less than 10% of the phenotypic variance. Considering all of the traits, 91% of the mapped QTL were specific to each tester, indicating a high QTL x tester interaction. Out of the 116 QTL mapped, only 22 showed significant QTL x environment interaction, indicating that there was a small QTL x environment interaction. Thus, most traits of economic importance in sweet corn seem to be controlled by many QTL with small effects, which showed a large QTL x tester interaction and a small QTL x environment interaction. The large number of QTL controlling the traits and the large QTL x tester interactions demonstrate the complexity of the implementation of marker assisted selection in sweet corn breeding.

Keywords: *Zea mays*; Mapping; Markers; Yield; Components; Quality; Sensory



## 1 INTRODUÇÃO

O milho doce é uma cultura bastante popular em países de clima temperado, como Estados Unidos, Canadá, França, Hungria e Japão. Os Estados Unidos são os maiores produtores mundiais com cerca de 250 mil ha, sendo 150 mil para o mercado de processamento industrial e 100 mil para o mercado de consumo *in natura* (USDA, 2008). Em regiões de clima tropical, a cultura do milho doce é relativamente recente, mas tem crescido muito em alguns países asiáticos como Tailândia, China e Índia. O Brasil cultiva 36 mil hectares de milho doce, em que 100% da produção é utilizada para o processamento industrial. O consumo de milho doce *in natura* no Brasil é praticamente inexistente, principalmente devido à baixa disponibilidade de híbridos adaptados com alta qualidade de grãos e baixo conhecimento dos agricultores e consumidores sobre este tipo de milho. Cerca de 90% da área plantada de milho doce está localizada no estado de Goiás. Este estado oferece condições climáticas que propiciam o cultivo nos doze meses do ano, o que contribui para redução dos custos com a industrialização, pois exige fábricas menores quando comparadas à regiões de clima temperado, onde a produção e processamento são concentrados em poucos meses do ano.

No mercado de processamento industrial, a produtividade média do milho doce no Brasil é de 13 toneladas por hectare, o que é bastante inferior à obtida em regiões de clima temperado, com 18 toneladas por hectare (USDA, 2008). Além disso, a qualidade dos grãos do milho doce brasileiro é percebida pelos consumidores como inferior à do milho produzidos nos Estados Unidos e Europa. Dada estas condições, observa-se que o Brasil, além do mercado doméstico, que ainda não consome o milho doce *in natura*, possui um enorme potencial para produção de milho doce para a exportação de enlatados e congelados. Para isso, é fundamental que os programas de melhoramento genético desenvolvam híbridos adaptados as condições tropicais, cada vez mais produtivos e com melhor qualidade de grãos.

O milho doce é um tipo de milho desenvolvido especificamente para o consumo humano. Por ser colhido com alto teor de umidade nos grãos e ser destinado ao consumo humano, ele é classificado como uma hortaliça (KAUKIS, DAVIS, 1986). A principal característica que diferencia o milho doce de outros tipos de milho é a

presença de genes mutantes que aumentam o teor de açúcar no endosperma. É grande o número de genes que afetam a síntese de carboidratos já descritos na literatura (COE, et al., 1988) e vários deles foram estudados para serem utilizados em milho doce (BOYER, SHANNON, 1984). No entanto, apenas oito já foram empregados em híbridos comerciais (TRACY, 2001). Atualmente, todos os híbridos comerciais cultivados no Brasil para o processamento industrial possuem o gene *shrunken2* (*sh2*), que confere o maior teor de açúcares e período útil de colheita, quando comparado a outros genes utilizados em milho doce (LAUGHNAN, 1953; CHURCHILL, et al., 1984).

A qualidade de grãos em milho doce é um dos principais objetivos dos programas de melhoramento, visando atender a demanda dos consumidores tanto no mercado para processamento industrial (enlatados e congelados) quanto no de consumo *in natura*. Esta qualidade é função do sabor e da aparência dos grãos. O sabor dos grãos em milho doce é um caráter complexo que pode ser decomposto em três outros caracteres, textura, doçura e aroma (TRACY, 2001). Dentre os caracteres de aparência dos grãos, a cor possui grande importância, pois o consumidor de frutas e hortaliças avalia primeiramente a cor e posteriormente o sabor (KADER, 2002). Estes caracteres por serem mensurados por meio dos sentidos humanos são classificados como sensoriais. Por exemplo, a coloração dos grãos é avaliada pela visão, já a textura e a doçura pelo paladar. Este tipo de avaliação é bastante difícil de ser realizada nos programas de melhoramento, pois exige provador treinado e número pequeno de amostras. Além disso, a natureza perecível dos grãos limita o intervalo de tempo em que os genótipos estão aptos a serem avaliados, o que normalmente varia de 4 a 7 dias (CREECH, 1968; KAUKIS, DAVIS, 1986). Portanto, estes fatores contribuem para limitar o número de genótipos possíveis de serem avaliados por ciclo de melhoramento e, conseqüentemente, limita o melhoramento desses caracteres nos programas de desenvolvimento de cultivares.

A produção de grãos em milho doce diferencia-se do milho comum, pois os grãos são comercializados com alta umidade. Assim, o peso de grãos contém, em maior parte, água e, em menor parte, matéria seca. À medida que os grãos de milho doce se desenvolvem ocorre um aumento gradativo do teor de matéria seca e redução do teor de água até um ponto que o ganho de matéria seca e perda de umidade passam a

ocorrer lentamente. Este período é conhecido como período útil de colheita e se estende, aproximadamente, por 4 a 7 dias, podendo variar com o genótipo (CREECH, 1968; KAUKIS, DAVIS, 1986). A partir deste momento a perda de umidade é drástica, com perda de turgência dos grãos, deixando-os impróprios para o consumo. Esta particularidade em milho doce faz com que o tempo para avaliação dos genótipos seja limitado, reduzindo o número de híbridos possíveis de serem avaliados por experimento. Além disso, pelo fato de serem colhidas com alta umidade, as espigas de milho doce são desgranadas ou invés de debulhadas. Em nível industrial, este processo é realizado por equipamentos automáticos que exigem uniformidade no diâmetro da espiga, o que, praticamente, inviabiliza a sua utilização em experimento de melhoramento devido à grande variabilidade no diâmetro das espigas entre os diferentes genótipos. Deste modo, a avaliação da produção de grãos em milho doce tem sido restringida às fases finais dos programas de melhoramento, quando o número de genótipos é reduzido. Uma alternativa para se contornar este problema é o uso dos componentes de produção na seleção indireta. Os caracteres número de fileiras de grãos, comprimento e diâmetro de espiga e comprimento de grãos são caracteres descritos na literatura como importantes componentes de produção de grãos em milho (JUGENHEIMER, 1976), possuem herança genética menos complexa, com menor número de genes controlando o caráter, menor influência ambiental, maior coeficiente de herdabilidade, além de serem de fácil avaliação (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988).

Com o advento dos marcadores moleculares, na década de 80, surgiu a possibilidade de obter mapas genéticos saturados e, por conseguinte, a sua utilização no mapeamento de QTL. Segundo Falconer e Mackay (1996), QTL (Quantitative Trait Loci) são segmentos de cromossomos que afetam um determinado caráter. Para a localização desses QTL, bem como para a obtenção de estimativas de seus efeitos e interações com ambiente e com outros QTL, são empregados procedimentos estatísticos com auxílio das informações fornecidas pelos mapas genéticos. Deste modo, estudos de mapeamento de QTL podem ser realizados visando um melhor entendimento da arquitetura genética da produção de grãos de milho doce e seus componentes, com possível aplicação destas informações em programas de seleção



assistida por marcadores moleculares (SAM). Diversas metodologias de mapeamento de QTL têm sido desenvolvidas com um contínuo avanço na precisão e número de informações obtidas. O mapeamento por intervalo composto – CIM (JANSEN; STAM, 1994; ZENG, 1993, 1994) é um dos métodos mais utilizados, principalmente por propiciar o controle dos efeitos de QTL situados fora do intervalo que está sendo mapeado. Por meio do mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes (mCIM) (JIANG; ZENG, 1995), é possível detectar a presença da interação QTL x ambiente para cada um dos QTL mapeados. Utilizando esta metodologia, vários autores reportaram presença e ausência de interações QTL x ambiente significativas (ZHU; KAEPLER; LYNCH, 2005; LIMA et al., 2006; RIBAUT et al., 2007). Avanços recentes das tecnologias de genotipagem de DNA em larga escala, acompanhados por reduções significativas dos custos, permitiram que as empresas de melhoramento de sementes intensificassem os trabalhos de mapeamento de QTL com intuito de utilizar essas informações em programas de SAM.

O objetivo do melhoramento de milho é o desenvolvimento de híbridos por meio da seleção de linhagens quanto à sua capacidade de combinação com linhagens elite, também chamadas “testadores”. QTL mapeados diretamente em populações  $F_2$ , retrocruzamentos ou linhagens recombinantes, apresentam pouca congruência com aqueles mapeados em cruzamentos com testadores (AUSTIN et al., 2001; MIHALJEVIC et al., 2005). Desta forma, a estratégia de mapear QTL em populações cruzadas com testadores é a melhor opção para programas de melhoramento que visam a obtenção de híbridos, pois permite utilizar diretamente as informações do mapeamento de QTL nos programas de melhoramento. Estudos de mapeamento utilizando testecrosses têm reportado tanto a ocorrência da interação QTL x testador quanto a ausência de interação entre dois ou mais grupos de testecrosses com testadores diferentes (LÜBBERSTEDT et al., 1997; AJMONE-MARSAN et al., 2001; SANTOS, 2008).

Estudos de mapeamento de QTL específicos com a cultura do milho doce são escassos. No caso da produção de grãos e seus componentes não foi localizado nenhum estudo de mapeamento de QTL, nem com germoplasma temperado nem com tropical. Para os caracteres de qualidade, foi encontrado apenas um trabalho com milho doce temperado desenvolvido por Azanza et al. (1996). Entretanto, alguns estudos de

mapeamento de QTL com caracteres correlacionados aos caracteres de qualidade foram publicados, tais como, mapeamento para teor de carotenóides (WONG et al., 2004; CHANDER et al., 2008), que é correlacionado com a coloração do grão; mapeamento para a espessura do pericarpo (WANG, BREWBAKER, 2001), que é correlacionado com a maciez; e mapeamento para o teor de sacarose (TADMOR et al., 1995; JUVIK et al., 2003) que é correlacionado com a doçura. Portanto, devido à importância do estudo destes caracteres para o melhoramento de milho doce e considerando o pequeno número de trabalhos publicados com germoplasma temperado e a inexistência de estudos com milho doce tropical, os objetivos do presente estudo foram mapear QTL em testecrosses de milho doce para produção de grãos, seus componentes e caracteres de qualidade e avaliar o efeito do testador e do ambiente na detecção, localização e efeitos dos QTL mapeados.



## Referências

- AJMONE-MARSAN, P.; GORNI, C.; CHITTÒ, A.; REDAELLI, R.; van VIJK, R.; STAM, P.; MOTTO, M. Identification of QTLs for grain yield and grain-related traits of maize (*Zea mays* L.) using an AFLP map, different testers, and cofactor analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 103, n.2-3, p. 230-243, 2001.
- AUSTIN, D.F., LEE, M.; VELDBOOM, L.R. Genetic mapping in maize hybrid progeny across testers and generations: plant height and flowering. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 102, n.1, p. 163-176, 2001.
- AZANZA, F.; TADMOR, Y.; KLEIN, B.P.; ROCHEFORD, T.R.; JUVICK, J.A. Quantitative trait loci influencing chemical and sensory characteristics of eating quality in sweet corn. **Genome**, Canada, v. 39, p. 40-50, 1996.
- BOYER, C. D.; SHANNON, J. C. The use of endosperm genes for sweet corn improvement. **Plant Breeding Review**, Connecticut, v. 1, p. 139, 1984.
- CHANDER, S.; GUO, Y. Q.; YANG, X. H.; ZHANG, J.; LU, X. Q.; YAN, J. B.; SONG, T. M.; ROCHEFORD, T. R.; LI, J. S. Using molecular markers to identify two major loci controlling carotenoid contents in maize grain. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 116, p. 223-233, 2008.
- CHURCHILL, G. A.; ANDREW, R. H. Effects of two maize endosperm mutants on kernel maturity, carbohydrates, and germination. **Crop Science**, Madison, v. 24, p. 76, 1984.
- COE, E. H.; NEUFFER, M. G.; HOISINGTON, D. A. The genetics of corn. In: SPRAGUE, G. F.; DUDLEY, J. W. (Ed.) **Corn and corn improvement**. 3<sup>rd</sup> ed., Madison: Iowa State University Press. 1988. p. 81-258.
- CREECH, R. G. Carbohydrate synthesis in maize. **Advances in Agronomy**, New York, v. 20, p. 275, 1968.
- FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to Quantitative Genetics**. 4<sup>th</sup> ed. London: Longman Scientific e Technical, 1996. 464 p.
- HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.
- JANSEN, R.C.; STAM, P. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. **Genetics**, Austin, v. 136, p. 1447-1455, 1994.
- JIANG, C.; ZENG, Z.B. Multiple trait analysis of genetic mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v. 140, p. 1111-1127, 1995.

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

JUVIK, J. A.; YOUSEF, G. G.; HAN, T. QTL influencing kernel chemical composition and seedling stand establishment in sweet corn with the *shrunken2* and *sugary enhancer1* endosperm mutations. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Stanford, v. 126, n.6, p. 864-875, 2003.

KADER, A. A. **Postharvest Technology of Horticultural Crops**. (3ed). University of California: Division of Agriculture and Natural Resources, 2002. 535 p.

KAUKIS, K.; DAVIS, D.W. Sweet corn breeding. In: BASSETT, M.J. **Breeding vegetable crops**. Connecticut: The Avi Publishing Company, 1986. p. 477-512.

LAUGHNAN, J. R. The effect of *sh2* factor on carbohydrate reserves in the mature endosperm of maize. **Genetics**, Baltimore, v. 38, p. 485, 1953.

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

LÜBBERSTEDT, T.; MELCHINGER, A.E.; SHCÖN, C.C.; UTZ, F.; KLEIN, D. QTL Mapping in testcrosses of European flint lines of maize: I. comparison of different testers for yield traits. **Crop Science**, Madison, v. 37, n.3, p. 921-931, 1997.

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

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

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

TADMOR, Y.; AZANZA, F.; HAN, T.; ROCHEFORD, T. R.; JUVIK, J. A. RFLP mapping of the *sugary enhancer1* gene in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 91, p. 489-494, 1995.

TRACY, W.F. Sweet corn. In: HALLAUER, A.R. **Specialty corn**. Boca Raton: CRC Press, 2001. p. 155-198.

USDA. National Agricultural Statistics Service. **Vegetables 2008 Summary**. Washington, 2009. Disponível em: <<http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/Vege/Vege-10-02-2009.pdf>>. Acesso em 15 dez. 2009.

WANG, B.; BREWBAKER, J. L. Quantitative trait loci affecting pericarp thickness of corn kernels. **Maydica**, Bergamo, v. 46, p. 159-165, 2001.

WONG, J. C.; LAMBERT, R. J.; WURTZEL, E. T.; ROCHEFORD, T. R. QTL and candidate gene phytoene synthase and  $\zeta$ -carotene desaturase associated with the accumulation of carotenoids in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 108, p. 349-359, 2004.

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

ZENG, Z.B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Baltimore, v. 136, p. 1457-1466, 1994.

ZHU, J.; KAEPLER, S.M.; LYNCH, J.P. Mapping of QTLs for lateral root branching and length in maize (*Zea mays* L.) under differential phosphorus supply. **Theoretical and Applied genetics**, Berlin, v. 111, n. 4, p. 688-695, 2005.



## 2 MAPEAMENTO DE QTL PARA PRODUÇÃO DE GRÃOS E SEUS COMPONENTES EM TESTECROSSES DE MILHO DOCE

### Resumo

A produção de grãos é o principal caráter do milho doce para processamento industrial. A seleção deste caráter em programas de melhoramento é complexa e pouco eficiente. Uma das formas de aumentar essa eficiência é por meio da seleção indireta de caracteres correlacionados de menor complexidade e ou utilizando a seleção assistida por marcadores moleculares. O presente estudo teve como objetivo mapear QTL em testecrosses de milho doce para produção de grãos e seus componentes. Além disso, avaliar o efeito de testadores e de ambientes no mapeamento de QTL. Para tanto, foi utilizada uma população obtida do cruzamento entre duas linhagens do mesmo grupo heterótico e contrastantes para diversos caracteres, B532 e B605. Duzentas e cinquenta e seis progênies  $F_{4:5}$  foram genotipadas com marcadores moleculares SNP para construção do mapa genético e cruzadas com dois testadores, A36 e A17, de grupo heterótico distinto do grupo da população. Os testecrosses obtidos foram avaliados em dois ambientes, Uberlândia, MG e Itatiba, SP, em delineamento látice simples 16x16. Os caracteres avaliados foram produtividade de grãos (PG), número de fileiras de grãos (NF), comprimento de espiga (CE) diâmetro de espiga (DE) e comprimento de grãos (CG). O método de mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes (mCIM) foi utilizado para mapear QTL e detectar a interação QTL x ambiente. Foram mapeados 86 QTL, sendo 21 para PG, 17 para NF, 22 para CE, 14 para DE e 12 para CG. Os QTL mapeados explicaram pouco da variância fenotípica dos caracteres. Com exceção de 2 QTL para NF que explicaram 12,19% e 10,03% e de 1 QTL para CE que explicou 10,48%, todos os outros explicaram menos de 10% da variância fenotípica. Considerando todos os caracteres, 90% foram específicos para cada testador, evidenciando uma elevada interação QTL x testador. Dos 86 QTL mapeados, 13 apresentaram interação QTL x ambiente, indicando que houve baixa interação QTL x ambiente. Os componentes de produção apresentaram interação QTL x ambiente em 12% dos QTL mapeados, contra 23% dos QTL para PG. Portanto, o elevado número de QTL controlando os caracteres, o pequeno efeito de cada QTL, a elevada interação QTL x testador e a baixa interação QTL x ambiente devem ser considerados na estratégia adotada para utilização destes QTL em programas de seleção assistida por marcadores.

Palavras-chave: *Zea mays*; Mapeamento; Marcadores moleculares; Pleiotropia





## QTL MAPPING FOR GRAIN YIELD AND ITS COMPONENTS IN TESTECROSSES OF SWEET CORN

### Abstract

Grain yield is the main trait in the sweet corn processing industry. Selection of this trait in breeding programs is complex and inefficient. One way to increase this efficiency is through indirect selection using less complex correlated phenotypic traits and or using marker assisted selection. The goal of this study was to map QTL in sweet corn testcrosses for grain yield and its components. Moreover, evaluate the effect of testers and environments in the QTL mapping. A population was obtained crossing lines B532 and B605, which belong to the same heterotic group and divergent for different traits. Two hundred and fifty-six  $F_{4:5}$  progenies were genotyped with SNP markers in order to construct a genetic map and crossed with the testers A36 and A17 from a different heterotic group of the population. The obtained testcrosses were evaluated in two environments, Uberlândia, MG, e Itatiba, SP, in a simple lattice design 16 x 16. The traits evaluated were: grain yield (PG); number of rows (NF); ear length (CE); ear diameter (DE) and kernel depth (CG). Composite interval mapping extended to multiple environments (mCIM) was used to map QTL and to detect the interaction QTL x environment interaction. Eighty-six QTL were mapped, including 21 for PG, 17 for NF, 22 for CE, 14 for DE and 12 for CG. The mapped QTL explained little of the phenotypic variance of the traits. Except for 2 QTL for NF which explained 12,19% and 10,03% of the variation and by 1 QTL for CE which explained 10,48%, all the others explained less than 10% of phenotypic variance. Considering all the traits, 90% of the identified QTL were tester specific, indicating a high QTL x tester interaction. Of the 86 QTL mapped, 13 had QTL x environment interaction, indicating that there was a low QTL x environment interaction. QTL x environment interaction was significant for 12% of the QTL mapped for yields components and for 23% of the QTL for PG. Therefore, a large number of QTL controlling the traits, the small effect of each QTL, the high QTL x tester interaction and low QTL x environment interaction should be considered in the strategy adopted to use these QTL in an marker assisted selection programs.

Keywords: *Zea mays*; Mapping; Molecular markers; Pleiotropy



## 2.1 Introdução

O aumento da produção de grãos em milho doce é um dos principais objetivos dos programas de melhoramento visando o mercado para processamento industrial. Nesse segmento, o milho doce é considerado matéria prima para industrialização de enlatados e de congelados. Assim, uma das maneiras de reduzir os custos com a matéria prima é o cultivo de híbridos mais produtivos.

A produção de grãos possui herança quantitativa, ou seja, é controlada por muitos genes cada qual com pequeno efeito na expressão do fenótipo, apresenta alta influência ambiental e por isso baixa herdabilidade (COMSTOCK, 1978; FALCONER; MACKAY 1996). Outro fator que aumenta a complexidade desse caráter em milho doce é a dificuldade de mensurá-lo. Por ser consumido *in natura*, o milho doce é colhido com alto teor de umidade nos grãos (>70%), assim, a sua produtividade é fortemente influenciada pelo estágio fisiológico de maturidade dos grãos (KAUKIS et al., 1986), em que o ponto ideal de colheita para obtenção da maior produção ocorre quando os grãos atingem o ponto máximo de acúmulo de matéria seca e teor de água. Desta forma, para mensurar precisamente a produção de grãos em milho doce, é necessária a determinação do ponto ideal de colheita de cada genótipo, inviabilizando a avaliação de experimentos com grande número de genótipos, comum nas fases iniciais dos programas de melhoramento. Além disso, ao contrário do milho comum, no milho doce as espigas são desgranadas ao invés de debulhadas, pois como citado anteriormente sua colheita é realizada com alto teor de umidade nos grãos. Este processo em nível industrial é realizado por equipamentos - desgranadeiras - que possuem facas verticais que cortam os grãos rente ao sabugo. A regulação automática destas facas suporta apenas pequenas variações nos diâmetros das espigas, ou seja, em experimentos de melhoramento em que são testados um grande número de genótipos com diferentes diâmetros de espigas, o uso da desgranadeira demandaria regulação manual para cada genótipo, inviabilizando assim a utilização deste equipamento.

Em função da complexidade genética somada à dificuldade de mensurar precisamente o peso de grãos em milho doce, a seleção eficiente deste caráter tem se limitado às fases finais dos programas de melhoramento, quando o número de genótipos é reduzido. Nos primeiros anos de avaliação os melhoristas selecionam

genótipos superiores para os caracteres de qualidade e apenas inferem sobre o potencial produtivo, atribuindo notas visuais para cada genótipo, o que naturalmente são imprecisas. Logo, uma alternativa para aumentar a eficiência da seleção para produção de grãos nas fases iniciais dos programas de melhoramento seria a seleção indireta deste caráter utilizando seus componentes de produção.

Os caracteres número de fileira de grãos, comprimento e diâmetro de espiga e comprimento de grãos são considerados componentes de produção em milho por apresentarem correlação genética significativa com a produção de grãos (JUGENHEIMER, 1976). Uma das aplicações práticas do conhecimento da associação entre caracteres é a seleção indireta para um caráter X com a seleção praticada no caráter Y, sendo possível estimar as magnitudes das respostas à seleção em um caráter com a seleção praticada em outro (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992). Além de serem de mais fácil avaliação, estes caracteres possuem herança genética menos complexa, com menor número de genes controlando o caráter, menor influência ambiental e, conseqüentemente, maior coeficiente de herdabilidade (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988). Apesar de estudos de melhoramento específicos para produção de grãos na cultura do milho doce ser escassos, vários trabalhos com milho comum têm demonstrado ganhos de produtividade de grãos através da seleção praticada em seus componentes de produção (HALLAUER; SEARS, 1969; COORS; MARDONES, 1989; HOLTHAUS; LAMKEY, 1995; BENTO; RAMALHO; SOUZA, 2003). Portanto, a seleção indireta nos componentes de produção visando obter respostas à seleção para produção de grãos, pode ser uma alternativa importante para aumentar a eficiência nos programas de melhoramento de milho doce.

Os recentes avanços das tecnologias de genotipagem de DNA em larga escala, acompanhados por reduções substanciais de custos, tem permitido a incorporação do mapeamento de QTL como uma ferramenta nos programas de melhoramento de milho. O mapeamento de QTL consiste na estimativa do número, posição no genoma, efeitos genéticos, interações QTL x ambientes e epistáticas (QTL x QTL) dos locos que controlam os caracteres quantitativos (DOERGE, 2002). As informações geradas pelo mapeamento podem ser utilizadas tanto para aumentar o conhecimento sobre a herança genética dos caracteres, quanto para identificar marcadores moleculares que

possam ser utilizados em programas de seleção assistida por marcadores moleculares (SAM). Trabalhos recentes têm reportado o sucesso na utilização da SAM em programas de melhoramento de milho de empresas privadas (JOHNSON, 2004; EATHINGTON et al, 2007). Embora vários trabalhos sobre mapeamento de QTL para produção de grãos e seus componentes em milho tropical estejam disponíveis na literatura, nenhum estudo de mapeamento com estes caracteres foi encontrado em milho doce. Portanto, devido à necessidade de se aumentar a eficiência dos programas de melhoramento para produção de grãos e dado a escassez de estudos específicos para produção de grãos e seus componentes na cultura do milho doce, o presente trabalho teve como objetivos (i) mapear QTL em testecrosses de milho doce para produção de grãos e seus componentes de produção e (ii) avaliar o efeito do testador e do ambiente na detecção, localização e efeitos dos QTL mapeados.



## **2.2 Desenvolvimento**

### **2.2.1 Material e Métodos**

#### **2.2.1.1 Material genético**

A população utilizada neste estudo foi obtida do cruzamento entre duas linhagens, B605 e B532, do mesmo grupo heterótico e contrastantes para vários caracteres agrônômicos e sensoriais. Essas linhagens são genótipos elite desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético da empresa Syngenta Seeds. No primeiro semestre de 2006, 256 plantas da população  $F_2$  foram amostradas e autofecundadas até a geração  $F_5$ , pelo método de descendência de uma única semente (single seed descend), dando origem as 256 progênies  $F_{4:5}$ .

As linhagens A36 e A17 pertencentes ao programa de melhoramento da Syngenta Seeds foram utilizadas como testadores. Ambas são de origem tropical, pertencentes ao mesmo grupo heterótico, mas distintos do grupo heterótico da população. Essas linhagens são consideradas elites por apresentarem alta capacidade de combinação e diversos caracteres favoráveis. O testador A36, quando comparado ao A17, apresenta menor comprimento e diâmetro de espiga e maior número de fileiras e comprimento de grãos.

No primeiro semestre de 2008, as 256 progênies  $F_{4:5}$  foram cruzadas com os testadores A36 e A17 dando origem a 256 testecrosses com cada testador. Os cruzamentos foram realizados em lotes isolados de despendoamento utilizando as progênies  $F_{4:5}$  como fêmeas e as linhagens testadoras como machos. Em cada lote isolado, foram semeadas duas linhas de 4 metros com 25 sementes de cada progênie, sendo utilizada a proporção de 4 linhas de fêmeas para 3 linhas de macho. Para que houvesse coincidência entre florescimentos, as linhas de macho foram semeadas em três épocas, 4 dias antes, no dia e quatro dias depois da semeadura das linhas de fêmeas. Na época do florescimento, foram despendoadas todas as plantas fêmeas, tendo-se, portanto, a linhagem testadora como única doadora de pólen. As sementes



de cada parcela foram colhidas separadamente e identificadas para montagem dos experimentos.

