

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

**Análise genética do caráter *stay green* em milho utilizando o delineamento
III**

Melina Teixeira Andrade

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

**Piracicaba
2012**

Melina Teixeira Andrade
Engenheira Agrônoma

Análise genética do caráter *stay green* em milho utilizando o delineamento III

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

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

**Piracicaba
2012**

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

Andrade, Melina Teixeira

Análise genética do caráter stay green em milho utilizando o delineamento III / Melina
Teixeira Andrade. - - Piracicaba, 2012.

61 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Delineamento genético 2. Herança genética 3. Melhoramento genético
vegetal 4. Milho 5. Senescência retardada 6. Variação genética I. Título

CDD 633.15
A553a

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

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Simoni e Davi,
e ao meu irmão, Otávio, que
são, com certeza, a base de tudo.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pela proteção, força e guia em todos os momentos.

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

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

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

A todos os professores e funcionários do Departamento de Genética, pelos ensinamentos transmitidos e amizades conquistadas.

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

Aos funcionários do Laboratório de Milho II, do Departamento de Genética: ao “Seu Ari” (Ariberto Soares de Oliveira), Guilherme dos Santos Diehl e Juscelino (Antonio Juscelino Desidério), pela condução dos experimentos e ajuda na coleta dos dados, e também pelo acolhimento e conhecimentos compartilhados.

Ao professor Dr. João Bosco dos Santos pelo apoio na realização do mestrado na ESALQ/USP.

À Lu e à tia Marilda pela revisão criteriosa da dissertação. Muito obrigada!

Aos amigos do laboratório de melhoramento de milho: Adriana Robles, Alexandre Morais, Antônio Delgado, Diego Velásquez, Gustavo Moro, Luciana Chaves, Marcela Mendes, Paolo Zancanaro, Pedro Mendoza, Ruben Díaz e Thiago Aragão, pela amizade, pelo apoio e troca de experiências. E aos amigos do laboratório de soja: Leandro, Larissa, Guilherme, Fernando e Rosa. Particularmente ao Thiaguinho e ao Leandro pelo companheirismo durante todo o mestrado.

À família de Pira: Marcela Mendes e Izabela de Oliveira. E aos amigos queridos que fiz nesta cidade: Augusto Diniz, Fernando Toledo, Guilherme Pereira, Karina Lima, Matheus Nunes, Michel Catellani, Mônica Ferreira, Rafaela Naves, Taislene Butarello.

À Thais Paula de Souza por me receber tão bem durante o estágio que fiz aqui.

Especialmente ao meu namorado, Jonas, por todo apoio, incentivo, paciência, conselhos, compreensão e amor, desde o princípio dessa jornada.

Aos meus pais, Simoni e Davi, ao meu irmão Otávio e a toda a minha família (incluindo os Simões Coelho), pelo apoio, pela confiança, pelo amor incondicional e pela compreensão nos momentos de ausência.

Aos amigos de outras datas, principalmente os mais distantes, pelo incentivo, pelo apoio, confiança, carinho e pelas recepções calorosas a cada reencontro.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
LISTA DE TABELAS	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	17
2.1 Revisão Bibliográfica.....	17
2.1.1 Melhoramento genético de milho visando tolerância ao estresse hídrico	17
2.1.2 Stay green	19
2.1.2.1 Senescência em plantas	19
2.1.2.2 Importância do stay green.....	20
2.1.2.3 Tipos de stay green.....	23
2.1.2.4 Métodos de avaliação do caráter stay green	24
2.1.2.5 Herança do caráter stay green em milho	25
2.2 Material e Métodos	27
2.2.1 Material genético.....	27
2.2.1.1 Obtenção das progênies de retrocruzamentos.....	27
2.2.2 Procedimento experimental	28
2.2.2.2 Caracteres avaliados	29
2.2.3 Análises estatístico-genéticas	29
2.2.3.1 Análises de variância	29
2.2.3.2 Estimativa de parâmetros genéticos	33
2.3 Resultados e Discussão	36
2.3.1 Médias e coeficientes de variação (CV).....	36
2.3.2 Análises de variâncias	38
2.3.3 Estimativas das variâncias	38
2.3.4 Grau médio de dominância (\hat{d})	39
2.3.5 Estimativas dos coeficientes de herdabilidade.....	40
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	45
ANEXOS.....	55