### **2.2.1.2 Locais, delineamento e caracteres avaliados**

No ano agrícola de 2008, os experimentos foram conduzidos nas estações experimentais da empresa Syngenta Seeds, no município de Uberlândia, Minas Gerais, situada a latitude de 18° 91' 86" Sul e altitude de 925 m e, no município de Itatiba, São Paulo, situada a latitude 23° 01' 15" e altitude de 755 m. Os 512 testecrosses foram avaliados em dois experimentos no delineamento látice 16 x 16, com duas repetições por ambiente. Cada experimento foi constituído de 128 testecrosses oriundos do testador A36 e 128 do testador A17, totalizando 256 testecrosses. As parcelas foram formadas por uma linha de 5 m com espaçamento de 0,60 m entre linhas. Foram semeadas 25 sementes por parcela e após 30 dias realizado o desbaste deixando 15 plantas por parcela (50.000 plantas ha<sup>-1</sup>). Os caracteres avaliados foram florescimento feminino (FF), dado pelo número de dias do plantio até que 50% das plantas da parcela apresentassem estilo-estigma; número de plantas por parcela (NP); produtividade de grãos (PG) em kg ha<sup>-1</sup>; umidade de grãos (UG) em %; número de fileiras de grãos (NF); comprimento (CE) e diâmetro de espiga (DE), em mm; e comprimento de grãos (CG) em mm. A data de colheita de cada parcela foi determinada somando-se 30 dias a partir da data do florescimento feminino. Para avaliação de cada parcela foi utilizada uma amostra de 10 espigas, iniciando-se a colheita pela segunda planta da fileira e prosseguindo sem seleção. Em função dos testecrosses apresentarem diferenças quanto ao ponto ideal de colheita, o caráter UG foi utilizado como covariável nas análises de variância individual do caráter produção de grãos, com intuito de corrigir estas diferenças. O NP foi utilizado como covariável nas análises de variância dos caracteres PG, CE, DE e CG, afim de corrigir as diferenças de estande.

### 2.2.1.3 Análises de variância e covariância

Foram realizadas análises de variância individuais para cada experimento em cada ambiente. Posteriormente, foram feitas as análises conjuntas utilizando as médias ajustadas e os quadrados médios dos erros efetivos de cada experimento. Para isso, considerou-se um modelo misto, com efeito de ambiente fixo e os efeitos de testecrosses e interações testecrosses x ambientes como aleatórios. Para obtenção da análise de variância conjunta agrupada, os graus de liberdade e as somas de quadrados oriundos das análises conjuntas de cada experimento foram somados. As fontes de variação testecrosses e testecrosses x ambiente foram decompostas em testecrosses formados com a linhagem testadora A36 (T1) e testecrosses formados com a linhagem A17 (T2) em cada ambiente. Os seguintes parâmetros genéticos dos testecrosses foram estimados para cada caráter nos testecrosses de cada testador com base nas esperanças matemáticas dos quadrados médios da análise de variância conjunta agrupada, de acordo com os procedimentos sugeridos por Searle et al. (1992), como:  $\hat{\sigma}_G^2 = (QM_T - QM_{T \times A})/RA$ , em que  $\hat{\sigma}_G^2$  é a variância genética de testecrosses,  $QM_T$  é o quadrado médio da fonte de variância testecrosses,  $QM_{T \times A}$  é o quadrado médio da fonte de variação da interação testecrosses x ambientes,  $R$  é o número de repetições, e  $A$  é o número de ambientes;  $\hat{\sigma}_F^2 = (QM_T)/RA$ , em que  $\hat{\sigma}_F^2$  é a variância fenotípica com base em médias de testecrosses;  $\hat{\sigma}_{G \times A}^2 = (QM_{T \times A} - QM_E)/R$ , em que  $\hat{\sigma}_{G \times A}^2$  é a variância da interação testecrosses x ambiente,  $QM_E$  é o quadrado médio do resíduo;  $\hat{h}_x^2 = \hat{\sigma}_G^2 / \hat{\sigma}_F^2$ , em que  $\hat{h}_x^2$  é o coeficiente de herdabilidade com base em médias de testecrosses. As estimativas das respostas à seleção com base em médias de testecrosses ( $\hat{R}_s$ ) foram estimadas para cada testador de acordo com os procedimentos sugeridos por Vencovsky; Barriga (1992), como:  $\hat{R}_s = i(\hat{\sigma}_G^2)/\hat{\sigma}_F$ , em que  $i$  é o coeficiente de seleção standardizado, sendo utilizada intensidade de seleção de 10% ( $i = 1,76$ ) e  $\hat{\sigma}_F$  o desvio padrão fenotípico. Os intervalos de confiança dos componentes de variância foram calculados a 0,95 de probabilidade, seguindo os procedimentos descritos por Burdick e Graybill (1992). Para as estimativas dos coeficientes de herdabilidade com base em médias foi calculado o intervalo de

confiança a 0,95 de probabilidade, como proposto por Knapp; Stroup; Ross (1985). Os intervalos de confiança foram utilizados para a comparação das estimativas dos componentes da variância, sendo que as estimativas obtidas para os dois grupos de testecrosses foram consideradas diferentes ( $P \leq 0,05$ ), quando no intervalo de confiança de uma estimativa não contivesse o valor estimado da outra.

Foram estimadas correlações genéticas e fenotípicas entre os pares de caracteres para cada testador e entre os dois grupos de testecrosses para cada caráter. As análises de covariância conjuntas foram utilizadas para estimar as correlações seguindo os procedimentos sugeridos por Vencovsky; Barriga (1992). A covariância genética ( $\hat{Cov}_{G(xy)}$ ) e fenotípica ( $\hat{Cov}_{\bar{F}(xy)}$ ) entre os caracteres foram estimadas da análise de covariância conjunta seguindo o mesmo procedimento usado para estimar suas respectivas variâncias. As correlações genotípicas e fenotípicas entre os caracteres x e y foram estimadas como  $\hat{r}_{G(xy)} = \hat{Cov}_{G(xy)} / \hat{\sigma}_{Gx} \hat{\sigma}_{Gy}$  e  $\hat{r}_{\bar{F}(xy)} = \hat{Cov}_{\bar{F}(xy)} / \hat{\sigma}_{\bar{F}x} \hat{\sigma}_{\bar{F}y}$ , respectivamente, em que  $\hat{\sigma}_G$  e  $\hat{\sigma}_{\bar{F}}$  são a raiz quadrada das estimativas da variância genética e fenotípica, respectivamente. As estimativas das respostas correlacionadas à seleção com base em médias de testecrosses entre os caracteres x e y ( $\hat{R}_{c_{yx}}$ ) foram estimadas para cada testador de acordo com os procedimentos sugeridos por Vencovsky; Barriga (1992), como:  $\hat{R}_{c_{yx}} = i_x (\hat{Cov}_{G(xy)}) / \hat{\sigma}_{\bar{F}(x)}$ , em que i é o coeficiente de seleção estandardizado, sendo utilizada intensidade de seleção de 10% ( $i = 1,76$ ). As significâncias das correlações genéticas foram computadas segundo a metodologia descrita por Falconer & Mackay (1996) e a das correlações fenotípicas segundo Steel e Torrie (1980).

#### 2.2.1.4 Genotipagem e mapa genético

Para a extração do DNA, foram coletadas amostras de folhas de 10 plantas de cada uma das 256 progênies  $F_{4:5}$ . As folhas foram acondicionadas em blocos plásticos de 96 poços e encaminhadas ao laboratório de biologia molecular da Syngenta Seeds. Posteriormente, realizou-se a liofilização e moagem das amostras, as quais foram armazenadas à temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ . A extração de DNA foi realizada segundo o

protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983). O tipo de marcador molecular utilizado foi o SNP (single nucleotide polymorphism) obtidos de dados de sequenciamento genético presentes na literatura e validados internamente no germoplasma da Syngenta. A amplificação do DNA foi realizada em equipamento de PCR de tempo real, modelo ABI7900 com sistema de detecção TaqMan® (LIVAK, 1999). Para obtenção do mapa genético foram avaliados 624 marcadores quanto à qualidade de amplificação e ao polimorfismo entre os parentais da população. Na construção do mapa foram utilizados 182 marcadores que apresentaram segregação esperada para linhagens recombinantes  $F_{4:5}$ , segundo o teste da distorção mendeliana que corresponde ao teste de qui-quadrado para os desvios da segregação. Os testes foram realizados empregando-se um nível de significância ( $\alpha$ ) conjunto de 5% de probabilidade, a partir do qual foi obtido o nível de significância individual para o teste de cada marcador, seguindo os procedimentos sugeridos por Bonferroni (PROVINCE, 2001). O mapa foi elaborado utilizando-se o programa *QTL Cartographer*, módulo *Emap* (BASTEN et al., 2001). Para formação dos grupos de ligação foi estabelecido um LOD igual a 3 e distância máxima entre os locos igual a 50 cM. Os 182 marcadores SNP distribuíram-se em 10 grupos de ligação referentes aos 10 cromossomos do milho, sendo a fração de recombinação entre eles transformada em distância genética (cM) pela função de KOSAMBI (1944). O mapa possui 1.366 cM de extensão e distância média entre marcadores de 8 cM (Anexo A).

#### **2.2.1.5 Mapeamento de QTL**

O mapeamento de QTL foi realizado para os testecrosses oriundos do testador A36 e A17 e para cada caráter, separadamente. Para isso, foi utilizado o software *QTL Cartographer*, módulo *JZmapqtl* (BASTEN et al., 2001). O método de mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes (mCIM), proposto por Jiang e Zeng (1995), foi utilizado para o mapeamento de QTL e para testar a significância da interação QTL x ambiente. O mapa genético da população  $F_{4:5}$  e as médias ajustadas por quadrados mínimos dos testecrosses avaliados nos 2 ambientes foram consideradas na análise de mapeamento. O modelo matemático adotado foi:

$Y_{jk} = b_{0k} + a_k^* x_j^* + \sum_l^t (a_{lk} x_{jl}) + e_{jk}$ , em que  $Y_{jk}$  é a média fenotípica do  $j$  ésimo testecross no  $k$  ésimo ambiente ( $j = 1, \dots, 256, k = 1, \dots, 2$ );  $b_{0k}$  é o efeito médio do modelo no ambiente  $k$ ;  $a_k^*$  é o efeito aditivo do QTL no ambiente  $k$ ;  $x_j^*$  é a variável indicadora do genótipo do provável QTL, assumindo os valores de 0, 1 e 2 para os genótipos qq, Qq e QQ, respectivamente, com probabilidades que dependem do genótipo dos marcadores que flanqueiam o possível QTL e da fração de recombinação entre o QTL e os marcadores;  $a_{lk}$  é o coeficiente de regressão parcial entre os valores fenotípicos e os valores atribuídos a  $x_{jl}$ ;  $x_{jl}$  é a variável indicadora associada ao cofator  $l$ , assumindo  $t$  marcadores selecionados como cofatores para o controle da variação genética residual ( $l = 1, 2, \dots, t$ );  $e_{jk}$  é o resíduo do modelo. A obtenção dos cofatores foi realizada empregando-se o método de regressão stepwise (forward/backward) ( $P \leq 0,05$ ), sendo selecionados os 5 marcadores mais informativos por ambiente, evitando a utilização de um elevado número de cofatores (BASTEN et al., 2001). Para o mapeamento de QTL foi utilizado um “walking speed” de 1 cM e “window size” de 10 cM.

O teste da razão de verossimilhança (LR) para a presença de QTL em um ou mais ambientes foi  $LR = -2 \ln(L_0 / L_1)$ , em que  $L_0$  é a máxima verossimilhança (ML) sob a hipótese nula que é  $a_1 = a_2 = \dots = a_k = 0$ ,  $L_1$  é a ML sob a hipótese alternativa que é pelo menos um  $a_k \neq 0$ . O teste LR para interação QTL x ambiente avalia a razão de ML sob a hipótese nula ( $L_0$ ) e sob a hipótese alternativa ( $L_1$ ). Sob a hipótese nula as LR têm distribuição aproximada de  $\chi^2$  com  $k + 1$  graus de liberdade para a presença do QTL, e com  $k - 1$  graus de liberdade para a interação QTL x ambiente com os testes realizados somente em regiões onde os QTL foram previamente identificados. Os valores dos limites críticos para declarar a presença de um QTL na análise conjunta e na análise da interação QTL x ambiente foram ajustados para o número de testes independentes em todo o genoma seguindo os procedimentos sugeridos por Vieira et al. (2000). O número de testes independentes foi estimado considerando o comprimento do  $l$  ésimo grupo de ligação ( $T_l$ ), o intervalo médio entre os marcadores ( $im$ ) e o window size ( $ws$ ), por meio da seguinte equação  $\sum_l [(T_l / im + ws) + 1]$ , sendo

1.366 cM o comprimento dos grupos de ligação, 8 cM o intervalo médio entre os marcadores e 10 cM o valor do window size considerado em cada lado do intervalo. Assim, o intervalo considerado como independente foi de 28 cM, o que resultou em 51 testes independentes em todo o genoma. O erro do tipo I considerado para todo o genoma foi de  $\alpha = 0,05$ , e  $\alpha = 0,05/51 = 0,001$  para cada teste independente. Portanto, os valores dos limites críticos para o mapeamento de QTL na análise conjunta e da interação QTL x ambiente foram de 16,29 e 10,85 que corresponde aos *LOD* 3,53 e 2,35, respectivamente. Para as análises por ambiente foi considerado um limite crítico de 5,99 (*LOD* 1,33) que corresponde ao valor de qui-quadrado com  $\alpha = 0,05$  e 2 graus de liberdade referentes às três classes genóticas para testecrosses obtidos de uma população  $F_{4:5}$ .

No mapeamento de QTL utilizando-se testecrosses, o efeito de substituição alélica não é fornecido diretamente pelo *QTL Cartographer*, uma vez que este fornece somente o efeito aditivo [ $a^* = (a \pm d)/2$ ]. Como o testador é uma linhagem homozigota o efeito de substituição alélica é  $\alpha_s = a + d$  para  $s=1$  ou  $\alpha_r = a - d$  para  $r=1$  (MIRANDA FILHO; VENCOVSKY, 2001). Portanto, o efeito de substituição alélica [ $\alpha_i = a \pm d$ ] foi obtido multiplicando-se o efeito aditivo fornecido pelo *QTL Cartographer* por 2 (SANTOS, 2008). A origem dos alelos favoráveis foi obtida de acordo com o sinal dos efeitos de substituições alélicas, conforme proposto por Lübberstedt et al. (1997). Quando o valor do efeito foi positivo (+) considerou-se que o alelo favorável foi originado da linhagem parental de maior desempenho (B605), e quando negativo (-) da linhagem de menor desempenho (B532).

Os QTL mapeados foram comparados utilizando o procedimento do “*one-LOD support interval*” a ( $P \leq 0,95$ ) (LYNCH; WALSH, 1998). A sobreposição entre intervalos de confiança de QTL mapeados na mesma população ou em diferentes populações de testecrosses foram considerados o mesmo QTL.

A porcentagem da variância fenotípica explicada por cada QTL mapeado foi obtida de acordo com os procedimentos sugeridos por Bohn et al. (1997), sendo:  $\hat{R}_F^2 = \hat{\sigma}_G^2 / \hat{\sigma}_F^2$ , em que  $\hat{R}_F^2$  é a porcentagem da variância fenotípica explicada pelo QTL;  $\hat{\sigma}_G^2$  é a variância genética explicada pelo QTL, e  $\hat{\sigma}_F^2$  é a variância fenotípica com base na

média de testecrosses, sendo  $\hat{\sigma}_F^2 = \hat{\sigma}_G^2 + (\hat{\sigma}_{GA}^2/L) + (\hat{\sigma}_E^2/RL)$ , em que  $\hat{\sigma}_G^2$  é a variância genética de testecrosses,  $\hat{\sigma}_{GA}^2$  é a variância da interação testecrosses x ambiente,  $\hat{\sigma}_E^2$  é a variância do erro experimental, L é o número de locais e R é o número de repetições dos experimentos. A variância genética de um QTL foi obtida utilizando a expressão  $\hat{\sigma}_G^2 = 1/8(\alpha_i)^2$ , em que  $\alpha_i$  é o efeito médio de uma substituição alélica para testecrosses.

## 2.2.2 Resultados e Discussão

Nas análises de variâncias, para todos os caracteres avaliados, foram detectadas diferenças altamente significativas pelo teste F ( $P \leq 0,01$ ) entre testecrosses (T), testecrosses das linhagens testadoras A36 (T1) e A17 (T2), indicando ampla variabilidade genética na população. A variabilidade genética detectada dentro dos dois grupos de testecrosses sugere que houve divergência genética entre os parentais utilizados, pois ainda que pertencentes ao mesmo grupo heterótico, o cruzamento entre eles originou uma população de ampla variabilidade genética para estes caracteres. A fonte de variação ambiente (A) foi altamente significativa para todos os caracteres, mostrando que houve diferenças entre os ambientes na avaliação dos diferentes testecrosses. A interação testecrosses por ambiente (TxA) apresentou diferença altamente significativa para todos os caracteres avaliados, exceto para número de fileiras (NF). A interação entre os testecrosses da linhagem testadora A36 (T1 x A) apresentou diferença altamente significativa para produção de grãos (PG), diâmetro de espiga (DE) e comprimento de grão (CG). Já a interação dos testecrosses da linhagem testadora A17 (T2 x A) apresentou diferença altamente significativa apenas para PG. Estes resultados demonstram que houve variabilidade genética entre os testecrosses para todos os caracteres avaliados e maior interação com o ambientes nos T1 para um maior número de caracteres quando comparado aos T2. Os coeficientes de variação experimental (CV) de 12,34% para PG, 4,38% para NF, 4,46% para CE, 2,70% para DE e 4,68% para CG demonstram boa precisão experimental, uma vez que todos os caracteres apresentaram CV dentro dos limites encontrados na literatura para milho (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988; WONG, et al., 1994; BENTO, 2006) (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variâncias conjuntas agrupadas e coeficientes de variação (CV) para produção de grãos e seus componentes avaliados nos testecrosses obtidos dos testadores A36 (T1) e A17 (T2)

FV <sup>a</sup>	GL	Quadrados Médios <sup>b</sup>				
		PG	NF	CE	DE	CG
Ambientes (A)	2	308,28**	61,82**	8136,02**	964,29**	306,89**
Testecrosses (T)	510	5,53**	3,46**	296,89**	17,23**	0,69**
T1	254	4,08**	2,94**	302,41**	9,81**	0,75**
T2	254	3,95**	3,91**	213,18**	10,59**	0,58**
T1 vs T2	2	388,09ns	9,51ns	10499,85ns	1791,99**	7,41ns
T / A	510	1,81**	0,62ns	74,21**	2,62**	0,38**
T1 x A	254	1,44**	0,67ns	72,14ns	2,69**	0,43**
T2 x A	254	1,60**	0,57ns	69,74ns	2,49ns	0,31ns
T1 vs T2 x A	2	71,23**	2,06ns	889,96**	10,63**	3,61**
Erro Efetivo Médio	900	1,12	0,53	60,08	2,00	0,29
CV (%)		12,34	4,38	4,46	2,70	4,68

ns, \*\*, não significativo, significativo a  $P \leq 0,01$ , respectivamente pelo teste *F*.

<sup>a</sup>fontes de variação estão agrupadas dentro de experimentos.

<sup>b</sup>PG, NF, CE, DE e CG referem-se aos caracteres produção de grãos ( $t. ha^{-1}$ ), número de fileiras de grãos, comprimento e diâmetro de espiga (mm) e comprimento de grãos (mm), respectivamente.

As médias dos T1 diferiram significativamente ( $P \leq 0,05$ ) das médias dos T2 para PG e DE. Para PG as médias foram de  $7,93 t. ha^{-1}$  nos T1 e de  $9,14 t. ha^{-1}$  nos T2, variando de  $2,61$  a  $11,2 t. ha^{-1}$  e de  $4,71$  a  $13,1 t. ha^{-1}$ , respectivamente. Para DE as médias foram de  $50,94$  mm nos T1 e de  $53,57$  mm nos T2, variando de  $41,03$  a  $56,03$  mm e de  $45,98$  a  $58,65$  mm, respectivamente. Para os demais componentes de produção não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos T1 e T2. Esses resultados demonstram que, em média, os testecrosses da linhagem testadora A17 quando comparado aos da A36, apresentaram maior produtividade e diâmetro de espiga, sugerindo uma maior frequência de alelos favoráveis para estes caracteres (Tabela 2).



Tabela 2 – Médias ( $\bar{X}$ ), intervalos de confiança (IC) e intervalos de variação (IV) para produção de grãos e seus componentes

Caráter <sup>a</sup>		Testador A36 (T1)	Testador A17 (T2)
	$\bar{X}$	7,93	9,14
PG	IC	6,90; 8,97	8,10; 10,18
	IV	2,61; 11,20	4,71; 13,10
	$\bar{X}$	16,69	16,87
NF	IC	15,97; 17,41	16,15; 17,59
	IV	13,54; 19,73	13,58; 19,99
	$\bar{X}$	163,42	169,77
CE	IC	156,12; 170,72	162,48; 177,07
	IV	106,26; 186,96	136,94; 193,72
	$\bar{X}$	50,94	53,57
DE	IC	49,55; 52,33	52,19; 54,96
	IV	41,03; 56,03	45,98; 58,65
	$\bar{X}$	11,63	11,45
CG	IC	11,10; 12,17	10,92; 11,98
	IV	8,55; 14,23	7,67; 13,24

<sup>a</sup>PG, NF, CE, DE e CG referem-se aos caracteres produção de grãos ( $t. ha^{-1}$ ), número de fileiras de grãos, comprimento e diâmetro de espiga (mm) e comprimento de grão (mm), respectivamente.

As estimativas de variâncias genéticas dos testecrosses ( $\hat{\sigma}_G^2$ ) diferiram significativamente de zero ( $P \leq 0,05$ ) para todos os caracteres. As variâncias genéticas dos T1 não diferiram significativamente ( $P \leq 0,05$ ) das variâncias dos T2 para PG, DE e CG. Já, a variância genética dos T1 foi inferior à variância dos T2 para NF e superior para CE. A variância genética dos testecrosses é função da divergência da população e do efeito de substituição alélica do testador. Por sua vez, o efeito de substituição alélica depende da frequência alélica do testador e do grau de dominância do caráter. O efeito de dominância na produção de grãos e nos componentes de produção tem sido demonstrado em vários trabalhos (HUELSON, 1954; HANSEN, 1977; HAN, HALLAUER, 1989; COCKERHAM; ZENG, 1996; WOLF et al., 2000; BENTO, 2006; FRASCAROLI et al.; 2007). Devido às linhagens testadoras pertencerem ao mesmo grupo heterótico e serem genótipos de alta capacidade de combinação, os testadores

apresentaram, em média, efeitos semelhantes de substituição alélica com a população, e por isso não diferiram quanto à magnitude das variâncias genéticas para PG, DE e CG. Entretanto, para NF e CE, as diferenças nas magnitudes das variâncias genéticas entre T1 e T2, demonstram divergências genéticas entre os testadores para estes caracteres (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3 – Estimativas das variâncias genéticas de testecrosses ( $\hat{\sigma}_G^2$ ), variâncias fenotípicas com base em médias ( $\hat{\sigma}_F^2$ ), coeficientes de herdabilidade com base em médias ( $\hat{h}_x^2$ ), seus intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade e resposta com à seleção ( $\hat{R}_s$ ) para diversos caracteres

Caráter <sup>a</sup>	Testador A36 (T1)				
	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{\sigma}_F^2$	$\hat{h}_x^2$	$\hat{R}_s$	$\hat{R}_s$ (%)
PG	0,66 (0,51; 0,91)	1,02 (0,86; 1,23)	0,65 (0,54; 0,72)	1,15	14,50
NF	0,57 (0,46; 0,73)	0,74 (0,62; 0,89)	0,77 (0,70; 0,82)	1,16	6,95
CE	57,57 (46,4; 74,3)	75,60 (63,8; 90,9)	0,76 (0,69; 0,81)	11,65	7,13
DE	1,78 (1,41; 2,31)	2,45 (2,07; 2,95)	0,73 (0,64; 0,78)	2,00	3,93
CG	0,08 (0,05; 0,13)	0,19 (0,16; 0,23)	0,42 (0,25; 0,55)	0,32	2,75

<sup>a</sup>PG, NF, CE, DE e CG referem-se aos caracteres produção de grãos (t. ha<sup>-1</sup>), número de fileiras de grãos, comprimento e diâmetro de espiga (mm) e comprimento de grãos (mm), respectivamente.

Tabela 4 – Estimativas das variâncias genéticas de testecrosses ( $\hat{\sigma}_G^2$ ), variâncias fenotípicas com base em médias ( $\hat{\sigma}_F^2$ ), coeficientes de herdabilidades com base em médias ( $\hat{h}_{\bar{x}}^2$ ), seus intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade e resposta com à seleção ( $\hat{R}_s$ ) para diversos caracteres

Caráter <sup>a</sup>	Testador A17 (T2)				
	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{\sigma}_F^2$	$\hat{h}_{\bar{x}}^2$	$\hat{R}_s$	$\hat{R}_s$ (%)
PG	0,59 (0,44; 0,83)	0,99 (0,84; 1,18)	0,60 (0,48; 0,68)	1,04	11,38
NF	0,84 (0,69; 1,04)	0,98 (0,83; 1,17)	0,85 (0,81; 0,88)	1,49	8,83
CE	35,86 (27,9; 48,0)	53,29 (45,2; 63,7)	0,67 (0,58; 0,74)	8,65	5,10
DE	2,03 (1,63; 2,60)	2,65 (2,25; 3,17)	0,77 (0,70; 0,81)	2,19	4,09
CG	0,07 (0,05; 0,11)	0,15 (0,12; 0,17)	0,47 (0,32; 0,58)	0,32	2,79

<sup>a</sup>PG, NF, CE, DE e CG referem-se aos caracteres produção de grãos (t. ha<sup>-1</sup>), número de fileiras de grãos, comprimento e diâmetro de espiga (mm) e comprimento de grãos (mm), respectivamente.

As estimativas dos coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses ( $\hat{h}_{\bar{x}}^2$ ) diferiram significativamente ( $P \leq 0,05$ ) de zero para todos os caracteres avaliados. Nos T1, as herdabilidades apresentaram magnitudes altas (>0,73) para NF, CE e DE, moderada para PG (0,65) e baixa para CG (0,42). As herdabilidades nos T2 foram altas (>0,77) para NF e DE, moderada (>0,60) para PG e CE e baixa para CG (0,47). Em geral, os T1 e T2 não diferiram quanto as magnitudes dos coeficientes de herdabilidade, exceto para CE e NF. Com exceção do CG que também foi baixa, a herdabilidade da PG foi menor do que as herdabilidades de todos os componentes de produção, evidenciando o potencial da seleção indireta para este caráter. As herdabilidades moderadas para PG e baixas para CG nos dois grupos de testecrosses ocorreram devido à alta variância da interação com o ambiente, uma vez que a variância do erro apresentou baixa magnitude como demonstrado pelo CV baixo (Tabelas 3 e 4).

As respostas à seleção com base em médias de testecrosses ( $\hat{R}_s$ ) apresentaram diferentes magnitudes entre os dois grupos de testecrosses, para todos os caracteres, com exceção do CG. A  $\hat{R}_s$  dos T1 e T2 foram 14,50 e 11,38% para PG; 6,95 e 8,83% para NF; 7,13 e 5,10% para CE; 3,93 e 4,09% para DE e 2,75 e 2,79% para CG, respectivamente. Portanto, os T1 apresentaram as maiores respostas à seleção para PG e CE e os T2 para NF e DE. A resposta à seleção depende da intensidade de seleção e da herdabilidade do caráter (FALCONER; MACKAY, 1996). Como a intensidade de seleção utilizada nas estimativas foi a mesma para os dois testadores, a superioridade da resposta à seleção dos testecrosses dependeu do coeficiente de herdabilidade (Tabelas 3 e 4).

As estimativas dos coeficientes de correlação genética ( $\hat{r}_G$ ) e fenotípica ( $\hat{r}_F$ ) para os T1 foram altamente significativas e positivas ( $P \leq 0,01$ ) entre PG e os caracteres CE (0,78 e 0,67), DE (0,93 e 0,79) e CG (0,79 e 0,52) e significativa ( $P \leq 0,05$ ) com o NF (0,24 e 0,23), respectivamente. Para os T2 as  $\hat{r}_G$  e  $\hat{r}_F$  foram altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) entre PG e os caracteres NF (0,60 e 0,45), CE (0,56 e 0,52), DE (0,91 e 0,80) e CG (0,59 e 0,46), respectivamente. Para NF, a baixa correlação com a PG obtida nos T1 está de acordo com diversos autores que reportam valores inferiores a 0,24 (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988; ARIAS; SOUZA JÚNIOR; TAKEDA, 1999; AGUIAR, 2003). Valores similares das estimativas de correlação genética entre PG e os outros componentes são observadas na literatura, variando de 0,29 a 0,76 entre PG e CE, 0,28 a 0,60 entre PG e DE e 0,15 a 0,73 entre PG e CG (SALAZAR; HALLAUER, 1986; AUSTIN; LEE, 1988; HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988; ARIAS; SOUZA JÚNIOR; TAKEDA, 1999; AGUIAR, 2003). Exceto para PG e DE, as magnitudes das correlações genéticas entre PG e os componentes de produção diferiram-se entre os T1 e T2. Portanto, observa-se que houve efeito do testador na magnitude das correlações genéticas entre PG e a maioria dos componentes de produção avaliados (Tabela 5).

Entre os componentes de produção, as maiores magnitudes das  $\hat{r}_G$  e  $\hat{r}_F$  nos T1, foram entre NF e DE (0,50 e 0,41) e DE e CG (0,88 e 0,62), respectivamente. Da mesma forma, nos T2 as maiores magnitudes foram entre NF e DE (0,54 e 0,50) e DE e CG (0,59 e 0,49), respectivamente. Tanto o NF quanto o CG apresentaram de

moderada a alta correlação com o DE. Além disso, entre os componentes de produção, observa-se que não há diferenças expressivas na magnitude das correlações genéticas e fenotípicas entre os T1 e T2, sugerindo que o testador não afetou as magnitudes das correlações entre os componentes de produção (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores e significâncias dos coeficientes de correlação genética ( $\hat{r}_G$ ) (acima da diagonal) e fenotípica ( $\hat{r}_F$ ) (abaixo da diagonal) entre diversos caracteres avaliados nos testecrosses obtidos com os testadores A36 (T1) e A17 (T2)

Caráter <sup>a</sup>	Testadores	PG	NF	CE	DE	CG
PG	T1	-	0,24 <sup>†</sup>	0,78**	0,93**	0,79**
	T2	-	0,60**	0,56**	0,91**	0,59**
NF	T1	0,23**	-	0,10ns	0,50**	0,26*
	T2	0,45**	-	0,17*	0,54**	0,32**
CE	T1	0,67**	0,11ns	-	0,48**	0,28*
	T2	0,52**	0,11ns	-	0,11ns	-0,30**
DE	T1	0,79**	0,41**	0,44**	-	0,88**
	T2	0,80**	0,50**	0,18**	-	0,59**
CG	T1	0,52**	0,11*	0,24**	0,62**	-
	T2	0,46**	0,21**	-0,02ns	0,49**	-

ns, \*, \*\*, não significativo, significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

<sup>a</sup>PG, NF, CE, DE e CG referem-se aos caracteres produção de grãos (t ha<sup>-1</sup>), número de fileiras de grãos, comprimento e diâmetro de espiga (mm) e comprimento de grãos (mm), respectivamente.

As respostas correlacionadas à seleção para aumentar a produção de grãos ( $\hat{R}_c$ ) apresentaram diferentes magnitudes entre os dois grupos de testecrosses para todos os componentes de produção. As  $\hat{R}_c$  dos T1 e T2 foram 0,30 e 0,68 t. ha<sup>-1</sup> para NF; 0,97 e 0,57 t. ha<sup>-1</sup> para CE; 1,13 e 0,96 t. ha<sup>-1</sup> para DE e 0,73 e 0,83 ton ha<sup>-1</sup> para CG, respectivamente. A seleção indireta para PG foi menos eficiente que a seleção direta para todos os componentes de produção em ambos os grupos de testecrosses. O

DE apresentou a maior  $\hat{R}_c$  nos dois grupos de testecrosses, no entanto, ela correspondeu a 98% da seleção direta nos T1 e 92% nos T2. A eficiência da seleção indireta correspondeu a 26% para NF; 84% para CE e 64% para CG da seleção direta para PG nos T1 e, 65% para NF; 54% para CE e 80% para CG da seleção direta nos T2. Como a intensidade de seleção foi a mesma para os dois grupos de testecrosses, as  $\hat{R}_c$  variaram em função das magnitudes das correlações genéticas entre os caracteres e dos coeficientes de herdabilidade. A seleção indireta é considerada eficiente quando a razão entre  $\hat{R}_c/\hat{R}_s$  for maior que 1,0. Entretanto, em muitos casos, a seleção indireta é utilizada não porque ela é mais eficiente, mas também porque o caráter secundário é mais fácil de ser avaliado e ou de menor custo (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992; BERNARDO, 2008). Como discutido anteriormente, a avaliação da produção de grãos de milho doce é trabalhosa e na maioria das vezes antieconômica para ser aplicada nas fases iniciais dos programas de melhoramento em que o número de genótipos é grande. Assim, o DE tanto nos T1 quanto nos T2, CE nos T1 e CG nos T2, poderiam ser utilizados na seleção indireta para produção de grãos nas fases iniciais dos programas de melhoramento (Tabela 6).

Tabela 6 - Estimativa da resposta correlacionada à seleção na produção de grãos ( $\hat{R}_c$ ) e eficiência com a seleção indireta ( $Ef = (\hat{R}_c/\hat{R}_s) \cdot 100$ ) praticada em diversos caracteres

Caráter <sup>a</sup>	Testador A36 (T1)		Testador A17 (T2)	
	$\hat{R}_c$	$Ef(\%)$	$\hat{R}_c$	$Ef(\%)$
NF	0,30	26	0,68	65
CE	0,97	84	0,57	54
DE	1,13	98	0,96	92
CG	0,73	64	0,83	80

<sup>a</sup>PG, NF, CE, DE e CG referem-se aos caracteres produção de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ), número de fileiras de grãos, comprimento e diâmetro de espiga (mm) e comprimento de grão (mm), respectivamente.

As  $\hat{r}_G$  e  $\hat{r}_F$  entre os testecrosses T1 e T2 foram altamente significativas e positivas ( $P \leq 0,01$ ) para todos os caracteres avaliados. As magnitudes das  $\hat{r}_G$  e  $\hat{r}_F$  foram, respectivamente, de 0,83 e 0,52 para PG; 0,76 e 0,62 para NF; 0,66 e 0,51 para

CE; 0,78 e 0,57 para DE e 0,80 e 0,38 para CG. Assim, observa-se uma alta similaridade genética entre T1 e T2 para todos os caracteres avaliados, exceto para CE que apresentou correlação moderada (Tabela 7).

Tabela 7 - Estimativas das correlações genéticas ( $\hat{r}_G$ ) e fenotípicas ( $\hat{r}_F$ ) entre os testecrosses originados dos testadores A36 (T1) e A17 (T2), resposta correlacionada nos T2 com a seleção praticada nos T1 ( $\hat{R}C_{(T2,T1)}$ ), eficiência da seleção indireta praticada nos T1 ( $Ef_{(T2,T1)}(\%)$ ), resposta correlacionada nos T1 com a seleção praticada nos T2 ( $\hat{R}C_{(T1,T2)}$ ) e eficiência da seleção indireta nos T2 ( $Ef_{(T1,T2)}(\%)$ )

Caráter <sup>a</sup>	$\hat{r}_G$	$\hat{r}_F$	$\hat{R}C_{(T2,T1)}$	$Ef_{(T2,T1)}(\%)$ <sup>b</sup>	$\hat{R}C_{(T1,T2)}$	$Ef_{(T1,T2)}(\%)$ <sup>c</sup>
PG	0,83**	0,52**	0,90	86	0,91	80
NF	0,76**	0,62**	1,07	72	0,93	80
CE	0,66**	0,51**	6,05	70	7,20	62
DE	0,78**	0,57**	1,67	76	1,60	80
CG	0,76**	0,38**	0,23	72	0,26	80

ns, \*, \*\*, não significativo, significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

<sup>a</sup>PG, NF, CE, DE e CG referem-se aos caracteres produção de grãos ( $t\ ha^{-1}$ ), número de fileiras de grãos, comprimento e diâmetro de espiga (mm) e comprimento de grãos (mm), respectivamente.

<sup>b</sup>Corresponde a  $Ef_{(T2,T1)}(\%) = \hat{R}C_{(T2,T1)} / \hat{R}s_{(T2)}$ .

<sup>c</sup>Corresponde a  $Ef_{(T1,T2)}(\%) = \hat{R}C_{(T1,T2)} / \hat{R}s_{(T1)}$ .

As respostas correlacionadas à seleção entre os testecrosses dos dois testadores apresentaram magnitudes semelhantes para todos os caracteres avaliados. A seleção indireta praticada nos T1 com a resposta correlacionada em T2 ( $\hat{R}C_{(T2,T1)}$ ) correspondeu a 86% para PG; 72% para NF; 70% para CE; 76% para DE e 72% para CG da seleção direta praticada nos T2. Por outro lado a seleção indireta praticada em T2 com a resposta correlacionada em T1 ( $\hat{R}C_{(T1,T2)}$ ) foram 80% para os quatro caracteres PG, NF, DE e CG e 62% para CE da seleção direta praticada nos T1 (Tabela 7). Desde os primeiros ciclos de seleção, os programas de melhoramento genético de milho doce,

visando à obtenção de híbridos superiores, exploram a capacidade específica de combinação entre testadores com alta frequência de alelos favoráveis e linhagens de grupo heterótico oposto. Assim, devido a alta correlação genética entre os dois grupos de testecrosses para a maioria dos caracteres avaliados neste estudo, a seleção de genótipos superiores poderia ser feita baseada em apenas um testador, reduzindo os custos e possibilitando avaliar um maior número de linhagens.

### **2.2.2.1 Mapeamento de QTL para produção de grãos**

Para produção de grãos (PG) foram mapeados 21 QTL, sendo 10 para os testecrosses originados da linhagem testadora A36 (T1) e 11 para os originados da linhagem A17 (T2). Portanto, praticamente não houve diferença quanto ao número de QTL mapeados nos dois grupos de testecrosses. Estes resultados podem ser explicados pela magnitude da variância genética que também não apresentou diferenças entre os T1 e T2. Como visto anteriormente, os dois grupos de testecrosses apresentaram uma alta correlação genética (0,83), resultando na similaridade da variância genética e consequentemente no número de QTL mapeados.

Para os T1 foram mapeados três QTL no cromossomo 3, dois nos cromossomos 1 e 5 e um QTL nos cromossomos 1, 2, 6 e 9. Para os T2 foram mapeados três QTL no cromossomo 2, dois nos cromossomo 3, 4 e 7, e um nos cromossomos 8 e 9. Observa-se que os T1 e T2 diferiram quanto à distribuição dos QTL mapeados nos diferentes cromossomos, em que 70% dos QTL mapeados nos T1 estavam distribuídos nos cromossomos 1, 3 e 5, e 63,36% dos QTL mapeados nos T2 localizaram-se nos cromossomos 2, 4 e 7. Além disso, não foi obtido nenhum QTL coincidente entre os grupos de testecrosses de acordo como o intervalo de confiança, indicando forte interação QTL x testador. Essa interação ocorre com maior frequência em caracteres controlados por um grande número de genes de baixo efeito, como é o caso da produção de grãos (BERNARDO, 2008).

Os efeitos médios de substituição alélica variaram de 0,20 t. ha<sup>-1</sup> a 0,70 t. ha<sup>-1</sup> nos T1 e 0,16 t. ha<sup>-1</sup> a 0,67 t. ha<sup>-1</sup> nos T2. As proporções da variância fenotípica e genética explicadas pelos QTL variaram de 0,80 a 9,19% e 0,52 a 5,94% nos T1 e de



0,55 a 9,54% e 0,33 a 5,69% nos T2, respectivamente. De todos os QTL mapeados, 67% (14) explicaram menos de 5% da variância genética do caráter para os dois grupos de testecrosses. Além disso, observa-se que nenhum QTL explicou mais de 10% da variância genética, demonstrando a predominância de QTL de menor efeito no controle da produção de grãos em milho doce. Todavia, a ocorrência de QTL de maior efeito para produção de grãos não pode ser desconsiderada, pois há relatos na literatura de QTL explicando 24,50% da variação da produção de grãos em milho (AJMONE-MARSAN et al. 1995).

Cada linhagem parental contribuiu com aproximadamente metade do total de alelos favoráveis mapeados para PG, sendo 57% originado da linhagem B532 e 43% originado da linhagem B605. Para os T1, 80% dos alelos favoráveis originaram-se da linhagem B532 e apenas 10% da linhagem B605. Já para os T2, apenas 36,37% originaram-se da linhagem B532 e 63,63% da linhagem B605. Portanto, a localização dos alelos favoráveis dependeu do testador utilizado, em que o parental B532 contribuiu com maior parte dos alelos favoráveis para os T1 e o parental B605 para os T2 (Tabelas 8 e 9).

As magnitudes elevadas das  $\hat{r}_G$  e  $\hat{r}_F$  entre os T1 e T2 indicam que os locos que controlaram a PG nos T1 são semelhantes aos que controlam nos T2. O fato de não ocorrer QTL coincidentes entre os dois grupos de testecrosses indica que o mapeamento de QTL pode não ter sido suficiente para mapear estes QTL. Neste estudo, os QTL mapeados explicaram apenas parte da variância fenotípica, ou seja, grande parte dos QTL que controlam o caráter não foram mapeados. Lima et al. (2006) citam que uma das razões do mapeamento de QTL explicar pouco da variância fenotípica do caráter é a limitação dos modelos de mapeamento de QTL em mapear QTL de efeito muito pequeno. Considerando que a correlação entre os dois grupos de testecrosses para PG seja função de um grande número de QTL de pequeno efeito, os quais poderiam ser responsáveis por uma grande proporção da variação para PG, seria necessário um grande número de progênies, precisão dos dados fenotípicos e modelos estatísticos mais poderosos para que esses QTL fossem mapeados.

A interação QTL x testador tem sido reportada para caracteres que apresentam efeito de dominância variando de parcial a completa como é o caso da produção de

grãos (AJMONE-MARSAN et al., 1994; SCHÖN et al., 1994; AUSTIN et al., 2000). No presente estudo, apesar dos grupos de testecrosses não terem apresentado diferenças quanto ao número e efeito dos QTL mapeados, houve uma alta interação QTL x testador quanto à posição e origem dos alelos favoráveis para este caráter. Isto significa que mesmo utilizando testadores do mesmo grupo heterótico, houve interação QTL x testador para produção de grãos, demonstrando a importância do testador no mapeamento de QTL em testecrosses para este caráter.

Tabela 8 - QTL mapeados em dois ambientes para produção de grãos nos testecrosses obtidos do testador A36 (T1): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$	$R^2_F$
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.	t ha <sup>-1</sup>		%	%
<i>qpqt1.1a</i>	1.03	63,69	SM0152A	P	P	32,43	9,32	-0,53	B532	5,24	3,39
<i>qpqt1.1b</i>	1.04	77,43	SM0657A	P	P	26,11	3,74	-0,48	B532	4,45	2,88
<i>qpqt1.2a</i>	2.08	142,60	SM0683B	P	P	20,72	4,85	0,32	B605	1,89	1,22
<i>qpqt1.3a</i>	3.03	48,47	SM0829D	P	P	17,73	9,24	-0,38	B532	2,71	1,75
<i>qpqt1.3b</i>	3.04	69,15	SM0721C	P	P	40,61	2,66	-0,64	B532	7,73	5,00
<i>qpqt1.3c</i>	3.05	79,52	SM0071A	P	P	24,86	1,97	-0,58	B532	6,43	4,15
<i>qpqt1.5a</i>	5.05	106,33	SM0501A	P	P	17,31	10,22	-0,21	B532	0,80	0,52
<i>qpqt1.5b</i>	5.06	116,46	SM0105C	P	P	27,02	7,85	-0,33	B532	2,06	1,33
<i>qpqt1.6a</i>	6.08	120,00	SM1118A	P	P	16,69	0,05	-0,48	B532	4,29	2,78
<i>qpqt1.9a</i>	9.03	54,79	SM0249A	P	P	22,01	3,56	0,70	B605	9,19	5,94

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qpqt), testador (t1), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 9 - QTL mapeados em dois ambientes para produção de grãos nos testecrosses obtidos do testador A17 (T2): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale. t ha <sup>-1</sup>	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$ %	$R^2_F$ %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qpqt2.2a</i>	2.02	25,45	SM0852D	P	P	16,71	6,77	-0,33	B532	2,24	1,34
<i>qpqt2.2b</i>	2.08	126,19	SM0260A	P	P	17,81	<u>12,01</u>	0,29	B605	1,74	1,04
<i>qpqt2.2c</i>	2.08	127,68	SM1095A	P	P	17,80	<u>11,06</u>	0,32	B605	2,13	1,27
<i>qpqt2.3a</i>	3.04	61,71	SM0127A	P	P	21,09	6,07	-0,45	B532	4,33	2,58
<i>qpqt2.3b</i>	3.04	70,15	SM0721C	P	P	22,10	3,49	-0,44	B532	4,07	2,43
<i>qpqt2.4a</i>	4.08	116,75	SM0900B	P	P	18,80	<u>15,66</u>	0,16	B605	0,56	0,33
<i>qpqt2.4b</i>	4.08	117,93	SM0828C	P	P	19,15	<u>16,01</u>	0,17	B605	0,59	0,35
<i>qpqt2.7a</i>	7.05	134,10	SM0342B	P	P	25,80	1,10	0,62	B605	8,24	4,92
<i>qpqt2.7b</i>	7.05	139,43	SM0139B	P	P	32,94	0,23	0,67	B605	9,55	5,69
<i>qpqt2.8a</i>	8.01	164,71	SM0558C	P	A	25,61	<u>16,21</u>	-0,33	B532	2,36	1,41
<i>qpqt2.9a</i>	9.03	48,52	SM0151D	P	P	21,79	1,47	0,67	B605	9,46	5,64

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qpq), testador (t2), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

### 2.2.2.2 Mapeamento de QTL para os componentes de produção

Foram mapeados 17 QTL para o caráter número de fileiras (NF), sendo 5 nos T1 e 12 nos T2. A diferença no número de QTL mapeados entre T1 e T2 pode ser explicada pela diferença na variância genética entre os grupos de testecrosses. O maior número de QTL foi obtido no grupo de testecrosses com maior variância genética (T2) e o menor, no grupo com menor variância (T1), confirmando a relação da magnitude da variância genética com o número de QTL mapeados. Resultados semelhantes, demonstrando o efeito da magnitude da variância genética com o número de QTL mapeados, são encontrados na literatura (AUSTIN et al., 2000; SANTOS, 2008; BELICUAS, 2009). Para os T1, foram mapeados três QTL no cromossomo 6 e dois no cromossomo 1. Já nos T2, foram mapeados seis QTL no cromossomo 4, quatro no cromossomo 1 e um nos cromossomos 6 e 9. Desta forma, verifica-se uma maior concentração de QTL mapeados nos cromossomos 1 e 4, com 35,29% do total de QTL mapeados em cada cromossomo, sendo o cromossomo 6 com o maior número de QTL mapeados nos T1 (60%) e o cromossomo 4 (50%) nos T2. Foi encontrado apenas uma região coincidente entre os T1 (*qnft1.6c*) e T2 (*qnft2.6a*), evidenciando novamente o efeito do testador no mapeamento de QTL. Os efeitos médios de substituição alélica variaram de 0,45 fileiras a 0,74 fileiras nos T1 e de 0,06 a 0,98 fileiras nos T2. As proporções da variância genética e fenotípica explicadas pelos QTL variaram de 4,38 a 11,91 % e 3,38 a 9,19 % nos T1 e de 0,05 a 14,26 % e 0,04 a 12,19 % nos T2, respectivamente. Apesar da maioria dos QTL explicarem pouco da variância fenotípica, 2 QTL, mapeados nos T2, explicaram mais de 10%, *qnft2.1a* (12,19%) e *qnft2.1b* (10,03%). Todos os QTL favoráveis foram provenientes da linhagem parental B605, evidenciando uma superioridade deste parental para o NF (Tabelas 10 e 11).

O comprimento de espiga (CE) foi o caráter com maior número de QTL mapeados (22). Nos T1 foram mapeados 12 QTL, dois a mais que nos T2, corroborando com o resultado da magnitude da variância genética que também foi maior nos T1. O cromossomo 1 apresentou o maior número de QTL mapeados (10), tanto para os T1 (6), quanto para os T2 (4) e duas regiões coincidentes entre os grupos de testecrosses, *qcet1.1c* com *qcet2.1c* e *qcet1.1d* com *qcet2.1d*. Os efeitos de

substituição alélica variaram de 3,20 a 7,96 mm nos T1 e de 2,98 a 6,06 mm nos T2. Apenas um QTL explicou mais de 10% da variância genética, *qcet1.9a* com (10,48%), mapeado nos T1. Para os T1, a linhagem parental B532 contribuiu com um maior número de QTL favoráveis (75%), diferentemente dos T2, onde a linhagem B605 contribuiu com a maior quantidade (60%) (Tabelas 12 e 13).

Para o caráter diâmetro de espiga (DE) foram mapeados 14 QTL, sendo 7 em cada grupo de testecrosses. O maior número de QTL foi mapeado no cromossomo 3 (42,85%), sendo 4 nos T1 e 2 nos T2. Apenas o QTL *qdet1.4a* com o *qdet2.4a* foram coincidentes entre os grupos de testecrosses. Os efeitos de substituição alélica para os T1 variaram de 0,01 mm a 1,28 mm e de 0,32 a 0,99 mm nos T2. Todos os QTL mapeados explicaram menos de 10% da variância fenotípica, evidenciando também para DE a natureza quantitativa deste caráter. Para os T1 a linhagem parental B532 contribuiu com 71,14% dos QTL favoráveis e para os T2 com 57,71% (Tabelas 14 e 15).

Foram mapeados 12 QTL para o comprimento de grãos (CG), sendo 6 QTL em cada grupo de testecrosses. Para os T1 foram mapeados QTL nos cromossomos 1, 3, 4, 6 e 7, e para os T2 nos cromossomos 1, 8 e 10. Além disso, não ocorreu nenhum QTL coincidente, caracterizando novamente, a forte interação QTL x testador. Os efeitos de substituição alélica variaram de 0,14 a 0,25 mm nos T1 e de 0,03 a 0,36 mm nos T2. O QTL *qcgt2.1d*, mapeado nos T2 e explicando 9,23% da variância fenotípica apresentou o maior efeito dentre os QTL mapeados para este caráter. O parental B532 contribuiu com 83,33% dos QTL favoráveis mapeados nos T1 e com 50% nos T2 (Tabelas 16 e 17).

Em geral, os QTL mapeados para os componentes de produção explicaram pouco da variância fenotípica, embora tenha ocorrido 2 QTL para NF e 1 QTL para CE, explicando mais de 10% da variância fenotípica. Alguns trabalhos na literatura têm reportado resultados semelhantes utilizando o mapeamento por intervalo composto (CIM). Yan et al. (2006) mapearam QTL para número de fileira de grãos explicando de 4,8 a 13,1% da variância fenotípica. Bento (2006) mapeou QTL explicando de 0,12 a 7,35% da variância fenotípica para o comprimento de espiga, 0,14 a 12,42% para diâmetro de espiga e de 0,16 a 9,48% para profundidade do grão. Por outro lado,

Veldboom e Lee (1994) utilizando a metodologia de mapeamento por marcas simples, obtiveram valores elevados, como 35% para um QTL controlando o comprimento de espiga, 34% para o diâmetro e 30% para o comprimento de grãos. Segundo Bernardo 2008, a estimativa do efeito do QTL é frequentemente inconsistente. Este autor coloca como principais causas desta inconsistência, a interação QTL x background genético (TUNKSLEY et al., 1989; BLANC et al., 2006), interação QTL x ambiente (MELCHINGER et al., 1998; LIMA et al., 2006) e devido ao erro amostral em função do número de indivíduos da população de mapeamento (BEAVIS, 1994).

A interação QTL x testador foi evidenciada em todos os componentes de produção. Para os caracteres NF e CE, em que o testador alterou a magnitude da variância genética, também ocorreram diferenças no número de QTL mapeados entre os grupos de testecrosses. A coincidência de QTL entre os grupos de testecrosses foi ausente para CG e baixa para NF, CE e DE. Além disso, a contribuição das linhagens parentais quanto ao número de alelos favoráveis variou em função do testador utilizado para todos os componentes de produção, com exceção do NF em que o parental B605 contribuiu com todos os alelos favoráveis nos dois grupos de testecrosses. Portanto, de maneira geral, a utilização de testadores do mesmo grupo heterótico afetou o mapeamento de QTL, no número, coincidência e direção do alelo favorável, evidenciando assim a forte interação QTL x testador nestes caracteres.

Tabela 10 - QTL mapeados em dois ambientes para número de fileiras de grãos nos testecrosses obtidos do testador A36 (T1): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$	$R^2_F$
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.	fileira		%	%
<i>qnft1.1a</i>	1.03	68,42	SM0390D	P	P	18,04	0,52	0,45	B605	4,38	3,38
<i>qnft1.1b</i>	1.05	87,77	SM0251C	P	P	21,42	1,24	0,48	B605	5,06	3,91
<i>qnft1.6a</i>	6.02	39,47	SM0115A	P	P	28,24	5,99	0,74	B605	11,91	9,19
<i>qnft1.6b</i>	6.02	50,02	SM0094A	P	P	17,25	0,98	0,51	B605	5,82	4,49
<i>qnft1.6c</i>	6.04	58,54	SM0156C	P	P	19,01	1,80	0,61	B605	8,17	6,30

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qnf) e testador (t1), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.



Tabela 11- QTL mapeados em dois ambientes para número de fileiras de grãos nos testecrosses obtidos do testador A17 (T2): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale. fileira	Direção <sup>d</sup>	R <sup>2</sup> <sub>G</sub> %	R <sup>2</sup> <sub>F</sub> %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qnft2.1a</i>	1.02	57,53	SM0086B	P	P	67,03	4,30	0,98	B605	14,26	12,19
<i>qnft2.1b</i>	1.03	62,69	SM0152A	P	P	69,43	4,84	0,89	B605	11,73	10,03
<i>qnft2.1c</i>	1.04	85,43	SM0657A	P	P	35,91	2,63	0,70	B605	7,41	6,34
<i>qnft2.1d</i>	1.05	103,33	SM0159A	P	P	23,51	1,66	0,52	B605	4,11	3,51
<i>qnft2.4a</i>	4.08	86,43	SM0177A	P	P	35,56	2,58	0,77	B605	8,78	7,51
<i>qnft2.4b</i>	4.08	89,47	SM0351A	P	P	34,51	2,85	0,72	B605	7,79	6,66
<i>qnft2.4c</i>	4.08	99,95	SM1121B	P	P	25,37	2,33	0,60	B605	5,40	4,62
<i>qnft2.4d</i>	4.08	114,75	SM0900B	P	P	20,28	1,03	0,59	B605	5,19	4,44
<i>qnft2.4e</i>	4.08	124,93	SM0828C	P	P	22,67	0,61	0,65	B605	6,26	5,35
<i>qnft2.4f</i>	4.10	133,74	SM0258A	P	P	22,18	2,21	0,57	B605	4,78	4,09
<i>qnft2.6a</i>	6.04	61,54	SM0156C	P	P	27,64	1,41	0,80	B605	9,47	8,09
<i>qnft2.9a</i>	9.01	13,01	SM0296B	A	A	18,82	<u>18,70</u>	0,06	B605	0,05	0,04

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qnf) e testador (t2), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 12 - QTL mapeados em dois ambientes para comprimento de espiga nos testecrosses obtidos do testador A36 (T1): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$	$R^2_F$
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.	mm		%	%
<i>qcet1.1a</i>	1.03	65,69	SM0152A	P	P	37,25	9,05	-5,08	B532	5,61	4,27
<i>qcet1.1b</i>	1.03	72,94	SM0262B	P	P	37,44	7,34	-5,24	B532	5,96	4,54
<i>qcet1.1c</i>	1.04	80,43	SM0657A	P	P	36,00	6,64	-5,28	B532	6,05	4,61
<i>qcet1.1d</i>	1.05	93,77	SM0251C	A	P	30,71	<u>13,25</u>	-3,93	B532	3,35	2,55
<i>qcet1.1e</i>	1.08	151,54	SM0069B	P	P	18,02	4,30	-3,50	B532	2,66	2,03
<i>qcet1.1f</i>	1.09	155,90	SM0777D	P	P	19,25	3,95	-4,01	B532	3,50	2,66
<i>qcet1.3a</i>	3.01	17,72	SM0759F	P	P	20,63	4,11	4,52	B605	4,44	3,38
<i>qcet1.3b</i>	3.04	66,15	SM0721C	P	P	17,77	7,44	-3,20	B532	2,23	1,70
<i>qcet1.4a</i>	4.06	58,72	SM1001A	P	P	25,45	0,38	6,51	B605	9,21	7,02
<i>qcet1.5a</i>	5.06	116,46	SM0105C	P	P	25,20	2,41	-4,91	B532	5,24	3,99
<i>qcet1.5b</i>	5.06	128,52	SM0138B	P	P	17,21	1,04	-3,86	B532	3,24	2,46
<i>qcet1.9a</i>	9.03	54,52	SM0151D	P	P	31,16	1,30	7,96	B605	13,77	10,48

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qce) e testador (t1), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 13 - QTL mapeados em dois ambientes para comprimento de espiga nos testecrosses obtidos do testador A17 (T2): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$	$R^2_F$
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.	mm		%	%
<i>qcet2.1a</i>	1.03	68,42	SM0390D	P	P	19,17	2,69	-3,68	B532	4,56	3,10
<i>qcet2.1b</i>	1.03	73,94	SM0262B	P	P	25,10	7,73	-3,97	B532	5,31	3,61
<i>qcet2.1c</i>	1.04	81,43	SM0657A	P	P	26,93	9,56	-3,99	B532	5,36	3,65
<i>qcet2.1d</i>	1.05	91,77	SM0251C	P	P	21,79	9,26	-2,98	B532	2,99	2,03
<i>qcet2.5a</i>	5.02	52,80	SM0269B	P	P	26,29	3,07	6,06	B605	12,40	8,44
<i>qcet2.5b</i>	5.03	66,90	SM0211A	P	P	26,97	2,47	5,48	B605	10,14	6,90
<i>qcet2.5c</i>	5.04	87,34	SM0635A	P	P	19,95	5,89	4,40	B605	6,53	4,45
<i>qcet2.6a</i>	6.04	68,54	SM0156C	P	P	23,92	0,44	4,01	B605	5,43	3,70
<i>qcet2.6b</i>	6.05	72,23	SM0728B	P	P	24,47	0,30	3,85	B605	5,00	3,40
<i>qcet2.6c</i>	6.05	76,53	SM0720D	P	P	18,60	0,52	3,83	B605	4,94	3,36

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qce) e testador (t2), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 14 - QTL mapeados em dois ambientes para diâmetro de espiga nos testecrosses obtidos do testador A36 (T1): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale. mm	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$ %	$R^2_F$ %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qdet1.3a</i>	3.03	52,47	SM0829D	P	P	29,31	1,77	-1,12	B532	8,75	6,35
<i>qdet1.3b</i>	3.04	63,71	SM0127A	P	P	45,38	9,72	-1,00	B532	6,97	5,06
<i>qdet1.3c</i>	3.04	70,15	SM0721C	P	P	55,84	<u>13,62</u>	-1,28	B532	11,53	8,37
<i>qdet1.3d</i>	3.05	75,52	SM0071A	P	P	26,06	2,27	-0,74	B532	3,88	2,81
<i>qdet1.4a</i>	4.02	0,01	SM0690A	P	P	21,37	2,34	-0,83	B532	4,87	3,53
<i>qdet1.4b</i>	4.04	29,82	SM0236C	P	A	16,70	<u>13,90</u>	0,01	B605	0,001	0,001
<i>qdet1.7a</i>	7.05	137,43	SM0139B	P	P	18,26	4,00	0,78	B605	4,31	3,13

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qde) e testador (t1), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 15- QTL mapeados em dois ambientes para diâmetro de espiga nos testecrosses obtidos do testador A17 (T2): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale. mm	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$ %	$R^2_F$ %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qdet2.1a</i>	1.01	7,69	SM0091B	A	A	19,80	<u>12,57</u>	-0,32	B532	0,62	0,47
<i>qdet2.1b</i>	1.03	61,34	SM0388B	P	P	19,33	8,22	0,44	B605	1,21	0,92
<i>qdet2.1c</i>	1.06	108,75	SM0145A	P	P	30,63	6,15	0,99	B605	5,97	4,56
<i>qdet2.2a</i>	2.06	91,90	SM0516A	A	P	21,99	<u>12,30</u>	0,51	B605	1,59	1,21
<i>qdet2.3a</i>	3.04	59,71	SM0127A	P	P	26,43	3,17	-0,83	B532	4,20	3,21
<i>qdet2.3b</i>	3.04	71,15	SM0721C	P	P	18,88	0,59	-0,62	B532	2,34	1,79
<i>qdet2.4a</i>	4.02	0,01	SM0690A	P	P	20,34	1,52	-0,90	B532	4,94	3,77

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qde) e testador (t2), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 16 - QTL mapeados em dois ambientes para comprimento de grãos nos testecrosses obtidos do testador A36 (T1): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$	$R^2_F$
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.	mm		%	%
<i>qcgt1.2a</i>	2.09	166,55	SM0357A	P	P	17,97	7,47	-0,18	B532	4,90	2,08
<i>qcgt1.3a</i>	3.03	52,47	SM0829D	P	P	21,11	1,63	-0,25	B532	9,99	4,24
<i>qcgt1.3b</i>	3.04	67,15	SM0721C	P	P	35,60	5,90	-0,25	B532	9,98	4,23
<i>qcgt1.4a</i>	4.04	29,82	SM0236C	P	P	17,69	5,15	-0,14	B532	3,24	1,38
<i>qcgt1.6a</i>	6.05	77,53	SM0720D	A	P	21,98	<u>11,66</u>	-0,20	B532	6,01	2,55
<i>qcgt1.7a</i>	7.05	135,43	SM0139B	P	P	16,80	3,72	0,18	B605	5,26	2,23

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qcg) e testador (t1), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 17- QTL mapeados em dois ambientes para comprimento de grãos nos testecrosses obtidos do testador A17 (T2): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$	$R^2_F$
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.	mm		%	%
<i>qcgt2.1a</i>	1.01	12,69	SM0091B	P	P	24,57	7,26	-0,22	B532	8,44	3,98
<i>qcgt2.1b</i>	1.01	20,02	SM0386A	P	P	22,21	4,87	-0,20	B532	7,53	3,55
<i>qcgt2.1c</i>	1.05	94,77	SM0251C	P	P	21,11	0,20	0,22	B605	9,00	4,24
<i>qcgt2.1d</i>	1.06	107,75	SM0145A	P	P	38,97	6,74	0,33	B605	19,58	9,23
<i>qcgt2.8a</i>	8.01	163,71	SM0558C	P	A	21,36	<u>17,49</u>	0,06	B605	0,62	0,29
<i>qcgt2.10a</i>	10.05	64,85	SM0204D	P	P	16,84	8,04	-0,17	B532	5,28	2,49

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qcg) e testador (t2), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

### 2.2.2.3 Interação QTL x ambiente

Apenas 15% de todos os QTL mapeados neste estudo apresentaram interação QTL x ambiente, ou seja, os efeitos destes QTL não foram estáveis nos diferentes ambientes. Dos 21 QTL mapeados para o caráter PG, 23% apresentaram interação significativa com ambiente. Todos os QTL mapeados nos T1 não apresentaram interação, mas dos 11 QTL mapeados nos T2, 45% apresentaram interação, evidenciando o efeito do testador na interação QTL x ambiente. A presença de QTL interagindo com o ambiente era esperada para ambos os grupos de testecrosses, devido à significância das interações T1 x A e T2 x A detectada na análise de variância. A ausência de QTL interagindo com ambiente nos T1 indica que os locos responsáveis pela interação T1 x A altamente significativa podem não ter sido mapeados neste estudo, uma vez que os QTL mapeados não explicaram toda a variância fenotípica encontrada para este caráter.

Os QTL de maior efeito para PG, *qpqt1.3b*, *qpqt1.9a*, *qpqt2.7a* e *qpqt2.9a*, responsáveis por 5, 5,94, 5,69 e 5,64% da variância fenotípica, respectivamente, foram estáveis, ou seja, não tiveram interação significativa com os ambientes. Já os 5 QTL que apresentaram interação, *qpqt2.2b*, *qpqt2.2c*, *qpqt2.4a*, *qpqt2.4b* e *qpqt2.8a*, responsáveis por 1,04, 1,27, 0,33, 0,35 e 1,41% da variância fenotípica, respectivamente, estão entre os QTL de menores efeitos. Estes resultados evidenciam que QTL de pequeno efeito são mais influenciados pelo ambiente, o que está de acordo com a natureza quantitativa deste caráter (Tabelas 8 e 9).

Os componentes de produção também apresentaram baixa interação QTL x ambiente. Dos 65 QTL mapeados para esses caracteres, apenas 12% apresentaram interação significativa com ambiente. O DE apresentou a maior interação (28%), seguido pelo CG com 16%, NF com 5,8% e CE com 4,5%. Os QTL que interagiram com o ambiente nos T1 foram distintos dos que interagiram nos T2, sugerindo que não ocorreu efeito do testador na interação QTL x ambiente para os componentes de produção. Apesar de não ter sido detectada interação T1 x A para CE e T2 x A para NF, DE e CG na análise de variância, alguns dos QTL mapeados interagiram com o ambiente para estes caracteres em ambos os grupos de testecrosses. No entanto,



como a maioria destes QTL apresentaram pequeno efeito, indica que eles contribuíram pouco para as variâncias das interações T1 x A e T2 x A (Tabelas 10 a 17).

Em geral os QTL de maior efeito foram mais estáveis que os QTL de pequeno efeito, tanto para PG quanto para os componentes de produção, sugerindo que QTL de maior efeito são mais estáveis nos diferentes ambientes. Entretanto, a determinação de um QTL como estável deve ser vista com cautela, uma vez que é específica para as condições dos ambientes onde os genótipos foram avaliados, muitas vezes necessitando de estudos complementares para validar a estabilidade em outras épocas e locais. Além disso, a PG apresentou efeito do testador na interação QTL x A e magnitude da interação mais alta que os componentes de produção, demonstrando ser um caráter mais complexo para a seleção. Sendo assim, os QTL estáveis, mapeados para os componentes correlacionados com a PG, poderiam ser utilizados tanto para desenvolver híbridos com produção de grãos mais estáveis quanto para seleção indireta para PG.

#### **2.2.2.4 Coincidência de QTL mapeados entre caracteres**

O estudo de caracteres correlacionados tem grande importância para o melhoramento, pois a seleção para um desses caracteres implica em alteração no outro. A ocorrência de regiões genômicas responsáveis pela expressão de mais de um caráter pode estar relacionada à pleiotropia ou à ligação genética de dois ou mais QTL. Entretanto, é importante salientar que as coincidências de QTL mapeados no mesmo intervalo apenas sugerem a presença de possíveis efeitos pleiotrópicos ou ligação entre eles, sendo necessário lançar mão de delineamentos e modelos mais elaborados para detectar estes efeitos. Neste estudo, foram identificadas 11 regiões que apresentaram coincidência entre as posições dos QTL mapeados para os diferentes caracteres dentro de um mesmo grupo de testecrosses, sendo 5 regiões nos T1 e 6 regiões nos T2. Estas regiões estão distribuídas nos cromossomos 1, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 sendo mais frequentes no cromossomo 1, e menos frequentes nos cromossomos 5, 7 e 8 que apresentaram apenas 1 região coincidente. Dentro de um mesmo grupo de testecrosses não foi encontrada nenhuma região coincidente entre mais de 2

caracteres. Dos 21 QTL mapeados para PG, 7 (33%) foram coincidentes com algum componente de produção. Nos T1, foram mapeadas 3 regiões coincidentes, sendo uma entre PG e cada um dos caracteres CE, DE e CG. Nos T2, foram mapeadas 4 regiões coincidentes, sendo uma entre PG e cada um dos caracteres DE e CG e 2 entre PG e NF. Entre os componentes de produção foram identificadas apenas 4 regiões coincidentes, ou seja, 6% do total de 65 QTL mapeados para estes caracteres. Nos T1, foram mapeadas 2 regiões coincidentes entre DE e CG e nos T2, 1 região entre CE e CG e outra entre CE e NF (Tabelas 18 e 19).

Tendo em vista as elevadas magnitudes das correlações genéticas entre PG e a maioria dos caracteres, esperava-se um maior número de QTL co-localizados. Isto pode ter ocorrido devido ao método utilizado nas análises de mapeamento (mCIM) pressupor apenas 1 QTL por intervalo que pode não condizer com a realidade, principalmente entre intervalos maiores. De tal modo que dois locos no mesmo intervalo, controlando simultaneamente dois caracteres, podem apresentar combinações de efeitos positivos dos dois locos para o caráter X e positivo em um loco e negativo em outro para o caráter Y, resultando em baixa magnitude do efeito para este último caráter e assim mapear apenas um QTL para apenas um dos caracteres neste intervalo. Uma das maneiras de solucionar este problema seria a utilização de mapas mais saturados, objetivando separar os locos em questão. Outra razão para a baixa detecção de QTL coincidentes entre caracteres significativamente correlacionados poderia ser a limitação dos modelos matemáticos em explicar toda a variância genética dos caracteres (UPADYAYULA et al. 2006).

Tabela 18 - Regiões genômicas de coincidência entre as posições de QTL mapeados para diferentes caracteres nos testecrosses cruzados com a linhagem testadora A36 (T1)

Cromossomo	Caracteres <sup>a</sup>	QTL	TRV	IC		Marcador	Bin
3	PG	<i>qpqt1.3c</i>	17,73	13,12	22,34	SM0829D	3.03
	CG	<i>qcgt1.3a</i>	21,11	16,50	25,72		
3	DE	<i>qdet1.3d</i>	26,06	21,45	30,67	SM0071A	3.05
	PG	<i>qpqt1.3a</i>	24,86	20,25	29,47		
4	CG	<i>qcgt1.4a</i>	17,69	13,08	22,30	SM0236C	4.04
	DE	<i>qdet1.4b</i>	16,70	12,09	21,31		
5	CE	<i>qcet1.5a</i>	25,20	20,59	29,81	SM0105C	5.06
	PG	<i>qpqt1.5a</i>	27,02	22,41	31,63		
7	CG	<i>qcgt1.7a</i>	16,80	12,19	21,41	SM0139B	7.05
	DE	<i>qdet1.7a</i>	18,26	13,65	22,87		

<sup>a</sup>PG, CE, DE e CG referem-se aos caracteres produção de grãos, comprimento e diâmetro de espiga e comprimento de grãos, respectivamente.

Tabela 19 - Regiões genômicas de coincidência entre as posições de QTL mapeados para diferentes caracteres nos testecrosses cruzados com a linhagem testadora A17 (T2)

Cromossomo	Caracteres <sup>a</sup>	QTL	TRV	IC		Intervalo	Bin
1	CE	<i>qcet2.1d</i>	21,79	17,18	26,40	SM0251C	1.05
	CG	<i>qcgt2.1c</i>	21,11	16,50	25,72		
3	PG	<i>qpqt2.3b</i>	22,10	17,49	26,71	SM0721C	3.04
	DE	<i>qdet2.3b</i>	18,88	14,27	23,49		
4	NF	<i>qnft2.4d</i>	20,28	15,67	24,89	SM0900B	4.08
	PG	<i>qpqt2.4b</i>	18,80	14,19	23,41		
4	PG	<i>qpqt2.4a</i>	19,15	14,54	23,76	SM0828C	4.08
	NF	<i>qnft2.4e</i>	22,67	18,06	27,28		
6	NF	<i>qnft2.6a</i>	27,64	23,03	32,25	SM0156C	6.04
	CE	<i>qcet2.6a</i>	23,92	19,31	28,53		
8	CG	<i>qcgt2.8a</i>	21,36	16,75	25,97	SM0558C	8.01
	PG	<i>qpqt2.8a</i>	25,61	21,00	30,22		

<sup>a</sup>PG, CE, DE e CG referem-se aos caracteres produção de grãos, comprimento e diâmetro de espiga e comprimento de grão, respectivamente.

### 2.2.2.5 Implicações para o melhoramento

O presente estudo demonstrou que as variâncias genéticas e coeficientes de herdabilidade dos testecrosses para PG, DE e CG não diferiram com a utilização de testadores do mesmo grupo heterótico. Entretanto, para NF e CE as magnitudes destes parâmetros variaram com o testador utilizado, sendo menores para o caráter NF e maiores para o caráter CE nos testadores A36 e A17, respectivamente. Logo, mesmo sendo do mesmo grupo heterótico, os testadores diferiram quanto à complementariedade com os alelos da população para estes dois caracteres. Uma vez que a resposta à seleção é função da magnitude do coeficiente de herdabilidade, os caracteres NF e CE apresentaram as maiores diferenças de resposta entre os dois grupos de testecrosses. A resposta à seleção nos T2 foi 28% superior aos T1 para NF e 34% inferior aos T1 para o CE. O DE foi o caráter com maior correlação genética com a PG em ambos os grupos de testecrosses. As correlações genéticas entre PG e os caracteres NF, CE e CG foram afetadas pelo testador, em que o testador A36 quando comparado ao A17, apresentou menores magnitudes das correlações genéticas para NF e maiores para CE e CG. A seleção indireta para PG foi menos eficiente que a seleção direta para todos os componentes de produção em ambos os grupos de testecrosses. Como a resposta correlacionada à seleção depende da correlação genética e da magnitude do coeficiente de herdabilidade, a seleção indireta do DE, com vistas a aumentar a PG, apresentou a maior proporção da seleção direta, tanto nos T1 (98%) quanto nos T2 (92%). Os componentes NF, CE e CG, por terem as magnitudes dos coeficientes de herdabilidade e as correlações genéticas afetadas pelo testador, apresentaram diferentes valores da seleção indireta para PG. Considerando a dificuldade de mensuração da PG, estes resultados demonstram que a utilização dos componentes de produção na seleção indireta para PG é uma alternativa para viabilizar a seleção desse caráter nas fases iniciais dos programas de melhoramento. Todavia, devido ao efeito do testador na eficiência da seleção indireta da maioria dos componentes de produção, seria necessário considerar a eficiência de cada componente específica por testador. Nos T1 a segunda maior eficiência da seleção indireta para aumentar a PG foi obtida para o CE (84%), seguida pelo CG (64%) e NF

(26%). Já nos T2, a segunda maior eficiência foi obtida para o CG (80%), seguida pelo NF (65%) e CE (54%). Assim, as eficiências com a seleção indireta obtida para os diferentes componentes de produção, poderiam ser consideradas em índices de seleção específicos para cada testador.

O método de mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes (mCIM) permitiu mapear 86 QTL para os cinco caracteres avaliados nos dois grupos de testecrosses e dois ambientes. O número de QTL mapeados por ambiente foi semelhante à maioria dos trabalhos de mapeamento de QTL em testecrosses, tanto utilizando o método de mapeamento CIM quanto o mCIM (MELCHINGER et al, 1998; AUSTIN et al., 2000; AJMONE-MARSAN et al., 2001; SANTOS, 2008). Todavia, o número total de QTL mapeados para PG foi inferior ao trabalho de Santos (2008) que utilizou maior número de ambientes. Isto pode ter ocorrido pelo fato do método de mapeamento utilizado (mCIM) permitir mapear QTL específicos por ambiente e por isso, aumentar o número total de QTL mapeados em estudos com um grande número de ambientes. Segundo Austin e Lee (1998) a utilização de médias de diversos ambientes tem como vantagem identificar apenas os QTL estáveis, enquanto que o método mCIM além de mapear QTL estáveis ao longo dos ambientes, permite mapear QTL específicos por ambiente que igualmente poderiam ser utilizados no melhoramento assistido por marcadores moleculares em um ambiente específico. O mCIM propiciou mapear QTL de pequeno efeito na expressão dos caracteres em ambos os testecrosses, sendo que a proporção da variância fenotípica explicada variou de 0,001% para DE a 12,19% para NF.

Os testadores utilizados não afetaram o mapeamento no número de QTL mapeados para os caracteres PG, DE e CG, mas afetaram para NF e CE. A principal causa da diferença no número de QTL mapeados foi a variabilidade genética dos testecrosses. Este fato foi evidente para NF, visto que os T2 apresentaram uma maior variabilidade genética e 7 QTL mapeados a mais em relação aos T1. Para o CE, os T1 apresentaram maior variabilidade genética e 2 QTL a mais que os T2. Além disso, ocorreram diferenças nas posições dos QTL mapeados para todos os caracteres. Portanto, estes resultados demonstram que mesmo sendo testadores do mesmo grupo

heterótico, houve efeito do testador no número de QTL mapeados, para NF e CE e na posição para todos os caracteres.

A estratégia de mapeamento de QTL em testecrosses tem sido cada vez mais incorporada como rotina nos programas de melhoramento. A população deste estudo foi obtida da mesma forma que nos programas de melhoramento com objetivo de explorar a heterose, ou seja, foram cruzadas linhagens do mesmo grupo heterótico e contrastantes para os caracteres de interesse, para obtenção da população base e, após certo nível de endogamia, cruzadas com testadores de grupo heterótico oposto para dar origem aos testecrosses. Neste estudo, esta estratégia mostrou-se eficiente para geração de variabilidade e conseqüentemente para o mapeamento de QTL. Entretanto, devido ao efeito do testador, fica evidente a necessidade de se utilizar mais de um testador no mapeamento com o objetivo de identificar QTL pouco ou não afetados pelo testador ou até mesmo QTL específicos para determinado testador.

Uma das características que aumenta a complexidade dos caracteres quantitativos é a interação genótipo x ambientes (LIMA et al., 2006). A proporção de QTL interagindo com ambiente foi relativamente baixa (15%) quando comparado a trabalhos que utilizaram um maior número de ambientes (MELCHINGER et al, 1998; LIMA et al., 2006; BENTO, 2006; SANTOS, 2008, BELICUAS, 2009). Dos 13 QTL que apresentaram interação significativa apenas 3 (23%) explicaram mais de 1,5% da variância fenotípica. Estes 3 QTL representam somente 4% do total de 70 QTL mapeados explicando mais de 1,5% da variância fenotípica, evidenciando que QTL de pequeno efeito são mais influenciados pelo ambiente. Além disso, os componentes de produção apresentaram menor proporção (12%) quando comparados com a PG (24%). Para PG, em que foram detectadas diferenças altamente significativas para interação testecrosses x ambiente em ambos os grupos de testecrosses, foram mapeados 45% de QTL interagindo com o ambiente nos T2 e nenhum nos T1. Como o método de mapeamento não conseguiu explicar toda a variância genética presente, possivelmente os locos responsáveis pela interação não foram detectados nos T1. Apesar da maioria dos QTL mapeados neste estudo não terem apresentado interação QTL x ambiente, a avaliação em um maior número de locais e anos é necessária para mensurar a

estabilidade destes QTL considerando um maior número de ambientes e validar para os ambientes já avaliados.

Os resultados dos coeficientes de correlações genéticas demonstraram alta associação entre produção de grãos e a maioria dos caracteres avaliados neste estudo, o que têm sido demonstrado em diversos trabalhos publicados na literatura (ORDAS; STUCKER, 1977; SALAZAR; HALLAUER, 1986; HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1988; AUSTIN; LEE, 1998; ARIAS; SOUZA JÚNIOR; TAKEDA, 1999; ALVES; RAMALHO; SOUZA, 2002; AGUIAR, 2003; LIMA et al, 2006). Por esta razão, esperava-se um maior número de QTL coincidentes entre a PG e os componentes de produção. Conforme discutido anteriormente, o modelo de mapeamento por intervalo composto (CIM) e a limitação do mapeamento de QTL em explicar uma maior fração da variância fenotípica dos caracteres são possíveis causas do baixo número de QTL coincidentes.

Tanto para PG quanto para os componentes de produção, a fração da variância fenotípica explicada por cada QTL ( $R_F^2$ ) foram baixas. Adotando um critério de selecionar QTL estáveis nos dois ambientes e com ( $R_F^2$ ) igual ou acima de 5%, foram selecionados os seguintes QTL, os quais seriam candidatos para uso em programas de seleção assistida por marcadores: *qpqt1.3b* (5%), *qpqt1.9a* (5,94%), *qpqt2.7a* (5,69%) e *qpqt2.9a* (5,64%) para PG, *qnft1.6a* (9,19%), *qnft1.6c* (6,30%), *qnft2.1a* (12,19%), *qnft2.1b*(10,03%), *qnft2.1c* (6,34%), *qnft2.4a* (7,51%), *qnft2.4b* (6,66%), *qnft2.4e* (5,35%), *qnft2.6a* (8,09%) para NF; *qcet1.4a* (7,02%); *qcet1.9a* (10,48%); *qcet2.5a* (8,44%) e *qcet2.5b* (6,90%) para CE; *qdet1.3a* (6,35%) e *qdet1.3b* (5,06%) para DE e *qcgt2.1d* (9,23%) para CG.

Diversas estratégias de seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) têm sido reportadas na literatura (STUBER; SISCO 1991; RIBOUT et al, 2007; BERNARDO, 2008; COLLARD; MACKILL, 2008; HOSPITAL, 2008). Todas as estratégias possuem como idéia central o piramidamento de alelos favoráveis usando marcadores ligados a QTL. O presente estudo obteve como resultado muitos QTL de pequeno efeito no controle dos caracteres, tanto da produção de grãos quanto dos componentes de produção. Duas estratégias têm sido propostas para utilização de vários QTL na seleção assistida de caracteres quantitativos, a saber, o enriquecimento de  $F_2$  (BONNETT et al. 2005; WANG et al. 2007) e a seleção recorrente assistida por

marcadores (MARS – Marked-assisted recurrent selection) (HOSPITAL et al. 1997; JOHNSON, 2004; BERNARDO & CHARCOSSET, 2006). No enriquecimento de  $F_2$  é feita uma seleção das plantas que possuem uma maior frequência de marcadores ligados aos QTL de interesse. Em seguida, as progênies previamente selecionadas por meio de marcadores moleculares seguem o processo normal de seleção fenotípica. Uma importante vantagem desta estratégia é a redução do número de progênies a serem avaliadas nos primeiros ciclos de seleção.

Bernardo (2008), utilizando dados de simulação, demonstrou que aumentando a frequência de alelos favoráveis de 10 QTL não ligados, de 0,5 para 0,67, aumenta-se a probabilidade de obtenção de uma linhagem recombinante contendo alelos favoráveis para os 10 QTL, de 1/1024 para 1/55 das linhagens recombinantes. Entretanto, este mesmo autor ressalva que para um maior número de QTL, a frequência de 0,67 pode não ser suficiente alta para aumentar significativamente a probabilidade de obtenção de linhagem recombinante para todos os QTL de interesses se o número de QTL for superior a 15. Esta limitação pode ser contornada na MARS, em que sucessivos ciclos de seleção são realizados com o objetivo de aumentar a frequência dos marcadores ligados a QTL de interesse (EDWARDS & JOHNSON, 1994, JOHNSON, 2004; EATHINGTON et al. 2007, BERNARDO, 2008). Resultados sobre a eficiência da MARS podem ser encontrados na literatura. Moreau et al. (2004) e Openshaw e Frascaroli (1997) demonstraram pequena ou nenhuma vantagem da MARS sobre a seleção fenotípica. Em contraste, vários estudos reportaram sucesso na utilização de MARS em programas de melhoramento de milho de empresas privadas (JOHNSON, 2004; EATHINGTON et al., 2007). Portanto, o enriquecimento de  $F_2$  e a MARS são estratégias que demonstram um grande potencial para aplicação dos resultados do mapeamento de QTL nos programas de melhoramento de caracteres quantitativos. Entretanto, estas estratégias devem ser sempre utilizadas em conjunto com a seleção fenotípica com o objetivo de aumentar a eficiência da seleção nos programas de melhoramento.

Outro método proposto para seleção de caracteres quantitativos em plantas é a seleção genômica ampla (GWS – Genome wide selection) (BERNARDO; YU 2007). Basicamente, ele diferencia-se da MARS por não exigir conhecimento prévio da posição



dos QTL (mapa genético) e utilizar todos os marcadores para estimar os valores genotípicos dos indivíduos (MEUWISSEN et al., 2001; BERNARDO, 2008; RESENDE et al., 2008). Este método pode ser implantado nos programas de melhoramento da mesma forma que a MARS, ou seja, através de sucessivos ciclos de seleção para aumentar a frequência de marcadores ligados a QTL de interesse. Bernardo e Yu (2007), utilizando dados simulados com diferentes números de locos e magnitudes dos coeficientes de herdabilidade para comparar MARS e GWS, obtiveram resposta à seleção 18 a 43% superior na GWS, demonstrando ser um método promissor para seleção de caracteres controlados por um grande número de QTL de pequeno efeito.

## Referências

AGUIAR, A.M. **Uso do Delineamento III com marcadores moleculares para a análise genética da produção de grãos e seus componentes em milho**. 2003. 127 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

AJMONE-MARSAN, P.; MONFREDINI, G.; LUDWIG, W.F.; MELCHINGER, A.E.; FRANCESCHINI, P.; MOTTO, M. Identification of genomic regions affecting plant height and their relationship with grain yield in an elite maize. **Maydica**, Bergamo, v. 39, n. 2, p. 133-139, 1994.

AJMONE-MARSAN, P.; MONFREDINI, G.; LUDWING, W.F.; MELCHINGER, A.E.; FRANCESCHINI, P.; PAGNOTTO, G.; MOTTO, M. In an elite cross of maize a major quantitative trait locus controls one-fourth of the genetic variation for yield. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 90, n. 3-4, p. 415-424, 1995.

AJMONE-MARSAN, P.; GORNI, C.; CHITTÒ, A.; REDAELLI, R.; van VIJK, R.; STAM, P.; MOTTO, M. Identification of QTLs for grain yield and grain-related traits of maize (*Zea mays* L.) using an AFLP map, different testers, and cofactor analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 103, n. 2-3, p. 230-243, 2001.

ALVES, G. F.; RAMALHO, M. A. P.; SOUZA, J. C. Alterações nas propriedades genéticas da população CMS-39 submetida à seleção massal para a prolificidade. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 89-101, 2002.

ARIAS, C.A.A.; SOUZA JÚNIOR, C.L. de; TAKEDA, C. Path coefficient analyses of ear weight in different types of progeny in maize. **Maydica**, Bergamo, v. 44, n. 3, p. 251-262, 1999.

AUSTIN, D.F.; LEE, M. Detection of quantitative loci for grain yield and yield components in maize across generation in stress and nonstress environment. **Crop Science**, Madison, v. 38, p. 1296-1308, 1998.

AUSTIN, D.F.; LEE, M.; VELDBOOM, L.R.; HALLAUER, A.R. Genetic mapping in maize with hybrid progeny across testers and generations: Grain yield and grain moisture. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 30-39, 2000.

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

BASTEN, C.J., WEIR, B.S.; ZENG, Z.-B. **QTL Cartographer**. Raleigh: Department of Statistics, North Carolina State University, 2001. 161 p.

BEAVIS, W. D.; SMITH, O. S.; GRANT, D.; FINCHER, R. Identification of quantitative trait loci using a small sample of topcrossed and F<sub>4</sub> progeny from maize. **Crop Science**, Madison, v. 34, p 882-896, 1994.

BELICUAS, P.R. **Estudo da herança dos caracteres Stay-green, produção e seus componentes em milho utilizando o delineamento III e mapeamento de QTL**. 2009, 97p. Tese (Doutorado em Agronomia em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BENTO, D.A.V.; RAMALHO, M.A.P.; SOUZA, J.C. Seleção massal para prolificidade em milho na época normal e na “safrinha”. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 3, p. 78-87, 2003.

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

BERNARDO, R.; CHARCOSSET, A. Usefulness of gene information in marker-assisted recurrent selection: A simulation Appraisal. **Crop Science**, Madison, v. 46, p. 614-621, 2006.

BERNARDO, R; YU, J. Prospects for genome wide selection for quantitative traits in maize. . **Crop Science**, Madison, v. 47, p. 1082-1090, 2007.

BERNARDO, R. Molecular markers and selection for complex traits in plants: learning from the last 20 years. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 1649-1664, 2008.

BLANC, G.; CHARCOSSET, A.; MANGIN, B.; GALLAIS, A.; MOREAU L.. Connected populations for detecting quantitative trait loci and testing for epistasis: An application in maize. **Theoretical and applied genetics**, New York, v. 113, p. 206-224, 2006.

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

BONNETT, D. G.; REBETZKE, G. J. SPIELMEYER, W. Strategies for efficient implementation of molecular markers in wheat breeding. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 15, p. 75-85, 2005.

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

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

COLLARD, B. C. Y.; MACKILL, D. J. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. **Philosophical Transactions of Royal Society of London**, London, v. 363, p. 557-572, 2008.

COMSTOCK, R. E. Quantitative genetics in maize breeding. In: WALDEN D. B. **Maize Breeding and Genetics**, New York, 1978, p. 191-206.

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

DELLAPORTA S. L.; WOOD J.B.; HICKS, J.B. A plant DNA miniprep: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, Tucson, v. 1, p. 19-21, 1983.

EATHINGTON, S. R.; CROSBIE, T. M.; EDWARDS, M. D.; REITER, R. W.; BULL, J.K. Molecular markers in a commercial breeding program. **Crop Science**, Madison, v. 47, p. 154-163, 2007.

EDWARDS, M.; JOHNSON, L. RFLPs for rapid recurrent selection. In: **Procedures Joint Plant Breeding Symposium Series of CSSA and ASHA**, Alexandria: American Society of Horticulture Science, 1994. p. 33-40.

FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to Quantitative Genetics**. 4<sup>th</sup> ed. London: Longman Scientific e Technical, 1996. 464 p.

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

FRASCAROLI, E.; CANÈ, M.A.; LANDI, P.; PEA, G.; GIANFRANCESCHI, L.; VILLA, M.; MORGANTE, M. PÈ, M.E. Classical genetic and quantitative trait loci analyses of heterosis in a maize hybrid between two elite inbred lines. **Genetics**, Baltimore, v. 176, p. 625-644, 2007.

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

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

HAN, G-C; HALLAUER, A.R. Estimates of genetic variability in F<sub>2</sub> maize populations. **The Journal of the Iowa Academy of Science**, Beltsville, v. 96, p. 14-19, 1989.

HANSEN, L.A.; BAGGETT, J.R.; ROWE, K. Quantitative genetic analysis of ten characteristics in sweet corn (*Zea mays* L.). **Journal of American Society for Horticultural Science**, Stanford, v. 102, n.2, p. 158-162, 1977.

HOSPITAL, F.; MOREAU, L.; LACOUDRE, F.; CHARCOSSET, A.; GALLAIS, A. More on the efficiency of marker-assisted selection. **Theoretical Applied Genetics**, New York, v. 95, p. 1181-1189, 1997.

HOSPITAL, F. Challenges for effective marker-assisted selection in plants. **Genetica**, Dordrecht, DOI 10.1007/s10709-008-9307-1, 2008.

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

HUELSEN, W.A. Sweet corn. In: **Economic Crops**. New York: Interscience, 1954. 409 p.

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

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

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

KAUKIS, K.; DAVIS, D.W. Sweet corn breeding. In: BASSETT, M.J. **Breeding vegetable crops**. Connecticut: The Avi Publishing Company, 1986. p. 477-512.

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

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

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

LIVAK, K.J. Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay, **Genetic Analysis**, Boston, v. 14, p. 143-149, 1999.

LÜBBERSTEDT, T.; MELCHINGER, A.E.; SCHÖN, C.C.; UTZ, F.; KLEIN, D. QTL Mapping in testcrosses of European flint lines of maize: I. comparison of different testers for yield traits. **Crop Science**, Madison, v. 37, n.3, p. 921-931, 1997.

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

MELCHINGER, A. E.; UTZ, H. SCHÖN, C. C. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals low power of QTL detection and larger bias in estimates of QTL effects. **Genetics**, Baltimore, v. 149, n. 1, p. 383-343, 1998.

MEUWISSEN, T.H.E.; HAYES, B.J.; GODDARD, M.E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, Austin, v. 157, p. 1819-1829, 2001.

MIRANDA FILHO, J.B.; VENCOSKY, R. **Variance among testcrosses**. Piracicaba: USP/ESALQ, Departamento de Genética, 2001. 11 p. (publicação Didática).

MOREAU, L.; CHARCOSSET, A.; GALLAIS, A. Experimental of several cycles of marker-assisted selection in maize. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 111-118, 2004.

OPENSHAW, S.; FRASCAROLI, E. QTL detection and marker-assisted selection for complex traits in maize. In: **Proceedings of the 52<sup>nd</sup> Annual corn And Sorghum research Conference**. Washington: American Seed Trade Association, 1997. p. 44-53.

ORDAS, A.; STUCHER, R. E. Effect of planting density on correlations among yield and its components in two corn populations. **Crop Science**, Madison, v. 17, p. 926-929, 1997.

PROVINCE, M.A. Sequential methods of analysis for genome scans. **Advances in Genetics**, New York, v. 42, p. 499-514, 2001.

RESENDE, M.D.V; LOPES, P.S.; SILVA, R.L. da; PIRES, I.E. Seleção Genômica Ampla (GWS) e Maximização da Eficiência do Melhoramento Genético. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n.56, p. 63-77, Jan/Jun. 2008.

SALAZAR, A.M.; HALLAUER, A.R. Divergent mass selection for ear length in maize. **Revista Brasileira de Genética**, Riberirão Preto, v. 2, n. 9. P. 281-294, 1986.

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

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

SEARLE, S.P.; CASELA, G.; MACCULLOCK. **Variance components**. New York: John Wiley & Sons, 1992. 501 p.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw-Hill Book, 1980. 633 p.

STUBER, C.W.; SISCO, P. H. Marker-facilitated transfer of QTL alleles between elite inbred lines and responses in hybrids. In: **Annual Corn & Sorghum Research Conference**. Chicago: ASTA, 1991. p. 105-113.

TANKSLEY, S.D. YOUNG, N.D. PATERSON, A.H. BONIERBALE, M.W. RFLP mapping in plant breeding: New tools for and old science. **Biotechnology**, New York, v. 7, p. 257-264, 1989.

UPADYAYULA, N.; da SILVA, H. S.; BOHN, M. O.; ROCHEFORD, T. R. Genetic and QTL analysis of maize tassel and ear inflorescence architecture. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 112, n. 4, p. 592-606, 2006.

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

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade brasileira de genética, 1992. 496 p.

VIERA, C.; PASYUKOVA, E.G.; ZENG, Z.B.; HACKETTE, J.B.; LYMAN, R.F.; MACKAY, T.F.C. Genotype-environment interactions for quantitative trait loci affecting life span in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**, Baltimore, v. 154, p. 213-227, 2000.

WANG, J.; CHAPMAN, S. C. BONNETT, D. G.; REBETZKE, G. J.; CROUCH, J. Application of population genetic theory and simulation models to efficiently pyramid multiple genes via marker-assisted selection. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 805-811, 2007.

WOLF, D.P.; PETERNELLI, L.A.; HALLAUER, A.R. Estimates of genetic variance in a F<sub>2</sub> maize population. **The Journal of Heredity**, Baltimore, v. 91, p. 384-391, 2000.

WONG A.D.; JUVIK J.A.; BREEDEN D.C.; SWIADER J.M. Shrunken2 sweet corn yield and chemical components of quality. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Stanford, v. 119, n.4, p. 747-755, 1994.

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





### 3 MAPEAMENTO DE QTL PARA QUALIDADE DE GRÃOS EM TESTECROSSES DE MILHO DOCE

#### Resumo

A qualidade do grão em milho doce é determinada pela sua aparência e sabor. Esses caracteres são complexos, em que a coloração é o principal componente da aparência e a maciez e doçura do sabor dos grãos. O mapeamento de QTL é uma ferramenta poderosa para gerar conhecimento sobre a herança genética desses caracteres e mapear QTL que possam ser utilizados em programas de seleção assistida por marcadores moleculares. O presente estudo teve como objetivo mapear QTL em testecrosses de milho doce para qualidade de grãos e avaliar o efeito de testador e de ambiente no mapeamento de QTL. Para tanto, foi utilizada uma população  $F_{4:5}$  obtida do cruzamento entre duas linhagens do mesmo grupo heterótico e contrastantes para diversos caracteres, B532 e B605. Duzentas e cinquenta e seis progênies  $F_{4:5}$  foram genotipadas com marcadores moleculares SNP para construção do mapa genético. Elas foram cruzadas com dois testadores, A36 e A17, de grupo heterótico distinto do grupo da população. Os testecrosses obtidos foram avaliados em dois ambientes, Uberlândia, MG e Itatiba, SP, em delineamento látice simples 16x16. Os caracteres avaliados foram coloração de grãos (CL), maciez de grãos (MC) e doçura de grãos (DÇ). O método de mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes (mCIM) foi utilizado para mapear QTL e detectar a interação QTL x ambiente. Foram mapeados 30 QTL, sendo 11 para CL, 11 para MC e 8 para DÇ. Todos os QTL explicaram menos de 10% da variância fenotípica dos caracteres, evidenciando a natureza quantitativa destes caracteres. Foi mapeada apenas uma região coincidente entre os grupos de testecrosses, demonstrando alta interação QTL x testador. As correlações genéticas entre PG e os caracteres de qualidade foram baixas e apenas um QTL foi mapeado entre estes caracteres, indicando que a PG pode ser selecionada independentemente destes caracteres. Foi detectada alta correlação negativa entre CL e MC, em ambos os grupos de testecrosses, indicando que a seleção para coloração mais clara aumenta a maciez de grãos. O caráter DÇ apresentou maior número de QTL interagindo com o ambiente quando comparado aos demais caracteres, demonstrando ser um caráter complexo e, portanto, exige avaliação em várias épocas e locais para selecionar QTL estáveis ou específicos para determinado ambiente. Seis QTL foram estáveis nos dois ambientes e apresentaram efeitos acima de 5%, podendo ser considerados em programas de seleção assistida por marcadores moleculares.

Palavras-chave: *Zea mays*; Mapeamento por intervalo; Sensorial; Qualidade; Seleção assistida



## QTL MAPPING FOR KERNEL QUALITY IN TESTECROSSES OF SWEET CORN

### Abstract

Sweet Corn eating quality is determined by kernel appearance and flavor. These two traits are complex, where color is the main component of the appearance and tenderness and sweetness of the flavor. QTL mapping is a powerful tool that allows generating genetic knowledge and mapped QTL that can be used in marker assisted selection programs. This study aimed to map QTL in sweet corn testecrosses for kernel quality and to evaluate the effect of the tester and the environment in QTL mapping. For this study a population was developed by crossing lines B532 and B605, from the same heterotic group and contrasting for different traits. Two hundred and fifty-six  $F_{4:5}$  progenies were genotyped with SNP markers in order to construct the genetic map and crossed with the testers A36 and A17 from a different heterotic group of the population. The obtained testecrosses were evaluated in two environments, Uberlândia, MG, e Itatiba, SP, in a simple lattice design 16 x 16. The traits evaluated were: kernel color (CL); kernel tenderness (MC) and kernel sweetness (DÇ). The composite interval mapping extended to multiple environments (mCIM) was used to map QTL and to detect the interaction QTL x environment. Thirty QTL were identified; 11 for CL, 11 for MC and 8 for DÇ. All QTL accounted for less than 10% of the phenotypic variance of the traits, showing evidence of the quantitative nature of these traits. When comparing the QTL identified in each of the two groups of testecrosses only one QTL was identified, demonstrating the high QTL x tester interaction. Genetic correlations between PG and quality traits were low and only one QTL was co-localized for these traits, indicating that the PG can be selected independently of the quality traits. CL and MC showed high negative correlation in both groups of testecrosses, indicating that the selection for lighter kernel colors might enhances kernel tenderness. The trait DÇ presented a larger number of QTL interacting with the environment when compared to other traits, showing further evidence of this trait complexity and suggesting the need for evaluation in different locations and years to select stable QTL or specific to a particular environment. Six QTL were stable in both environments and presented effects above 5%, which could be considered to be implemented in marker assisted selection programs.

Keywords: *Zea mays*; Interval mapping; Sensory; Quality; Assisted selection



### 3.1 Introdução

A qualidade do grão em milho doce é determinada pela sua aparência e sabor. Diferentemente do milho comum, os grãos de milho doce são consumidos imaturos e com alto teor de umidade, constituindo-se principalmente do endosperma e da parede do ovário – pericarpo imaturo (TRACY, 2001). Genes que afetam a qualidade dos grãos em milho doce afetam estes dois tecidos quanto a sua aparência e sabor. Esses caracteres são complexos, em que a coloração é o principal componente da aparência e a maciez e doçura do sabor dos grãos. Deste modo, a qualidade do grão em milho doce é importante para os programas de melhoramento visando atender a demanda dos consumidores tanto do mercado para processamento industrial – enlatados e congelados – quanto do mercado para consumo em natura. Embora cultivares melhoradas estejam disponíveis no mercado, poucos estudos da herança destes caracteres tem sido relatados, o que reduz a eficiência dos programas de melhoramento desta cultura.

A coloração dos grãos de milho doce é associada pelo consumidor ao seu grau de maturidade. O amarelo mais claro é preferido pelo consumidor e está associado aos grãos novos e macios. Já o amarelo mais escuro tendendo ao laranja é associado a um milho duro, inapropriado para o consumo. Ela é composta pela pigmentação em três diferentes tecidos, pericarpo, camada de aleurona e endosperma. Os cultivares melhorados de milho doce normalmente possuem ausência de pigmentação no pericarpo e na camada de aleurona. Vários locos descritos na literatura são responsáveis pelo controle da pigmentação nesses tecidos. Dentre eles os mais importantes são o loco *p1*, localizado no cromossomo 1, bin 1.03, em que o genótipo homocigoto *p1-ww* confere ausência de produção de antocianina no pericarpo (COE, 1984; GROTEWOLD et al., 1994) e o loco *c1*, localizado no cromossomo 9, bin 9.01 que inibe a produção de antocianina na camada de aleurona (FORD, 2000). Uma vez que o germoplasma de milho doce possui os locos em homocigose para a ausência de pigmentação no pericarpo e na camada de aleurona, o que determina a coloração dos grãos é a pigmentação no endosperma. O loco *y1* foi um dos primeiros descritos para a coloração do endosperma em milho (COE et al., 1988), o qual foi localizado no

cromossomo 6, bin 6.01 (BUCKNER et al., 1996; GALLAGHER et al., 2003). O endosperma é um tecido triplóide, resultado da fusão dos dois núcleos polares (saco embrionário) com um núcleo espermático (grão de pólen). Assim, as combinações dos alelos de herança materna e paterna determinam diferentes tonalidades de coloração no endosperma, dependendo da dose dos alelos  $Y_1$  e  $y_1$ . Por exemplo, considerando apenas o loco  $y_1$ , quatro genótipos e fenótipos são possíveis: amarelo alaranjado, com os três alelos dominantes ( $Y_1Y_1Y_1$ ); amarelo com dois alelos dominantes e um recessivo ( $Y_1Y_1y_1$ ); amarelo claro com um alelo dominante e dois recessivos ( $Y_1y_1y_1$ ) e branco com os três alelos recessivos ( $y_1y_1y_1$ ). As diferentes tonalidades de amarelo no endosperma correspondem às variações na produção da enzima fitoene sintase, precursora da síntese de diversos carotenóides no endosperma do milho (WONG et al., 2004). Embora o loco  $y_1$  seja o principal responsável pelo controle da síntese de carotenóides no endosperma, outros locos têm sido mapeados (LI et al., 1996; HABLE et al., 1998; MATTHEWS et al., 2003; SINGH et al., 2003), evidenciando que a concentração destes pigmentos e, conseqüentemente, a coloração do endosperma é um caráter complexo controlado por muito genes.

A doçura dos grãos é um componente primário do sabor. O caráter doce do endosperma é dado, principalmente, pela presença de alelos mutantes que promovem alterações na composição de carboidratos. Diferentes genes mutantes têm sido empregados em híbridos comerciais de milho doce, entretanto, os mais utilizados atualmente são o *shrunken2* (*sh2*), *sugary1* (*su1*) e o *sugary enhancer1* (*se1*). Embora estes genes possuam o maior efeito na síntese de carboidratos no endosperma, a base genética do germoplasma em que eles estão inseridos também exerce um importante efeito na sua expressão. Teores de açúcares variam muito entre linhagens e híbridos que possuem o mesmo genótipo mutante. Soberalske e Andrew (1978) observaram uma amplitude de 38 a 46% na produção de açúcares totais entre linhagens isogênicas para o genótipo *sh2sh2*, e 13 a 26% para o *su1su1*. Wong et al. (1994) avaliando híbridos comerciais com o genótipo *sh2sh2*, também verificaram uma variação na produção de sacarose de 33 a 371 mg g<sup>-1</sup>, e na produção de açúcares totais de 133 a 455 mg g<sup>-1</sup>. Esses resultados evidenciam a existência de outros locos que interferem na síntese de carboidratos no endosperma. Do mesmo modo, a letalidade ou quase letalidade do

genótipo  $su_1su_1$  quando retrocruzado para linhagens de milho cereal demonstra o efeito da base genética no fenótipo do endosperma. Enquanto algumas linhagens de milho doce com o genótipo  $su_1su_1$  possuem próximo de 100% de germinação, as plantas com este genótipo não germinam em muitos genótipos de milho cereal (TRACY, 1990).

A maciez dos grãos é definida como a resistência que os mesmos oferecem à mastigação (HUELSEN, 1954). Não foi encontrado nenhum trabalho sobre a herança genética deste caráter, entretanto vários autores têm reportado correlação alta e negativa com a espessura do pericarpo (ITO, BREWBAKER, 1981, 1991; AZANZA et al., 1996; CARDOSO et al., 2002; HALE et al., 2004). O pericarpo é a última camada dos grãos de milho, derivada da parede do ovário. Tracy et al. (1978) analisando a espessura do pericarpo de diversos genótipos de milho, reportaram elevada variação para este caráter, com valores de 25 a 200  $\mu$  de espessura. Além disso, a espessura pode aumentar com a maturação dos grãos em maior ou menor intensidade em função do genótipo (MACHADO, 1980; KAUKIS et al., 1986). Embora haja pouca informação sobre a herança genética da espessura do pericarpo, alguns estudos apontam para a importância tanto dos efeitos aditivos quanto de dominância parcial para o pericarpo fino (RICHARDSON, 1960; ITO, BREWBAKER, 1991; CARDOSO et al., 2002). Cardoso et al. (2002) estudando os componentes de variância em diversas populações de milho doce, obtiveram estimativas dos coeficientes de herdabilidade variando de 0,41 a 0,99, evidenciando alteração na magnitude desta estimativa em função do germoplasma e da época de cultivo. Por fim, os poucos trabalhos que avaliaram o número de genes no controle desse caráter reportam a existência de poucos genes (HELM, ZUBER, 1972; HO et al., 1975; ITO, BREWBAKER, 1991), que contribuem com uma reduzida porcentagem da variação do caráter (RICHARDSON, 1960; ITO, BREWBAKER, 1991).

Os caracteres coloração, maciez e doçura de grãos em milho doce também são chamados de caracteres sensoriais (STONE, SIDEL, 1985). Diferentemente da produção de grãos e outros caracteres como altura de plantas, comprimento da espiga e número de fileiras, que são quantificados com pesos, contagens e medições, os caracteres sensoriais são avaliados utilizando os sentidos humanos. Dessa maneira, a coloração de grãos é avaliada pelo sentido da visão, a maciez pelo tato, e a doçura pelo paladar. Nos programas de melhoramento esta avaliação é realizada no campo, por



meio de uma escala de notas e por um provador previamente treinado. Dentre os vários fatores que podem alterar a precisão das avaliações está a adaptação, ou seja, a modificação temporária da acuidade de um órgão sensorial devido à estimulação contínua ou repetida (MEILGAARD et al., 2006). Assim, para não comprometer a precisão das avaliações, o número de materiais avaliados por dia é limitado. Além disso, a natureza perecível dos grãos de milho doce reduz o intervalo de tempo em que estes materiais estão aptos a serem avaliados, o que normalmente varia de 4 a 7 dias. Portanto, todos estes fatores contribuem para reduzir a quantidade de genótipos avaliados e, conseqüentemente, as respostas à seleção destes caracteres nos programas de melhoramento.

O mapeamento de QTL é uma ferramenta poderosa para gerar conhecimento sobre a herança genética dos caracteres quantitativos, pois permite mapear as regiões do genoma envolvidas no controle desses caracteres. Além disso, a eficiência na resposta à seleção pode ser aumentada com o uso destas informações em programas de seleção assistida por marcadores moleculares. Estudos de mapeamento de QTL com estes caracteres se restringem a somente um trabalho, utilizando milho doce temperado (AZANZA et al., 1996). Portanto, dado ao limitado número de estudos de mapeamento de QTL para caracteres de qualidade em milho doce tropical, o presente estudo teve como objetivos (i) mapear QTL em testecrosses de milho doce para caracteres de qualidade e (ii) avaliar o efeito do testador e do ambiente na detecção, localização e efeitos dos QTL mapeados.

## 3.2 Desenvolvimento

### 3.2.1 Material e Métodos

#### 3.2.1.1 Material genético

A população utilizada neste estudo foi obtida do cruzamento entre duas linhagens, B605 e B532, do mesmo grupo heterótico e contrastantes para vários caracteres agrônômicos e de qualidade. Essas linhagens são genótipos elite desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético da empresa Syngenta Seeds. No primeiro semestre de 2006, 256 plantas da população  $F_2$  foram amostradas e autofecundadas até a geração  $F_5$ , pelo método de descendência de uma única semente (single seed descend) dando origem as 256 progênies  $F_{4:5}$ .

As linhagens A36 e A17 pertencentes ao programa de melhoramento da Syngenta Seeds foram utilizadas como testadores. Ambas são de origem tropical, pertencentes ao mesmo grupo heterótico, mas distintos do grupo heterótico da população. Essas linhagens são consideradas elites por apresentarem alta capacidade de combinação e diversos caracteres favoráveis. O testador A36, quando comparado ao A17, apresenta coloração amarela mais clara e maior maciez.

No primeiro semestre de 2008, as 256 progênies  $F_{4:5}$  foram cruzadas com os testadores A36 e A17 dando origem a 256 testecrosses com cada testador. Os cruzamentos foram realizados em lotes isolados de despendoamento utilizando as progênies  $F_{4:5}$  como fêmeas e as linhagens testadoras como machos. Em cada lote isolado, foram semeadas duas linhas de 4 metros com 25 sementes de cada progênie, sendo utilizada a proporção de 4 linhas de fêmeas para 3 linhas de macho. Para que houvesse coincidência entre florescimentos, as linhas de macho foram semeadas em três épocas, 4 dias antes, no dia e quatro dias depois da semeadura das linhas de fêmeas. Na época do florescimento, foram despendoadas todas as plantas fêmeas, tendo-se, portanto, a linhagem testadora como única doadora de pólen. As sementes de cada parcela foram colhidas separadamente e identificadas para montagem dos experimentos.

### 3.2.1.2 Locais, delineamento e caracteres avaliados

No ano agrícola de 2008, os experimentos foram conduzidos nas estações experimentais da empresa Syngenta Seeds, no município de Uberlândia, Minas Gerais, situada a latitude de 18° 91' 86" Sul e altitude de 925 m e, no município de Itatiba, São Paulo, situada a latitude 23° 01' 15" e altitude de 755 m. Os 512 testecrosses foram avaliados em dois experimentos no delineamento látice 16 x 16, com duas repetições por ambiente. Cada experimento foi constituído de 128 testecrosses oriundos do testador A36 e 128 do testador A17, totalizando 256 testecrosses. As parcelas foram formadas por uma linha de 5 m com espaçamento de 0,60 m entre linhas. Foram semeadas 25 sementes por parcela e após 30 dias realizado o desbaste deixando 15 plantas por parcela (50.000 plantas ha<sup>-1</sup>). Os caracteres de qualidade foram avaliados de acordo com uma escala de categorias de nove termos numéricos e verbais sugerida por MEILGAARD et al. (2006) e adaptada para os caracteres avaliados neste estudo. Os caracteres avaliados foram o florescimento feminino (FF), dado pelo número de dias do plantio até 50% das plantas da parcela apresentassem estilo-estigma; umidade de grãos (UG), obtido pelo método da estufa (BRASIL, 1992); produtividade de grãos (PG) em kg ha<sup>-1</sup>; coloração de grãos (CL), obtida visualmente por meio de uma escala de categorias, sendo 1 para amarelo extremamente claro, 2 muito claro, 3 moderadamente claro, 4 ligeiramente claro, 5 nem claro nem escuro, 6 ligeiramente escuro, 7 moderadamente escuro, 8 muito escuro e 9 para amarelo extremamente escuro; maciez de grãos (MC), obtida por meio da resistência que os grãos oferecem à mastigação, em que o provador morde as espigas no terço médio e atribui notas de 1 a 9, sendo 1 para grãos extremamente duros, 2 muito duros; 3 moderadamente duros, 4 ligeiramente duros, 5 nem duros nem macios, 6 ligeiramente macios, 7 moderadamente macios, 8 muito macios e 9 para grãos extremamente macios; doçura de grãos (DÇ) obtida por meio da percepção de doçura que os grãos apresentam durante a mastigação, em que o provador, utilizando as mesmas espigas da avaliação de maciez de grãos, atribui a escala de categorias de 1 a 9, sendo 1 para ausência de doçura, 3 pouco doce, 5 pouco - moderadamente doce, 7 muito doce e 9 extremamente doce. Para avaliação de cada parcela foi obtida uma amostra de 5 espigas. A data de

colheita de cada parcela foi determinada somando-se 30 dias a partir da data do florescimento feminino. Para avaliação de cada parcela foi utilizada uma amostra de 3 espigas. Em função dos testecrosses apresentarem diferenças quanto ao ponto ideal de colheita, o caráter UG foi utilizado como covariável nas análises de variância individual dos caracteres CL, MC e DÇ, com intuito de corrigir estas diferenças.

### 3.2.1.3 Análises de variância e covariância

Inicialmente, foram feitos os testes de normalidade de Shapiro-Wilk para verificar o comportamento da distribuição dos resíduos e o teste de F máximo, para verificar a homogeneidade das variâncias (Stell & Torrie, 1980). Todos os caracteres foram transformados para  $\sqrt{x + 0,5}$ , visando um melhor ajuste dos dados a distribuição normal. As análises foram realizadas utilizando-se o programa SAS (SAS INSTITUTE, 1999). Foram realizadas análises de variância individuais para cada experimento em cada ambiente. Posteriormente, foram feitas as análises conjuntas utilizando as médias ajustadas e os quadrados médios dos erros efetivos de cada experimento. Para isso, considerou-se um modelo misto, com efeito de ambiente fixo e os efeitos de testecrosses e interações testecrosses x ambientes como aleatórios. Para obtenção da análise de variância conjunta agrupada, os graus de liberdade e as somas de quadrados oriundos das análises conjuntas de cada experimento foram somados. As fontes de variação testecrosses e testecrosses x ambiente foram decompostas em testecrosses formados com a linhagem testadora A36 (T1) e testecrosses formados com a linhagem A17 (T2) em cada ambiente. Os seguintes parâmetros genéticos dos testecrosses foram estimados para cada caráter nos testecrosses de cada testador com base nas esperanças matemáticas dos quadrados médios da análise de variância conjunta agrupada, de acordo com os procedimentos sugeridos por Searle et al. (1992), como:  $\hat{\sigma}_G^2 = (QM_T - QM_{T \times A})/RA$ , em que  $\hat{\sigma}_G^2$  é a variância genética de testecrosses,  $QM_T$  é o quadrado médio da fonte de variância testecrosses,  $QM_{T \times A}$  é o quadrado médio da fonte de variação da interação testecrosses x ambientes,  $R$  é o número de repetições, e  $A$  é o número de ambientes;  $\hat{\sigma}_F^2 = (QM_T)/RA$ , em que  $\hat{\sigma}_F^2$  é a

variância fenotípica com base em médias de testecrosses;  $\hat{\sigma}_{G \times A}^2 = (QM_{T \times A} - QM_E) / R$ , em que  $\hat{\sigma}_{G \times A}^2$  é a variância da interação testecrosses x ambiente,  $QM_E$  é o quadrado médio do resíduo;  $\hat{h}_x^2 = \hat{\sigma}_G^2 / \hat{\sigma}_F^2$ , em que  $\hat{h}_x^2$  é o coeficiente de herdabilidade com base em médias de testecrosses. Os intervalos de confiança dos componentes de variância foram calculados a 0,95 de probabilidade, seguindo os procedimentos descritos por Burdick e Graybill (1992). Para as estimativas dos coeficientes de herdabilidade com base em médias foi calculado o intervalo de confiança a 0,95 de probabilidade, como proposto por Knapp; Stroup; Ross (1985). Os intervalos de confiança foram utilizados para a comparação das estimativas dos componentes da variância, sendo que as estimativas obtidas para os dois grupos de testecrosses foram consideradas diferentes ( $P \leq 0,05$ ), quando no intervalo de confiança de uma estimativa não contivesse o valor estimado da outra.

Foram estimadas correlações genéticas e fenotípicas entre os pares de caracteres para cada testador e entre os dois grupos de testecrosses para cada caráter. As análises de covariância conjuntas foram utilizadas para estimar as correlações seguindo os procedimentos sugeridos por Vencovsky; Barriga (1992). A covariância genética ( $\hat{Cov}_{G(xy)}$ ) e fenotípica ( $\hat{Cov}_{F(xy)}$ ) entre os caracteres foram estimadas da análise de covariância conjunta seguindo o mesmo procedimento usado para estimar suas respectivas variâncias. As correlações genotípicas e fenotípicas entre os caracteres x e y foram estimadas como  $\hat{r}_{G(xy)} = \hat{Cov}_{G(xy)} / \hat{\sigma}_{Gx} \hat{\sigma}_{Gy}$  e  $\hat{r}_{F(xy)} = \hat{Cov}_{F(xy)} / \hat{\sigma}_{Fx} \hat{\sigma}_{Fy}$ , respectivamente, em que  $\hat{\sigma}_G$  e  $\hat{\sigma}_F$  são a raiz quadrada das estimativas da variância genética e fenotípica, respectivamente. As significâncias das correlações genéticas foram computadas segundo a metodologia descrita por Falconer & Mackay (1996) e a das correlações fenotípicas segundo Steel e Torrie (1980).

#### 3.2.1.4 Genotipagem e mapa genético

Para a extração do DNA, foram coletadas amostras de folhas de 10 plantas de cada uma das 256 progênies  $F_{4:5}$ . As folhas foram acondicionadas em blocos plásticos de 96 poços e encaminhadas ao laboratório de biologia molecular da Syngenta Seeds.

Posteriormente, realizou-se a liofilização e moagem das amostras, as quais foram armazenadas à temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$ . A extração de DNA foi realizada segundo o protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983). O tipo de marcador molecular utilizado foi o SNP (single nucleotide polymorphism) obtidos de dados de sequenciamento genético presentes na literatura e validados internamente no germoplasma da Syngenta. A amplificação do DNA foi realizada em equipamento de PCR de tempo real, modelo ABI7900 com sistema de detecção TaqMan<sup>®</sup> (LIVAK, 1999).

Para obtenção do mapa genético foram avaliados 624 marcadores quanto à qualidade de amplificação e ao polimorfismo entre os parentais da população. Na construção do mapa, foram utilizados 182 marcadores que apresentaram segregação esperada para linhagens recombinantes  $F_{4:5}$ , segundo o teste da distorção mendeliana que corresponde ao teste de qui-quadrado para os desvios da segregação. Os testes foram realizados empregando-se um nível de significância ( $\alpha$ ) conjunto de 5% de probabilidade, a partir do qual foi obtido o nível de significância individual para o teste de cada marcador, seguindo os procedimentos sugeridos por Bonferroni (PROVINCE, 2001). O mapa foi elaborado utilizando-se o programa *QTL Cartographer*, módulo *Emap* (BASTEN et al., 2001). Para formação dos grupos de ligação foi estabelecido um LOD igual a 3 e distância máxima entre os locos igual a 50 cM. Os 182 marcadores SNP distribuíram-se em 10 grupos de ligação referentes aos 10 cromossomos do milho, sendo a fração de recombinação entre eles transformada em distância genética (cM) pela função de KOSAMBI (1944). O mapa possui 1.366 cM de extensão e distância média entre marcadores de 8 cM (Anexo A).

### **3.2.1.5 Mapeamento de QTL**

O mapeamento de QTL foi realizado para os testecrosses oriundos do testador A36 e A17 e para cada caráter, separadamente. Para isso, foi utilizado o software *QTL Cartographer*, módulo *JZmapqtl* (BASTEN et al., 2001). O método de mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes (mCIM), proposto por Jiang e Zeng (1995), foi utilizado para o mapeamento de QTL e para testar a significância da interação QTL x ambiente. O mapa genético da população  $F_{4:5}$  e as médias ajustadas

por quadrados mínimos dos testecrosses avaliados nos 2 ambientes foram consideradas na análise de mapeamento. O modelo matemático adotado foi:  $Y_{jk} = b_{0k} + a_k^* x_j^* + \sum_l^t (a_{lk} x_{jl}) + e_{jk}$ , em que  $Y_{jk}$  é a média fenotípica do  $j$  ésimo testecross no  $k$  ésimo ambiente ( $j = 1, \dots, 256, k = 1, \dots, 2$ ).  $b_{0k}$  é o efeito médio do modelo no ambiente  $k$ ;  $a_k^*$  é o efeito aditivo do QTL no ambiente  $k$ ;  $x_j^*$  é a variável indicadora do genótipo do provável QTL, assumindo os valores de 0, 1 e 2 para os genótipos qq, Qq e QQ, respectivamente, com probabilidades que dependem do genótipo dos marcadores que flanqueiam o possível QTL e da fração de recombinação entre o QTL e os marcadores;  $a_{lk}$  é o coeficiente de regressão parcial entre os valores fenotípicos e os valores atribuídos a  $x_{jl}$ ;  $x_{jl}$  é a variável indicadora associada ao cofator  $l$ , assumindo  $t$  marcadores selecionados como cofatores para o controle da variação genética residual ( $l = 1, 2, \dots, t$ );  $e_{jk}$  é o resíduo do modelo. A obtenção dos cofatores foi realizada empregando-se o método de regressão stepwise (forward/backward) ( $P \leq 0,05$ ), sendo selecionados os 5 marcadores mais informativos por ambiente, evitando a utilização de um elevado número de cofatores (BASTEN et al., 2001). Para o mapeamento de QTL foi utilizado um “walking speed” de 1 cM e “window size” de 10 cM.

O teste da razão de verossimilhança (LR) para a presença de QTL em um ou mais ambientes foi  $LR = -2 \ln(L_0 / L_1)$ , em que  $L_0$  é a máxima verossimilhança (ML) sob a hipótese nula que é  $a_1 = a_2 = \dots = a_k = 0$ ,  $L_1$  é a ML sob a hipótese alternativa que é pelo menos um  $a_k \neq 0$ . O teste LR para interação QTL x ambiente avalia a razão de ML sob a hipótese nula ( $L_0$ ) e sob a hipótese alternativa ( $L_1$ ). Sob a hipótese nula as LR têm distribuição aproximada de  $\chi^2$  com  $k+1$  graus de liberdade para a presença do QTL, e com  $k-1$  graus de liberdade para a interação QTL x ambiente com os testes realizados somente em regiões onde os QTL foram previamente identificados. Os valores dos limites críticos para declarar a presença de um QTL na análise conjunta e na análise da interação QTL x ambiente foram ajustados para o número de testes independentes em todo o genoma seguindo os procedimentos sugeridos por Vieira et al. (2000). O número de testes independentes foi estimado considerando o

comprimento do  $l$ ésimo grupo de ligação ( $T_l$ ), o intervalo médio entre os marcadores ( $im$ ) e o *window size* ( $ws$ ), por meio da seguinte equação  $\sum_l [(T_l / im + ws) + 1]$ , sendo 1.366 cM o comprimento dos grupos de ligação, 8 cM o intervalo médio entre os marcadores e 10 cM o valor do *window size* considerado em cada lado do intervalo. Assim, o intervalo considerado como independente foi de 28 cM, o que resultou em 51 testes independentes em todo o genoma. O erro do tipo I considerado para todo o genoma foi de  $\alpha = 0,05$ , e  $\alpha = 0,05 / 51 = 0,001$  para cada teste independente. Portanto, os valores dos limites críticos para o mapeamento de QTL na análise conjunta e da interação QTL x ambiente foram de 16,29 e 10,85 que corresponde aos *LOD* 3,53 e 2,35, respectivamente. Para as análises por ambiente foi considerado um limite crítico de 5,99 (*LOD* 1,33) que corresponde ao valor de qui-quadrado com  $\alpha = 0,05$  e 2 graus de liberdade referentes às três classes genóticas para testecrosses obtidos de uma população  $F_{4:5}$ .

No mapeamento de QTL utilizando-se testecrosses, o efeito de substituição alélica não é fornecido diretamente pelo *QTL Cartographer*, uma vez que este fornece somente o efeito aditivo [ $a^* = (a \pm d)/2$ ]. Como o testador é uma linhagem homozigota o efeito de substituição alélica é  $\alpha_s = a + d$  para  $s=1$  ou  $\alpha_r = a - d$  para  $r=1$  (MIRANDA FILHO; VENCOVSKY, 2001). Portanto, o efeito de substituição alélica [ $\alpha_s = a \pm d$ ] foi obtido multiplicando-se o efeito aditivo fornecido pelo *QTL Cartographer* por 2 (SANTOS, 2008). A origem dos alelos favoráveis foi obtida de acordo com o sinal dos efeitos de substituições alélicas, conforme proposto por Lübberstedt et al. (1997). Quando o valor do efeito foi positivo (+) considerou-se que o alelo favorável foi originado da linhagem parental de maior desempenho (B605), e quando negativo (-) da linhagem de menor desempenho (B532).

Os QTL mapeados foram comparados utilizando o procedimento do “*one-LOD support interval*” a ( $P \leq 0,95$ ) (LYNCH; WALSH, 1998). A sobreposição entre intervalos de confiança de QTL mapeados na mesma população ou em diferentes populações de testecrosses foram considerados o mesmo QTL.

A porcentagem da variância fenotípica explicada por cada QTL mapeado foi obtida de acordo com os procedimentos sugeridos por Bohn et al. (1997), sendo:



$\hat{R}_F^2 = \hat{\sigma}_G^2 / \hat{\sigma}_F^2$ , em que  $\hat{R}_F^2$  é a porcentagem da variância fenotípica explicada pelo QTL;  $\hat{\sigma}_G^2$  é a variância genética explicada pelo QTL, e  $\hat{\sigma}_F^2$  é a variância fenotípica com base na média de testecrosses, sendo  $\hat{\sigma}_F^2 = \hat{\sigma}_G^2 + (\hat{\sigma}_{GA}^2/L) + (\hat{\sigma}_E^2/RL)$ , em que  $\hat{\sigma}_G^2$  é a variância genética de testecrosses,  $\hat{\sigma}_{GA}^2$  é a variância da interação testecrosses x ambiente,  $\hat{\sigma}_E^2$  é a variância do erro experimental, L é o número de locais e R é o número de repetições dos experimentos. A variância genética de um QTL foi obtida utilizando a expressão  $\hat{\sigma}_G^2 = 1/8(\alpha_i)^2$ , em que  $\alpha_i$  é o efeito médio de uma substituição alélica para testecrosses.

### 3.2.2 Resultados e Discussão

Nas análises de variância as fontes de variação testecrosses (T), testecrosses originados da linhagem testadora A36 (T1) e testecrosses originados da linhagem A17 (T2) apresentaram diferenças altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) pelo teste de F para CL e MC, e não significativa para DÇ. A fonte de variação ambiente (A) foi altamente significativa para CL e DÇ e não significativa para MC, demonstrando que houve diferenças entre os dois ambientes apenas para CL e DÇ. A interação testecrosses por ambiente (T x A) apresentou diferença altamente significativa para todos os caracteres avaliados. A interação entre os testecrosses da linhagem testadora A36 com o ambiente (T1 x A) apresentou diferença altamente significativa para CL e DÇ. Já a interação dos testecrosses da linhagem testadora A17 com o ambiente (T2 x A) apresentou diferença altamente significativa para CL e MC e significativa ( $P \leq 0,05$ ) para DÇ. Assim, verifica-se que houve variação na performance dos testecrosses em função dos ambientes avaliados. Os coeficientes de variação (CV) das análises de variância conjunta foram de 15,36, 16,55 e 18,47% para CL, MC e DÇ, respectivamente, demonstrando boa precisão experimental, uma vez que a avaliação por meio de escala de notas, devido a sua subjetividade, esta sujeita a elevado erro experimental (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variâncias conjuntas agrupadas e coeficientes de variação (CV) para os caracteres de qualidade avaliados nos testecrosses obtidos dos testadores A36 (T1) e A17 (T2)

FV <sup>a</sup>	GL	Quadrados Médios <sup>b,c</sup>		
		CL	MC	DÇ
Ambientes (A)	2	185,00**	8,79 <sup>ns</sup>	988,48**
Testecrosses (T)	510	10,73**	15,47**	8,99**
T1	254	11,23**	9,23**	8,08 <sup>ns</sup>
T2	254	8,33**	11,95**	8,14**
T1 vs T2	2	261,55 <sup>ns</sup>	1243,30 <sup>ns</sup>	232,28 <sup>ns</sup>
T / A	510	4,80**	4,66**	6,22**
T1 x A	254	3,87**	3,57 <sup>ns</sup>	6,80**
T2 x A	254	3,50**	5,39**	5,31*
T1 vs T2/ A	2	276,46**	33,29**	57,69**
Erro Efetivo Médio	900	2,76	3,40	4,29
CV (%)		15,36	16,55	18,47

ns, \*\*, não significativo, significativo a  $P \leq 0,01$ , respectivamente pelo teste *F*.

<sup>a</sup>fontes de variação estão agrupadas dentro de experimentos.

<sup>b</sup>QM multiplicadas por  $10^2$ .

<sup>c</sup>CL, MC e DÇ referem-se aos caracteres coloração, maciez e doçura de grãos, respectivamente.

A média dos T1 não diferiu significativamente ( $P \leq 0,05$ ) da média dos T2 para CL e DÇ. Já para MC, os T1 apresentaram grãos mais macios (5,53) que os T2 (4,51). Nos programas de melhoramento, a seleção de genótipos com qualidade de grão superior é baseada em informações mercadológicas da preferência dos consumidores a determinado caráter de qualidade. O consumidor brasileiro tem preferência por grãos de milho doce de coloração amarelo claro, macio e adocicado. Deste modo, o testador A36 propiciou testecrosses mercadologicamente superiores para maciez de grãos (Tabela 2).

Tabela 2 – Médias ( $\bar{X}$ ), intervalos de confiança (IC) e intervalos de variação (IV) para os caracteres de qualidade avaliados nos testecrosses

<sup>a</sup> Caráter		Testador A36 (T1)	Testador A17 (T2)
CL	$\bar{X}$	4,82	5,30
	IC	4,29; 5,36	4,77; 5,84
	IV	3,03; 7,22	3,44; 7,31
MC	$\bar{X}$	5,53	4,51
	IC	4,94; 6,11	3,92; 5,10
	IV	2,76; 7,71	2,64; 6,47
DÇ	$\bar{X}$	5,30	5,11
	IC	4,63; 5,97	4,44; 5,77
	IV	2,08; 7,11	3,02; 6,84

<sup>a</sup>CL, MC e DÇ referem-se aos caracteres coloração, maciez e doçura de grãos, respectivamente.

As estimativas das variâncias genéticas dos testecrosses ( $\hat{\sigma}_g^2$ ) diferiram significativamente de zero ( $P \leq 0,05$ ) para todos os caracteres. As variâncias genéticas dos T1 diferiram significativamente ( $P \leq 0,05$ ) dos T2 apenas para CL. Nos T1 e T2 as variâncias genéticas foram de 1,83 e 1,21 para CL, 1,42 e 1,64 para MC e 0,32 e 0,70 para DÇ, respectivamente. A variância genética dos testecrosses é função da divergência da população e do efeito de substituição alélica do testador. Na presença de dominância parcial ou completa, a maior frequência de alelos favoráveis para os locos que controlam o caráter em um dado testador, reduz a variância genética nos testecrosses desse testador. A coloração amarela do endosperma dos grãos de milho é determinada pela presença de carotenóides, principalmente na forma de carotenos e xantofilas (HUELSEN, 1954; WATSON 1962). Alguns autores têm reportado a importância do efeito de dominância de genes envolvidos com a síntese de carotenóides em milho (COE et al, 1988; KURILICH & JUVIK, 1999; FORD, 2000; WONG et al., 2004; CARDOSO et al., 2009). Assim, a coloração amarela escuro do endosperma da linhagem testadora A17, resultado da maior concentração de alelos

para o aumento no teor de carotenóides, reduziu a variância genética dos testecrosses devido ao efeito de dominância dos locos que controlam este caráter. Não foram encontrados trabalhos na literatura sobre a herança genética da maciez de grãos. Entretanto, estudos sobre a espessura do pericarpo, caráter altamente correlacionado à MC, demonstram a importância dos efeitos aditivos, bem como dos efeitos de dominância parcial para o pericarpo mais fino (RICHARDSON, 1960; ITO, BREWBAKER, 1981; TRACY, SCHMIDT, 1987; ITO, BREWBAKER, 1991). Neste estudo, não houve diferença nas magnitudes das variâncias genéticas entre os grupos de testecrosses, sugerindo que os testadores utilizados não afetaram as magnitudes das variâncias genéticas para este caráter (Tabelas 3 e 4).

As estimativas dos coeficientes de herdabilidade com base em médias de testecrosses ( $\hat{h}_x^2$ ) diferiram significativamente ( $P \leq 0,05$ ) de zero para todos os caracteres, exceto para DÇ nos T1. As herdabilidades dos T1 não diferiram significativamente ( $P \leq 0,05$ ) das herdabilidades dos T2, para todos os caracteres avaliados. Nos T1 e T2, as magnitudes dos coeficientes de herdabilidade foram moderadas, 0,65 e 0,58 para CL e 0,61 e 0,54 para MC, respectivamente. Para DÇ a herdabilidade dos T1 não diferiu de zero (0,15) de acordo com o intervalo de confiança e foi baixa nos T2 (0,34). O coeficiente de herdabilidade é função da relação entre a variância genética e fenotípica. A variância fenotípica por sua vez é composta pela variância genética, variância da interação genótipo x ambiente e variância do erro experimental. Para os T1 e T2, as estimativas das variâncias da interação testecrosses x ambiente ( $\hat{\sigma}_{TxA}^2$ ) foram 0,56 e 0,37 para CL, 0,08 e 1,00 para MC e 1,25 e 0,51 para DÇ, respectivamente (Tabelas 3 e 4). Desta forma, observa-se que os elevados valores das variâncias da interação obtidos, principalmente para DÇ, contribuíram para a redução da magnitude da herdabilidade destes caracteres. Não foram encontrados estudos na literatura sobre a herdabilidade destes caracteres. No entanto, trabalhos com a espessura do pericarpo e o teor de sacarose, caracteres correlacionados com a maciez e doçura de grãos (WONG et al., 1994; AZANZA et al., 1996; HALE et al., 2004), reportam valores de herdabilidade superiores aos encontrados neste estudo (HUELSEN, 1954; HELM et al., 1972; CHANG, 1990; ITO, BREWBAKER, 1991). Embora estes caracteres apresentem maior herdabilidade que os caracteres de

qualidade, há limitações quanto a utilização para seleção em programas de melhoramento, uma vez que necessitam de equipamentos de laboratório sofisticados, difícil de serem utilizados no campo e, também, apresentam alto custo.

Tabela 3 – Estimativas das variâncias genéticas de testecrosses ( $\hat{\sigma}_T^2$ ), variâncias da interação testecrosses por ambiente ( $\hat{\sigma}_{TxA}^2$ ), variâncias fenotípicas com base em médias ( $\hat{\sigma}_F^2$ ), coeficientes de herdabilidades com base em médias ( $\hat{h}_X^2$ ) e seus intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade, para os caracteres de qualidade

Caráter <sup>a,b</sup>	Testador A36 (T1)			
	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{\sigma}_{TxA}^2$	$\hat{\sigma}_F^2$	$\hat{h}_X^2$
CL	1,83 (1,41; 2,52)	0,56 (0,31; 1,34)	2,80 (2,37; 3,37)	0,65 (0,55; 0,73)
MC	1,42 (1,11; 2,01)	0,08 -	2,31 (1,95; 2,78)	0,61 (0,50; 0,70)
DÇ	0,32 (0,12; 5,20)	1,25 (0,78; 2,34)	2,02 (1,70; 2,43)	0,15 (0; 0,35)

<sup>a</sup>Variâncias multiplicadas por 10<sup>2</sup>.

<sup>b</sup>CL, MC e DÇ referem-se aos caracteres coloração, maciez e doçura de grãos, respectivamente.

Tabela 4 – Estimativas das variâncias genéticas de testecrosses ( $\hat{\sigma}_G^2$ ), variâncias da interação testecrosses por ambiente ( $\hat{\sigma}_{TxA}^2$ ), variâncias fenotípicas com base em médias ( $\hat{\sigma}_F^2$ ), coeficientes de herdabilidades com base em médias ( $\hat{h}_X^2$ ) e seus intervalos de confiança a 0,95 de probabilidade, para os caracteres de qualidade

Caráter <sup>a,b</sup>	Testador A17 (T2)			
	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{\sigma}_{TxA}^2$	$\hat{\sigma}_F^2$	$\hat{h}_X^2$
CL	1,21 (0,90; 1,73)	0,37 (0,19; 1,32)	2,08 (1,77; 2,49)	0,58 (0,46; 0,67)
MC	1,64 (1,20; 2,39)	1,00 (0,64; 1,76)	2,99 (2,53; 3,58)	0,54 (0,42; 0,64)
DÇ	0,70 (0,43; 1,50)	0,51 (0,25; 2,41)	2,03 (1,72; 2,43)	0,34 (0,16; 0,48)

<sup>a</sup>Variâncias multiplicadas por 10<sup>2</sup>.

<sup>b</sup>CL, MC e DÇ referem-se aos caracteres coloração, maciez e doçura de grãos, respectivamente.

As estimativas dos coeficientes de correlação genética ( $\hat{r}_G$ ) entre PG e todos os caracteres de qualidade nos T1 não foram significativas ( $P \leq 0,01$ ). Nos T2 foram não significativas entre PG e DÇ e altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) entre PG e CL (-0,37) e PG e MC (0,28). Os coeficientes de correlação fenotípica ( $\hat{r}_F$ ) foram não significativos para PG e CL, PG e MC nos T1, altamente significativas para PG e CL (-0,17), PG e DÇ (-0,13) nos T2, e significativa entre PG e DÇ (-0,15) nos T1. Embora, tenha ocorrido  $\hat{r}_G$  e  $\hat{r}_F$  significativas e altamente significativas entre PG e alguns caracteres de qualidade, as magnitudes das correlações foram sempre baixas, indicando que os caracteres de qualidade apresentaram baixa correlação com a PG. Logo, a seleção para aumentar a produtividade e a qualidade de grãos pode ser feita independentemente, ou seja, a seleção praticada no caráter produção de grãos não teria uma resposta correlacionada em nenhum dos caracteres de qualidade avaliados e vice-versa (Tabela 5).

Entre os caracteres de qualidade as magnitudes das  $\hat{r}_G$  foram altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) tanto nos T1 quanto nos T2. Para os T1, as  $\hat{r}_G$  foram elevadas e negativas entre CL e MC (-0,79), CL e DÇ (-0,85) e positiva entre MC e DÇ (0,73). Da mesma forma, para os T2 as magnitudes foram moderadas e negativas entre CL e MC (-0,82), CL e DÇ (-0,76) e positivas entre MC e DÇ (0,78). Observa-se que não houve diferenças expressivas nas magnitudes das correlações em função do testador utilizado. A alta correlação obtida entre MC e DÇ discordam dos resultados obtidos por Azanza et al. (1996) que não obtiveram correlação significativa entre estes caracteres. As correlações genéticas podem ser positivas ou negativas e favoráveis ou desfavoráveis (FALCONER; MACKAY, 1996). Como discutido anteriormente, tanto o seguimento de mercado para processamento industrial quanto o de consumo em natura preferem grãos de milho doce com coloração amarelo claro, macios e adocicados. Portanto, estes resultados são favoráveis do ponto de vista do trabalho de seleção de genótipos superiores nos programas de melhoramento, pois a seleção para grãos com coloração amarela clara teria uma resposta correlacionada no aumento da maciez e doçura (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores e significâncias dos coeficientes de correlação genética ( $\hat{r}_G$ ) acima da diagonal e fenotípica ( $\hat{r}_F$ ) abaixo da diagonal entre diversos caracteres avaliados nos testecrosses obtidos com os testadores A36 (T1) e A17 (T2)

Caráter <sup>a</sup>	Testadores	PG	CL	MC	DÇ
PG	T1	-	0,00ns	-0,07ns	0,18ns
	T2	-	-0,37**	0,28**	-0,04ns
CL	T1	-0,05ns	-	-0,79**	-0,85**
	T2	-0,17**	-	-0,82**	-0,76**
MC	T1	-0,07ns	-0,61**	-	0,73**
	T2	0,14ns	-0,64**	-	0,78**
DÇ	T1	-0,15*	-0,22**	0,29**	-
	T2	-0,13**	-0,41**	0,47**	-

ns, \*, \*\*, não significativo, significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

<sup>a</sup>PG, CL, MC e DÇ referem-se aos caracteres produção de grãos (t. ha<sup>-1</sup>), coloração, maciez e doçura de grãos, respectivamente.

As  $\hat{r}_G$  entre os testecrosses T1 e T2 foram altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) e com magnitudes elevadas para CL (0,69), MC (0,64) e não significativa para DÇ. Já as  $\hat{r}_F$  apesar de altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) apresentaram magnitudes moderadas para CL (0,48), MC (0,45) e baixa para DÇ (0,29). Assim, observa-se uma alta similaridade genética entre T1 e T2 para todos os caracteres avaliados, exceto para DÇ que não apresentou correlação genética significativa. Provavelmente, isso se deve ao fato dos testadores serem oriundos do mesmo grupo heterótico (Tabela 6).

Tabela 6 - Estimativas das correlações genéticas ( $\hat{r}_G$ ) e fenotípicas ( $\hat{r}_F$ ) avaliados entre os testecrosses originados dos testadores A36 (T1) e A17 (T2) para diversos caracteres<sup>a</sup>

Parâmetro	CL	MC	DÇ
$\hat{r}_G$	0,69**	0,64**	0,19ns
$\hat{r}_F$	0,48**	0,45**	0,29**

ns, \*, \*\*, não significativo, significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

<sup>a</sup>PG, CL, MC e DÇ referem-se aos caracteres produção de grãos (t. ha<sup>-1</sup>), coloração, maciez e doçura de grãos, respectivamente.

### 3.2.2.1 Mapeamento de QTL

Foram mapeados 11 QTL para o caráter coloração de grãos (CL), sendo 8 QTL para os testecrosses originados da linhagem testadora A36 (T1) e 3 para os originados da linhagem A17 (T2). Observa-se que nos T1 foram mapeados mais que o dobro de QTL que nos T2, corroborando com a magnitude da variância genética que foi superior nos T1. Foram mapeados dois QTL em cada um dos cromossomos 1, 7 e 10 e um QTL nos cromossomos 5 e 6 nos T1. Já nos T2 foram mapeados dois QTL no cromossomo 1 e um QTL no cromossomo 2. Observa-se que houve uma maior concentração de QTL mapeados no cromossomo 1, não ocorrendo nenhum QTL coincidente entre os grupos de testecrosses, evidenciando o efeito dos testadores no mapeamento de QTL. As proporções da variância fenotípica e genética explicadas pelos QTL variaram de 1,40 a 8,57% e 2,14 a 13,09% nos T1 e de 2,03 a 6,21% e 3,50 a 10,70% nos T2, respectivamente. A linhagem parental B532 contribuiu com 37% dos QTL favoráveis nos T1 e 66% nos T2, demonstrando que o testador também afetou a origem dos alelos favoráveis. Na literatura, não foi encontrado trabalhos sobre o mapeamento de QTL para a coloração de grãos, no entanto alguns estudos têm reportado um elevado número de QTL mapeados para o teor de carotenóides no grão de milho. Wong et al. (2004) mapearam 16 QTL para síntese de carotenóides, com proporção da variância fenotípica ( $R_F^2$ ) variando de 1,10 a 49,30%. Chander et al. (2008) mapearam 31 QTL com  $R_F^2$  variando de 3,1 a 27,2%. Portanto, o elevado número de QTL mapeados para a coloração de grãos neste estudo, assim como para a síntese de carotenóides



descritos na literatura, demonstra que este caráter é controlado por muitos genes (Tabelas 7 e 8).

Para maciez de grãos (MC) foram mapeados 11 QTL, sendo 6 nos T1 e 5 nos T2. Assim, praticamente não houve diferença no número de QTL mapeados entre os dois grupos de testecrosses, refletindo as magnitudes das variâncias genéticas que também não diferiram. Nos T1 foram mapeados dois QTL em cada um dos cromossomos 1 e 2 e um QTL nos cromossomos 5 e 7. Já nos T2 foram mapeados três QTL no cromossomo 1 e dois no cromossomo 2. Desta forma, verifica-se uma maior concentração de QTL mapeados nos cromossomos 1 e 2. Foi encontrado apenas uma região coincidente (*qmct1.1a* e *qmct2.1b*) entre os T1 e T2, ou seja, 81% dos QTL foram mapeados em apenas um dos grupos de testecrosses, demonstrando também para este caráter o efeito da base genética do testador no resultado do mapeamento. As proporções da variância fenotípica e genética explicadas pelos QTL variaram de 3,69 a 7,68 % e 6,01 a 12,35 % nos T1 e de 2,12 a 4,69 % e 3,87 a 8,55 % nos T2, respectivamente. Portanto, nenhum QTL explicou mais de 10% da variância fenotípica. A linhagem parental B605 contribuiu com 83,33% dos QTL favoráveis nos T1 e 80% nos T2, ressaltando a superioridade deste parental para a MC (Tabelas 9 e 10).

Para doçura de grãos (DÇ) foram mapeados um total de 8 QTL, sendo 3 QTL nos T1 e 5 nos T2. Nos T1 foram mapeados dois QTL no cromossomo 2 e um QTL no cromossomo 8. Já nos T2 foram dois QTL no cromossomo 1 e três no cromossomo 2. Portanto, observa-se uma concentração de QTL mapeados nos cromossomos 1 e 2, porém sem nenhum QTL coincidente entre os dois grupos de testecrosses indicando uma elevada interação QTL x testador. Esta baixa coincidência é suportada pela não significância da correlação genética entre os T1 e T2. As proporções da variância genética explicada pelos QTL nos T1 variaram de 13,20 a 18,18% nos T1 e de 3,07 a 11,47% nos T2, sendo elevadas quando comparadas com os outros caracteres. As proporções da variância fenotípica variaram de 2,25 a 2,89% nos T1 e de 1,07 a 3,99% nos T2. A linhagem parental B605 contribuiu com todos os alelos favoráveis nos T1. Já nos T2, a linhagem parental B532 contribuiu com 60% dos alelos favoráveis, evidenciando que a origem do alelo favorável dependeu do testador utilizado. Apesar do caráter doce desta população ser predominantemente conferido pelo genótipo

homozigoto recessivo do gene mutante *shrunken2* (*sh2*) que bloqueia a síntese de amido no endosperma, vários autores têm reportado a importância da base genética ou de genes modificadores no controle deste caráter (SOBERALSK, ANDREW, 1980; MICHAEL, ANDREW, 1986; TRACY, 1990; JUVIK et al., 1993; WONG et al., 1994; REVILLA, et al., 2006). Wong et al. (1994) avaliando a composição química de 24 híbridos comerciais homozigotos para o loco *sh2*, encontraram extensa variação para o teor de sacarose e teor total de açúcares. Eles concluíram que a variação ocorreu devido à variação alélica em outros locos que não o *sh2*. Desta forma, os QTL mapeados neste estudo, podem conter genes que afetam a doçura de grãos independentemente do gene *sh2*, ou que possuem efeitos epistáticos com este mutante, demonstrando que a seleção deve ser realizada para vários genes simultaneamente e não somente para o gene mutante (Tabelas 11 e 12).

Estudos sobre mapeamento de QTL para os caracteres maciez e doçura de grãos em milho doce restringem-se a apenas um trabalho desenvolvido por Azanza et al. (1996). Estes autores, utilizando germoplasma temperado, mapearam apenas três QTL para maciez de grãos, sendo um QTL em cada um dos cromossomos 4, 5 e 6. O QTL mapeado no cromossomo 5 foi detectado no mesmo bin 5.03 que o QTL *qmgt1.5a* mapeado neste estudo, demonstrando ser uma região importante no controle deste caráter. Para doçura de grãos, foram mapeados 4 QTL, sendo um em cada um dos cromossomos 1, 2, 3 e 5, mas nenhum coincidente com os QTL mapeados no presente estudo. Dentre outras razões, os genes mutantes da síntese de carboidratos presente na população de mapeamento utilizada por esses autores, o *sugary1* (*su1*) e o *sugary-enhanced1* (*se1*), podem ter afetado a coincidência de QTL mapeados com o presente estudo que utilizou o gene *shrunken2* (*sh2*), indicando que os locos que afetam a doçura podem variar em função do mutante utilizado. Assim, os QTL mapeados em ambos os estudos indicam a ocorrência de outros genes envolvidos no controle deste caráter além dos genes mutantes da síntese de carboidratos normalmente utilizados em milho doce.

Para os caracteres correlacionados a MC e DÇ, poucos estudos de mapeamento de QTL podem ser encontrados na literatura. Wang e Brewbaker (2001), trabalhando com a espessura do pericarpo, mapearam 1 QTL em cada um dos cromossomos 1 (bin

1.01), cromossomo 2 (bin 2.09) e cromossomo 6 (bin 6.01), explicando 12, 6 e 5% da variância fenotípica, respectivamente. Dentre os QTL mapeados no presente estudo para MC, o *qmct1.2a*, explicando 4,51% da variação fenotípica, foi localizado no mesmo bin 2.09 do mapeado por aqueles autores, sugerindo ser uma região que contém genes em comum no controle destes caracteres. No estudo de Tadmor et al. (1995), foram mapeados 7 QTL para o teor de sacarose em uma população de milho originada do cruzamento de uma linhagem homocigota recessiva para os locos mutantes *sugary1* (*su1*) e *sugary-enhanced1* (*se1*) com outra homocigota recessiva apenas para o loco *se1*, sendo três QTL localizados no cromossomo 1 e um QTL em cada um dos cromossomos 2, 3, 4 e 5. O QTL de maior efeito foi localizado no cromossomo 2, bin 2.09, explicando 24% da variância fenotípica, onde estes autores sugerem ser localizado o loco *se1*. No presente estudo, foram mapeados os QTL *qdct1.2a*, *qdct2.2b* e *qdct2.2c*, localizados neste mesmo bin 2.09. Entretanto a população utilizada para mapear estes QTL era homocigota recessiva para o loco *sh2* e não continha o alelo *se1*, sugerindo que possivelmente existam outros locos, além do *se1*, controlando a produção de sacarose neste bin.

No presente estudo foram mapeados um maior número de QTL (19) que os 9 QTL reportados por Azanza et al. (1996). Dentre outras razões, tais como diferenças no germoplasma utilizado, o maior poder do teste estatístico do mapeamento por intervalo composto expandido para múltiplos ambientes (mCIM) (JIANG; ZENG, 1995), pode ser um dos motivos do maior número de QTL mapeados. Este método utiliza as médias do caráter obtidas em cada um dos ambientes em que ele foi avaliado, ao invés de utilizar a média geral dos diversos ambientes, permitindo mapear QTL por ambiente. Além disso, ele controla os efeitos de QTL situados fora do intervalo que está sendo mapeado. Desse modo, são possíveis a localização e a obtenção das estimativas dos efeitos genéticos relativos a um dado QTL sem o viés provocado pela influência dos demais, o que aumenta de forma expressiva o poder do teste estatístico e a precisão da análise. Além disso, no presente estudo foi realizado o mapeamento para cada grupo de testecrosses, elevando a probabilidade de mapear um maior número de QTL.

A interação QTL x testador foi evidenciada em todos os caracteres avaliados. Com exceção de um QTL coincidente entre os grupos de testecrosses para MC, não

ocorreu nenhum outro QTL na mesma posição genômica. Além disso, a origem dos alelos favoráveis variou em função do testador utilizado para todos os caracteres, com exceção da MC em que o parental B605 contribuiu com a maioria dos alelos favoráveis nos dois grupos de testecrosses. Assim, de maneira geral, a utilização de testadores do mesmo grupo heterótico afetou o mapeamento de QTL, no número, coincidência e direção do alelo favorável, evidenciando a forte interação QTL x testador nestes caracteres.

Tabela 7 - QTL mapeados em dois ambientes para coloração de grãos nos testecrosses obtidos do testador A36 (T1): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$ %	$R^2_F$ %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qclt1.1a</i>	1.04	83,43	SM0657A	P	P	28,19	8,32	-0,078	B532	4,11	2,69
<i>qclt1.1b</i>	1.05	91,77	SM0251C	P	P	28,83	9,69	-0,083	B532	4,69	3,07
<i>qclt1.5a</i>	5.03	63,29	SM0613A	P	A	52,44	<u>15,89</u>	0,139	B605	13,09	8,57
<i>qclt1.6a</i>	6.01	23,05	SM1109B	P	P	32,05	3,70	-0,118	B532	9,49	6,21
<i>qclt1.7a</i>	7.01	44,16	SM0379B	P	A	26,39	<u>11,94</u>	-0,117	B532	9,31	6,10
<i>qclt1.7b</i>	7.02	57,87	SM0724A	P	P	20,06	4,72	-0,095	B532	6,16	4,04
<i>qclt1.10a</i>	10.01	26,73	SM0346A	P	A	18,67	<u>14,22</u>	0,058	B605	2,30	1,50
<i>qclt1.10b</i>	10.02	35,02	SM0265B	P	A	17,36	<u>12,36</u>	0,056	B605	2,14	1,40

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qcl), testador (t1), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 8 - QTL mapeados em dois ambientes para coloração de grãos nos testecrosses obtidos do testador A17 (T2): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$ %	$R^2_F$ %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qclt2.1a</i>	1.01	12,69	SM0091B	P	P	19,48	7,17	0,068	B605	4,72	2,74
<i>qclt2.1b</i>	1.01	20,31	SM0283A	P	P	16,99	5,11	0,058	B605	3,50	2,03
<i>qclt2.2a</i>	2.00	4,01	SM0292B	P	P	22,54	3,26	-0,102	B532	10,70	6,21

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qcl) e testador (t2), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 9 - QTL mapeados em dois ambientes para maciez de grãos nos testecrosses obtidos do testador A36 (T1): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$ %	$R^2_F$ %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qmct1.1a</i>	1.05	92,77	SM0251C	P	P	25,71	8,06	0,082	B605	6,01	3,69
<i>qmct1.1b</i>	1.05	104,33	SM0159A	P	P	27,16	6,34	0,084	B605	6,27	3,85
<i>qmct1.2a</i>	2.09	112,91	SM0228A	P	P	16,94	2,55	0,091	B605	7,34	4,51
<i>qmct1.2b</i>	2.08	126,68	SM1095A	P	P	22,49	6,08	0,101	B605	9,07	5,56
<i>qmct1.5a</i>	5.03	66,90	SM0211A	P	P	17,71	0,00	-0,106	B532	9,98	6,13
<i>qmct1.7a</i>	7.04	103,10	SM0281D	P	P	20,18	2,06	0,118	B605	12,35	7,58

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qmc) e testador (t1), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 10 - QTL mapeados em dois ambientes para maciez de grãos nos testecrosses obtidos do testador A17 (T2): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$ %	$R^2_F$ %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qmct2.1a</i>	1.04	82,43	SM0657A	P	P	24,88	2,56	0,095	B605	6,80	3,74
<i>qmct2.1b</i>	1.05	88,77	SM0251C	P	P	20,97	2,55	0,082	B605	5,12	2,81
<i>qmct2.1c</i>	1.11	192,50	SM0572C	P	P	18,54	1,64	-0,071	B532	3,87	2,12
<i>qmct2.2a</i>	2.00	11,01	SM0292B	P	P	23,08	8,39	0,106	B605	8,55	4,69
<i>qmct2.2 b</i>	2.02	16,77	SM0403D	P	P	22,54	7,60	0,102	B605	7,92	4,35

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qmc) e testador (t2), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.



Tabela 11 - QTL mapeados em dois ambientes para doçura de grãos nos testecrosses obtidos do testador A36 (T1): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$ %	$R^2_F$ %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qdçt1.2a</i>	2.09	123,91	SM0228A	P	A	22,57	<u>14,48</u>	0,060	B605	14,18	2,25
<i>qdçt1.2b</i>	2.08	126,19	SM0260A	P	A	23,40	<u>14,98</u>	0,058	B605	13,20	2,10
<i>qdçt1.8a</i>	8.05	77,30	SM0006B	P	P	18,80	5,77	0,068	B605	18,18	2,89

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qdç) e testador (t1), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

Tabela 12 - QTL mapeados em dois ambientes para doçura de grãos nos testecrosses obtidos do testador A17 (T2): Posição no genoma, valor do teste da razão de verossimilhança (TRV), efeito de substituição alélica, direção do alelo favorável e proporção da variância genética ( $R^2_G$ ) e fenotípica ( $R^2_F$ )

QTL <sup>a</sup>	Posição			Ambientes <sup>b</sup>		TRV <sup>c</sup>		Efe. Sub. Ale.	Direção <sup>d</sup>	$R^2_G$ %	$R^2_F$ %
	Bin	cM	Marcador	Uberlândia	Itatiba	Conj.	Int.				
<i>qdçt2.1a</i>	1.02	50,53	SM0086B	P	P	20,02	2,15	0,081	B605	11,47	3,99
<i>qdçt2.1b</i>	1.03	62,69	SM0152A	P	P	17,70	1,62	0,060	B605	6,30	2,19
<i>qdçt2.2a</i>	2.08	148,60	SM0683B	P	A	21,42	<u>14,65</u>	-0,045	B532	3,55	1,23
<i>qdçt2.2b</i>	2.09	151,51	SM0593B	P	A	21,96	<u>14,91</u>	-0,042	B532	3,18	1,11
<i>qdçt2.2c</i>	2.09	153,65	SM0588D	P	A	21,35	<u>13,84</u>	-0,042	B532	3,07	1,07

<sup>a</sup>Nome do QTL indicado por prefixo do caráter (qdç) e testador (t2), seguido pelo número do cromossomo em que o QTL foi mapeado e de letra discriminando os vários QTL mapeados em um mesmo cromossomo.

<sup>b</sup>Ambientes onde os QTL foram identificados, onde (P) indica a presença e (A) para ausência do QTL.

<sup>c</sup>O teste de razão de verossimilhança (TRV) sublinhado indica efeito significativo da interação QTL x ambiente.

<sup>d</sup>Indica a linhagem parental que contribui para o aumento do valor genético do caráter.

### 3.2.2.2 Interação QTL x ambiente

Dos 30 QTL mapeados para os caracteres de qualidade em milho doce, 9 apresentaram interação significativa com o ambiente, ou seja 30% dos QTL identificados nesse estudo apresentou expressão diferenciada nos dois ambientes ou mesmo não apresentou efeito em algum dos ambientes (Tabelas 7 a 12).

Para coloração de grãos (CL) nos T1 metade dos QTL mapeados apresentaram interação significativa, o que não ocorreu nos T2, em que nenhum dos 3 QTL mapeados apresentaram interação. Estes resultados concordam com a detecção da interação testecrosses x ambiente na análise de variância para os T1, mas discordam para os T2, em que foi detectada interação T2 x A altamente significativa. O QTL *qclt1.5a*, que apresentou maior efeito para CL, apresentou interação QTL x ambiente, sendo mapeado apenas no ambiente Uberlândia. No entanto, os QTL *qclt1.6a* e *qclt2.2a*, que apresentaram os segundo e terceiro maiores efeitos, foram estáveis tanto em Uberlândia quanto em Itatiba. Portanto, o primeiro poderia ser utilizado para o ambiente Uberlândia e os demais para ambos os ambientes em programas de seleção assistida por marcadores.

A maciez de grãos (MC) não apresentou interação significativa para nenhum dos QTL mapeados, tanto nos T1 quanto nos T2, o que discorda da análise de variância que detectou interação altamente significativa para interação T2 x A. Este resultado pode ser explicado pela limitação do mapeamento de QTL em explicar toda a variância fenotípica do caráter. Os *qmgt1.7a*, *qmgt1.5a*, *qmgt1.2b*, que apresentaram os maiores efeitos são candidatos para SAM.

O caráter com maior número de QTL interagindo com o ambiente foi a doçura de grãos (DÇ). Dos 8 QTL mapeados, 5 apresentaram interação significativa com o ambiente, ou seja, 62,5%. Todavia, os QTL de maiores efeitos, *qdçt1.8a* e *qdçt2.1a*, foram estáveis nos dois ambientes avaliados. A elevada interação para este caráter era esperada conforme detectado pela análise de variância nos dois grupos de testecrosses. Da mesma forma que na produção de grãos, este caráter tem relação direta com a produção de fotoassimilados. Assim, pode-se esperar que também ocorra uma elevada interação testecrosses x ambiente para doçura de grãos.

Não há relatos na literatura de estudos sobre a interação QTL por ambiente para CL, MC e DÇ em milho doce. Para CL a interação QTL x ambiente foi função do testador, demonstrando que o testador utilizado pode afetar a detecção da interação QTL x ambiente para este caráter. Os QTL mapeados para o caráter MC não apresentam interação QTL x ambiente em ambos os grupos de testecrosses, sugerindo ser um caráter pouco influenciado pelo ambiente. Já a elevada interação QTL x A para o caráter DÇ nos dois grupos de testecrosses demonstra que ele é complexo e, portanto, exige avaliação em várias épocas e locais para selecionar QTL estáveis ou específicos para determinado ambiente.

### **3.2.2.3 Coincidência de QTL mapeados entre caracteres**

Nos dois grupos de testecrosses foram identificados apenas 3 regiões genômicas coincidentes entre as posições de QTL mapeados para os diferentes caracteres, sendo 2 regiões nos T1 e 1 região nos T2. Nos T1 foi mapeada uma região entre PG e CL localizado no bin 1.04 e uma entre CL e MC localizado no bin 1.05. Já nos T2 foram mapeados apenas um QTL entre CL e MC localizado no bin 2.00. Os dois QTL mapeados entre CL e MC possivelmente contribuíram para a elevada magnitude da correlação genética entre esses caracteres, obtidas com os dados fenotípicos, tanto nos T1 (-0,79) quanto nos T2 (-0,82). Observa-se que não há nenhum QTL coincidente entre CL e DÇ e, MC e DÇ, discordando das elevadas magnitudes das correlações genéticas entre estes caracteres.

Assim, devido às elevadas magnitudes das correlações genéticas obtidas com os dados fenotípicos entre os caracteres, esperava-se uma maior quantidade de QTL coincidentes. As possíveis razões para a baixa detecção de QTL coincidentes entre caracteres com alta correlação genética poderiam ser devido ao método utilizado nas análises de mapeamento (mCIM) pressupor apenas 1 QTL por intervalo, principalmente entre intervalos maiores, e à limitação do mapeamento de QTL em explicar toda a variância genética dos caracteres (UPADYAYULA et al. 2006) (Tabelas 13 e 14).

Tabela 13 – Regiões genômicas de coincidência entre as posições de QTL mapeados para diferentes caracteres nos testecrosses cruzados com a linhagem testadora A36 (T1)

Cromossomo	Caracteres <sup>a</sup>	QTL	TRV	IC	Marcador	Bin	
1	PG	<i>qpqt1.1b</i>	26,11	21,50	30,72	SM0657A	1.04
	CL	<i>qclt1.1a</i>	28,19	23,58	32,80		
1	CL	<i>qclt1.1b</i>	28,83	24,22	33,44	SM0251C	1.05
	MC	<i>qmct1.1a</i>	25,71	21,10	30,32		

<sup>a</sup>PG, CL e MC referem-se aos caracteres produção de grãos, coloração de grãos e maciez de grãos, respectivamente.

Tabela 14 - Regiões genômicas de coincidência entre as posições de QTL mapeados para diferentes caracteres nos testecrosses cruzados com a linhagem testadora A17 (T2)

Cromossomo	Caracteres <sup>a</sup>	QTL	TRV	IC	Marcador	Bin	
2	CL	<i>qclt2.2a</i>	22,54	17,93	27,15	SM0292B	2.00
	MC	<i>qmct2.2a</i>	23,08	18,47	27,69		

<sup>a</sup>CL e MC referem-se aos caracteres coloração dos grãos e maciez de grãos, respectivamente.

### 3.2.2.4 Considerações finais

A estratégia de utilizar linhagens do mesmo grupo heterótico para formar a população de mapeamento e o cruzamento das progênies desta população com linhagens testadoras de grupo heterótico oposto originou ampla variabilidade genética em todos os caracteres estudados. Este resultado demonstra que é possível desenvolver populações segregantes com variabilidade genética suficiente para serem utilizadas simultaneamente no mapeamento de QTL e no desenvolvimento de linhagens e híbridos para os programas de melhoramento comerciais. Desta maneira, os testecrosses superiores avaliados neste estudo continuarão o processo de seleção em ensaios regionais de competição de cultivares e caso apresentem boa performance serão liberados como híbridos comerciais. Paralelamente, os QTL e progênies identificadas poderão ser utilizados em programas de seleção assistida por marcadores moleculares com o objetivo de gerar progênies com maior concentração de alelos

favoráveis para novamente serem avaliadas em ensaios regionais de competição de cultivares.

A variância genética foi função do testador apenas para CL, evidenciando a importância do efeito de dominância neste caráter. Assim, a escolha do testador para estudos de mapeamento de QTL em testecrosses é fundamental, pois a utilização de testadores com tonalidades de amarelo mais acentuado pode reduzir drasticamente a variância genética dos testecrosses limitando a detecção de QTL. O fato das variâncias genéticas não terem variado em função dos testadores para MC evidencia que os efeitos aditivos são mais importantes para esse caráter, haja vista que os dois grupos de testecrosses divergiram quanto às suas médias. Assim, uma estratégia de melhoramento seria a seleção nas linhagens para obter ganhos de seleção nos testecrosses. Por sua vez, a elevada interação genótipo x ambiente obtido para DÇ em ambos os testecrosses reduziu muito a magnitude da variância genética o que possivelmente contribuiu para a ausência do efeito de testadores na magnitude da variância genética.

As estimativas dos coeficientes de herdabilidade não foram afetadas pelo testador em nenhum dos caracteres avaliados. As magnitudes variaram de moderada (CL e MC) a baixa (DÇ). A elevada interação QTL x ambiente obtida para doçura de grãos, em ambos os grupos de testecrosses, somada à baixa magnitude do coeficiente de herdabilidade para este caráter demonstra que este é um caráter complexo e de difícil avaliação. Da mesma forma que para outros caracteres complexos como a produção de grãos, por exemplo, este caráter deve ser avaliado em diversas repetições, locais e anos objetivando aumentar o coeficiente de herdabilidade e conseqüentemente a precisão no mapeamento de QTL. Além disso, caracteres com elevada correlação com os caracteres de qualidade e que apresentem coeficientes de herdabilidade elevados podem ser uma alternativa para aumentar as respostas à seleção desses caracteres. Alguns autores têm proposto a medição da espessura do pericarpo e o teor de sacarose na seleção indireta para maciez e doçura de grãos, respectivamente. A avaliação destes caracteres como rotina nos programas de melhoramento ainda é limitada, principalmente devido ao elevado custo e por não haver equipamentos precisos e portáteis para utilização no campo. Entretanto, em estudos de mapeamento

de QTL, onde o número de populações utilizadas corresponde a uma pequena fração do total trabalhado nos programas de melhoramento, a avaliação destes caracteres pode ser viável.

A baixa magnitude das correlações genéticas e fenotípicas entre produção de grãos e todos os caracteres de qualidade estudados em ambos os grupos de testecrosses permite concluir que a seleção para aumentar a produção de grãos pode ser realizada sem resposta correlacionada na coloração, maciez e doçura de grãos. Por sua vez, entre os caracteres de qualidade, as elevadas magnitudes das correlações genéticas e fenotípicas negativas entre coloração de grãos e os caracteres maciez e doçura e positivas entre maciez e doçura, indicam que estes caracteres podem ser selecionados simultaneamente. Entretanto, é importante ressaltar que este resultado é específico para a população estudada, exigindo confirmação em outras populações e testadores. Os únicos dois QTL coincidentes entre os caracteres de qualidade foram entre os caracteres CL e MC, *qclt1.1b* e *qmct1.1a* no bin 1.05 e *qclt2.2a* e *qmct2.2a* no bin 2.00. Estes QTL corroboram com a correlação genética alta entre estes caracteres, evidenciando serem regiões importantes para o controle de ambos os caracteres. As magnitudes das correlações genéticas e fenotípicas variando de moderada a baixa entre os grupos de testecrosses, demonstra que os testecrosses foram poucos correlacionados. Por conseguinte, ocorreu apenas uma região genômica, mapeada para MC, coincidente entre os QTL mapeados para os dois grupos de testecrosses, indicando a forte interação QTL x testador nesses caracteres. Portanto, a elevada interação QTL x testador indica que a escolha do testador para a aplicação dos QTL no melhoramento de plantas é fundamental.

O número de QTL mapeados foi função da variância genética dos testecrosses. Por exemplo, para CL em que houve diferenças na magnitude das variâncias genéticas, também ocorreu diferenças significativas no número de QTL mapeados. Todavia, para MC e DÇ, em que não ocorreram diferenças nas variâncias genéticas entre os grupos de testecrosses, também não houve variações significativas no número de QTL mapeados. Estes resultados permitem inferir que a variação no número de QTL mapeados foi função da variância genética dos testecrosses para CL e reforça a importância da escolha do testador para maximizar a variância genética nos estudos de

mapeamento de QTL para este caráter. A variabilidade genética é condição fundamental para o mapeamento de QTL e foi maximizada neste estudo, utilizando uma estratégia comumente adotada nos programas de melhoramento para geração de híbridos comerciais. Para obtenção da variabilidade na população *per se*, foram cruzadas duas linhagens do mesmo grupo heterótico, mas contrastantes para diversos caracteres de interesse. Por sua vez, os testecrosses foram obtidos cruzando-se os indivíduos da população com testadores de grupo heterótico oposto. Esta estratégia, além de gerar variabilidade para o mapeamento de QTL, permitiu explorar a heterose na geração de híbridos superiores, facilitando assim a sua incorporação na rotina dos programas de melhoramento.

Nenhum dos QTL mapeados para os caracteres de qualidade explicou mais de 10% da variância fenotípica. Adotando um critério de selecionar QTL estáveis nos dois ambientes e com ( $R_F^2$ ) igual ou acima de 5%, os seguintes QTL seriam candidatos para uso em programas de seleção assistida por marcadores: *qclt1.6a* (6,21%), *qclt1.7a* (6,10%), *qclt2.2a* (6,21%), *qmct1.2b* (5,56%), *qmct1.5a* (6,13%) e *qmct1.7a* (7,58%).

A escolha da melhor estratégia para utilizar os QTL mapeados neste estudo em programas de seleção assistida por marcadores moleculares depende do número de QTL de interesse e da magnitude do efeito desses no controle do caráter. A introgressão ou piramidamento de QTL é uma estratégia amplamente utilizada quando o número de QTL de interesse é pequeno e os QTL mapeados possuem elevado efeito na expressão do caráter. Exemplos bem sucedidos do uso desta estratégia estão disponíveis para germinação de milho doce (YOUSEF; JUVIK, 2002) e resistência ao nematóide do cisto em soja (CONCIBIDO; DIERS; ARELLI, 2004). Todavia, se o número de QTL de interesse for grande e explicar pouco da variância dos caracteres, como é o caso dos resultados desse estudo, duas estratégias têm sido propostas: o enriquecimento de  $F_2$  (BONNETT et al. 2005; WANG et al. 2007) e MARS (Marked-assisted recurrent selection) (HOSPITAL et al. 1997; JOHNSON, 2004; BERNARDO e CHARCOSSET, 2006). Outro método proposto para seleção de caracteres quantitativos em plantas e que tem apresentado maior eficiência que a MARS é a seleção genômica ampla (GWS – Genome wide selection) (BERNARDO; YU 2007). Basicamente, ele diferencia-se da MARS por não exigir conhecimento prévio da posição dos QTL (mapa



genético) e utilizar todos os marcadores para estimar os valores genotípicos dos indivíduos (MEUWISSEN et al., 2001; BERNARDO, 2008; RESENDE et al., 2008). Contudo, é importante enfatizar que todos os métodos devem ser aplicados em conjunto com a seleção fenotípica com intuito de aumentar a eficiência da seleção para qualidade de grãos nos programas de melhoramento de milho doce.

## Referências

- AZANZA, F.; TADMOR, Y.; KLEIN, B.P.; ROCHEFORD, T.R.; JUVICK, J.A. Quantitative trait loci influencing chemical and sensory characteristics of eating quality in sweet corn. **Genome**, Canada, v. 39, p. 40-50, 1996.
- BASTEN, C.J., WEIR, B.S.; ZENG, Z.-B. **QTL Cartographer**. Raleigh: Department of Statistics, North Carolina State University, 2001. 161 p.
- BERNARDO, R.; YU, J. Prospects for genome wide selection for quantitative traits in maize. **Crop Science**, Madison, v. 47, p. 1082-1090, 2007.
- BERNARDO, R. Molecular markers and selection for complex traits in plants: learning from the last 20 years. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 1649-1664, 2008.
- BOHN, M.; KHAIRALLAH, M.M.; GONZÁLEZ-DE-LÉON, D.; HOISINGTON, D.A.; UTZ, H.F.; DEUTSCH, J.A.; JEWELL, D.C.; MIHM, J.A.; MELCHINGER, A.E QTL mapping in tropical maize: II. Comparison of genomic regions for resistance to *Diatrea* spp. **Crop science**, Madison, v. 37, n. 6, p. 1892-1902, 1997.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNTA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BUCKNER, B.; SAN MIGUEL, P.; BENNETZEN, J.L. The *y1* gene of maize codes for phytoene synthase. **Genetics**, Pittsburgh, v. 143, p. 479-488, 1996.
- BURDICK, R.K.; GRAYBILL, F.A. **Confidence intervals on variance components**. New York: Marcel Dekker, 1992, v. 127. 211 p.
- CARDOSO, E. T.; SERENO, M. J. C.; NETO, J. F. B. Heritability estimates for quality and ear traits in sweet corn. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 2, p. 493-498, 2002.
- CARDOSO, W. S.; PAES, M. C. D.; GALVÃO, J. C. C.; RIOS, S. A.; GUIMARÃES, P. E. O.; SHCAFFERT, R. E.; BORÉM, A. Variabilidade de genótipos de milho quanto à composição de carotenóides nos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, p. 164-173, 2009.
- COE, E. H. Color factors that affect white corn quality. **Maize Genetic Cooperation Newsletter**, Minneapolis, v. 58, p. 75-76, 1984.
- COE, E. H.; NEUFFER, M. G.; HOISINGTON, D. A. In: SPRAGUE, G. F.; DUDLEY, J. W. (Ed.) **Corn and corn improvement**. 3<sup>rd</sup> ed., Madison: Iowa State University Press. 1988. p. 81-258.

CHANDER, S.; GUO, Y. Q.; YANG, X. H.; ZHANG, J.; LU, X. Q.; YAN, J. B.; SONG, T. M.; ROCHEFORD, T. R.; LI, J. S. Using molecular markers to identify two major loci controlling carotenoid contents in maize grain. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 116, p. 223-233, 2008.

CHANG, Y. M. **Indirect effects of divergent recurrent selection for endosperm phenotype in sweet corn** 1990, 95 p. Master's thesis - Department of Agronomy, Univ. of Wisconsin, Madison, 1990.

CONCIBIDO, V.C.; DIERS, B.W.; ARELLI, P.R. A decade of qtl mapping for cyst nematode resistance in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1121-1131, 2004.

DELLAPORTA S. L.; WOOD J.B.; HICKS, J.B. A plant DNA miniprep: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, Tucson, v. 1, p. 19-21, 1983.

FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to Quantitative Genetics**. 4<sup>th</sup> ed. London: Longman Scientific e Technical, 1996. 464 p.

FORD R. H. Inheritance of kernel color in corn: explanations & investigations. **The American Biology Teacher**, Washington, v. 62, p. 181-188, 2000.

GALLAGHER, C. E.; MATTHEWS, P. D.; LI F. Q.; WURTZEL, E. T. Gene duplication in the carotenoid biosynthetic pathway preceded evolution of the grasses. **Plant Physiology**, Minneapolis v. 137, p. 1776-1783, 2003.

GROTEWOLD, E.; DRUMMOND, B. J.; BOWEN, B.; PERTERSON, T. The *myb*-homologous *P* gene controls phlobaphene pigmentation in maize floral organs by directly activating a flavonoid biosynthetic gene subset. **Cell**, Cambridge, v. 76, p. 543-553, 1994.

HABLE, W. E.; OISHI, K. K.; SCHUMAKER, K. S. Viviparous-5 encodes phytoene desaturase, an enzyme essential for abscisic acid (ABA) accumulation and seed development in maize. **Molecular and General Genetics**, Berlin, v. 257, n.2, p. 167-176, 1998.

HALE, T. A.; HASSELL, R. L.; PHILLIPS, T.; HALPIN, E. Penetrometer and taste panel perception of pericarp tenderness in *su*, *se*, and *sh2* sweet corn at three maturities. **Horttechnology**, Alexandria, v. 14, n.4, p. 521-524, 2004.

HELM, J. L.; ZUBER, M. S. Inheritance of pericarp thickness in corn belt maize. **Crop Science**, Madison, v. 12, p. 428-430, 1972.

HO, L. C.; KRANNENBERG, L. W. HUNTER, R. B. Inheritance of pericarp thickness in short season maize inbreds. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ontario, v. 17, p. 621-629, 1975.

HUELSEN, W.A. Sweet corn. In: **Economic Crops**. New York: Interscience, 1954. 409 p.

ITO, G. M.; BREWBAKER, J. L. Genetic advance through mass selection for tenderness in sweet corn. **Journal of American Society of Horticulture Science**. Stanford, v. 106, p. 469-499, 1981.

ITO, G. M.; BREWBAKER, J. L. Genetic analysis of pericarp thickness in progenies of eight corn hybrids. **Journal of American Society for Horticulture Science**, Stanford, v. 116, n.6, p. 1072-1077, 1991.

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

JUVIK, J.A.; JANGULO, M.C.; HEADRICK, J.M.; PATAKY, J.K.; TRACY, W.F. Changes in characteristics of kernels in a population of *shrunk2* maize selected for improved field emergence and increased kernel weight. **Journal of American Society of Horticulture Science**, Stanford, v. 118, p. 135-140, 1993.

KAUKIS, K.; DAVIS, D.W. Sweet corn breeding. In: BASSETT, M.J. **Breeding vegetable crops**. Connecticut: The Avi Publishing Company, 1986. p. 477-512.

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

KURILICH, A. C.; JUVIK, J. A. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. J. **Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 47, p. 1948-1955, 1999.

LI, Z. H.; MATTHEWS, P. D.; BURR, B.; WURTZERL, E. T. Cloning and characterization of a maize cDNA encoding phytoene desaturase, an enzyme of the carotenoid biosynthetic pathway. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 30, p. 269–279, 1996.

LIVAK, K.J. Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay, **Genetic Analysis**. Boston, v. 14 , p. 143–149, 1999.

LÜBBERSTEDT, T.;MELCHINGER, A.E.; SHCÖN, C.C.; UTZ, F.; KLEIN, D. QTL Mapping in testcrosses of European flint lines of maize: I. comparison of different testers for yield traits. **Crop Science**, Madison, v. 37, n.3, p. 921-931, 1997.

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

MACHADO, J.A. Melhoramento genético do milho doce (*Zea mays* L.). 1980, 78 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1980.

MATTHEWS, P. D.; LUO, R.; WURTZEL, E. T. Maize phytoene desaturase and zeta carotene desaturase catalyze a poly-Z desaturation pathway: implications for genetic engineering of carotenoid content among cereal crops. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, p. 2215–2230, 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Technique**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 448 p.

MEUWISSEN, T.H.E.; HAYES, B.J.; GODDARD, M.E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, Austin, v. 157, p. 1819-1829, 2001.

MICHAELS, T. E.; ANDREW, R. H. Sugar accumulation in *sh2* sweet corn kernels. **Crop Science**, v. 26, p. 104, 1986.

MIRANDA FILHO, J.B.; VENCOVSKY, R. **Variance among testcrosses**. Piracicaba: USP/ESALQ, Departamento de Genética, 2001. 11 p. (publicação Didática).

PROVINCE, M.A. Sequential methods of analysis for genome scans. **Advances in Genetics**, New York, v. 42, p. 499-514, 2001.

RESENDE, M.D.V; LOPES, P.S.; SILVA, R.L. da; PIRES, I.E. Seleção Genômica Ampla (GWS) e Maximização da Eficiência do Melhoramento Genético. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n.56, p. 63-77, Jan/Jun. 2008.

REVILLA, P.; MALVAR, R. A.; RODRIGUEZ, V. M.; BUTRÓN, A.; ORDÁS, B.; ORDÁS, A. Variation of *surgary1* and *shrunken2* gene frequency in different maize genetic backgrounds. **Plant Breeding**, Berlin, v. 125, p. 478-481, 2006.

Richardson, D. L., Pericarp thickness in popcorn, **Agronomy Journal**, Stanford, p. 52-77, 1960.

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

SEARLE, S.P.; CASELA, G.; MACCULLOCK. **Variance components**. New York: John Wiley & Sons, 1992, 501 p.

SINGH, M.; LEWIS, P. E.; HARDEMAN, K.; BAI, L.; ROSE, J. K. C.; AZOUREK, M.; CHOMT, P.; BRUTENELL, T. P. Activator mutagenesis of the pink scutellum1/viviparous7 locus of maize. **Plant Cell**, Waterbury, v. 15, n.4, p. 874–884, 2003.

SOBERALSKE, R.M.; ANDREW, R.H. Gene effects on kernel moisture and sugars of near-isogenic lines of sweet corn. **Crop Science**, Madison, v. 18, p. 743-746, 1978.

SOBERALSKE, R. M.; ANADREW, R. H. Gene effects on water soluble polysaccharides and starch of near-isogenic lines of sweet corn. **Crop Science**, Madison, v. 20, p. 201, 1980.

SOUZA JÚNIOR, C. L. Melhoramento de espécies alógamas. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELHO, I. S.; VLADARES-INGLIS, M. C. (Ed.) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: fundação MT, 2001. Cap.8, p. 159-199.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw-Hill Book, 1980. 633 p.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. London: Academic Press, 1985. 311 p.

TADMOR, Y.; AZANZA, F.; HAN, T.; ROCHEFORD, T. R.; JUVIK, J. A. RFLP mapping of the sugary enhancer1 gene in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 91, p. 489-494, 1995.

TRACY, W.F.; CHANDRAVADANA, P.; GALINAT, W.C. More on pericarp and aleurone thickness in maize and its relatives. **Maize Genetics and Cooperate News Letter**, Minneapolis, v. 52, p. 60-62, 1978.

TRACY, W. F.; SHMIDIT, D. H. The effect of endosperm type on pericarp thickness in sweet corn inbreds, **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 692, 1987.

TRACY, W.F. Potential of field corn germplasm for the improvement of sweet corn. **Crop Science**, Madison, v. 30, p. 1041-1045, 1990.

TRACY, W.F. Sweet corn. In: HALLAUER, A.R. **Specialty corn**. Boca Raton: CRC Press, 2001. p. 155-198.

UPADYAYULA, N.; da SILVA, H. S.; BOHN, M. O.; ROCHEFORD, T. R. Genetic and QTL analysis of maize tassel and ear inflorescence architecture. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 112, n. 4, p. 592-606, 2006.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade brasileira de genética, 1992. 496 p.

VIERA, C.; PASYUKOVA, E.G.; ZENG, Z.B.; HACKETTE, J.B.; LYMAN, R.F.; MACKAY, T.F.C. Genotype-environment interactions for quantitative trait loci affecting life span in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**, Baltimore, v. 154, p. 213-227, 2000.

WANG, B.; BREWBAKER, J. L. Quantitative trait loci affecting pericarp thickness of corn kernels. **Maydica**, Bergamo, v. 46, p. 159-165, 2001.

WATSON, S. A. The yellow carotenoid pigments of corn. In: Heckendorn W.; Sutherland, J.I. **Hybrid Corn Industry**, Chicago: American Seed Trade Association, 1962. p. 92–100.

WONG A.D.; JUVIK J.A.; BREEDEN D.C.; SWIADER J.M. Shrunken2 sweet corn yield and chemical components of quality. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Stanford, v. 119, n.4, p. 747-755, 1994.

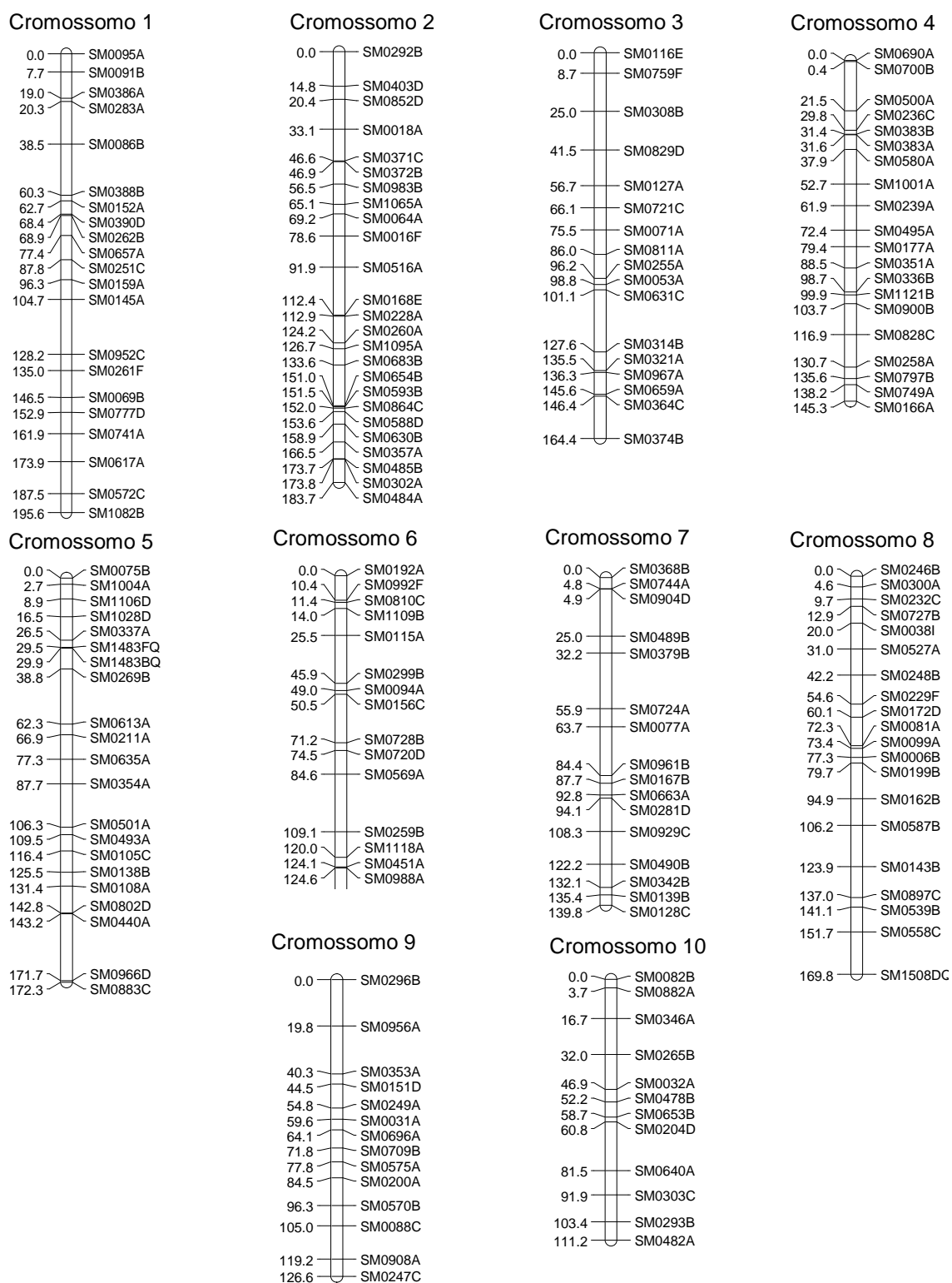
WONG, J. C.; LAMBERT, R. J.; WURTZEL, E. T.; ROCHEFORD, T. R. QTL and candidate gene phytoene synthase and  $\zeta$ -carotene desaturase associated with the accumulation of carotenoids in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 108, p. 349-359, 2004.

YOUSEF, G.G.; JUVIK, J.A. Enhancement of seedling emergence in sweet corn by marker-assisted backcrossing of beneficial QTL. **Crop Science**, Madison, v. 42, p. 96-104, 2002.

ANEXO







ANEXO A – Mapa genético dos 10 cromossomos do milho doce para a população  $F_{4:5}$  construído com 182 marcadores SNP. Posições e distâncias dos marcadores (cM) em relação ao primeiro marcador de cada cromossomo de acordo com a função de Kosambi.