RESUMO

Análise genética do caráter *stay green* em milho utilizando o delineamento III

Diversas pesquisas têm reportado que o aumento da produtividade da cultura do milho se deve muito mais à tolerância a estresses abióticos do que a aumentos *per se*. O déficit hídrico é um dos mais importantes fatores envolvidos na redução de produtividade nessa cultura, mas devido à dificuldade de seleção direta para tolerância à seca, são empregados caracteres secundários como o caráter *stay green* ou senescência retardada de folhas e colmos. Todavia, estudos sobre a herança desse caráter são escassos na literatura. Em vista disso, este trabalho teve como objetivo estudar a herança deste caráter em milho tropical, utilizando o delineamento III (Comstock e Robinson, 1952). A partir do cruzamento entre as linhagens endogâmicas L08-05F e L38-05D, foram obtidas 100 progênies $F_{2:3}$, as quais foram retrocruzadas com cada um dos parentais, resultando em 200 progênies de retrocruzamento. Estas progênies foram avaliadas em dez ambientes, com duas repetições por ambiente, em Piracicaba SP, utilizando o delineamento α -látice. A avaliação do *stay green* foi feita em dez plantas competitivas por parcela, 120 dias após a semeadura, utilizando uma escala de notas variando de 1 a 5, em que 1 correspondeu às plantas com todas as folhas acima e pelo menos duas folhas verdes abaixo da espiga e 5 à planta com todas as folhas secas. O caráter florescimento feminino foi avaliado e utilizado como covariável para ajuste das variações de maturação das progênies, e as médias das parcelas foram utilizadas para as análises. A estimativa da variância aditiva foi muito superior à de dominância e a variância da interação aditiva por ambiente apresentou maior magnitude que a variância aditiva. O tipo de ação gênica foi de dominância parcial, mas devido ao desequilíbrio de ligação da população, este pode estar superestimado. O coeficiente de herdabilidade em nível de plantas apresentou baixa magnitude (~25%) enquanto que em nível de médias a magnitude foi elevada (~70%). Estes resultados indicam que os efeitos aditivos são mais importantes que os dominantes no controle do caráter *stay green* e que os efeitos aditivos não são consistentes nos diversos ambientes de avaliação. Assim, o nível de heterose deve apresentar baixa magnitude, e a seleção fenotípica não pode ser realizada em nível de plantas, mas baseada em médias de experimentos com repetições, conduzidas em diversos ambientes para minimizar os efeitos destes e suas interações com os genótipos. A linhagem L08-05F apresentou maior nível de *stay green* que a linhagem L38-05D e, portanto, pode ser utilizada como fonte de alelos favoráveis para serem transferidos para outras linhagens visando aumentar o nível deste caráter em linhagens que apresentarem baixos níveis de senescência retardada.

Palavras-chave: Melhoramento vegetal; Senescência retardada; Herança; Delineamento genético; Variância genética

ABSTRACT

Genetic analysis of the stay green trait in maize using the design III

Several researches have reported that the increase in maize productivity could be attributed to the tolerance to abiotic stresses rather than to an increase on a plant productivity per se. Moisture stress is one of the most important stresses that reduce the maize productivity, but because of the difficulties for the direct selection for tolerance to moisture stress secondary traits as delayed senescence, also known as stay green trait, has been employed for this purpose. However, there is limited information reported on the inheritance of this trait. Thus, the objective of this research was to study the inheritance of the stay green trait in maize using the design III (Comstock and Robinson, 1952). One hundred $F_{2:3}$ progenies were developed from a population derived from the cross between the inbred lines L08-05F and L38-05D; and these progenies were backcrossed to the inbred parents giving rise to 200 backcrossed progenies. These progenies were evaluated in ten environments, with two replications per environment, in Piracicaba City, São Paulo State, using the experimental design α -lattice. The stay green trait was recorded in ten competitive plants per plot 120 days after sowing, using a scale with scores from 1 to 5, where score 1 was assigned to the plants with all leaves above the ear and at least two leaves below the ear green, and score 5 was assigned to plants with all leaves senescent. The trait days to silking was also recorded and used as covariate to adjust the maturation variation of the backcrossed progenies, and the mean of the plots was used for analysis. The estimate of the additive variance was quite larger than the dominance variance, the additive x environment variance was quite larger than the additive variance, and the average level of dominance was partial dominance, but since the population was in linkage disequilibrium the level of dominance may be overestimated. The heritability coefficient on a plant level was of low magnitude (~25%) while that one on a mean level presented high magnitude (~70%). These results indicated that the additive effects were more important than the dominance effects for the control of the stay green trait, and that the additive effects are not consistent across the environments. Therefore, the level of heterosis should present low magnitude, and the phenotypic selection should not be conducted on a plant level; instead selection should be based on the means of replicated experiments assessed in several environments to minimize their effects and the genotype by environment interactions. The inbred line L08-05F presented higher level of stay green than the inbred L38-05D and thus the former inbred could be used as a source of favorable alleles to be transferred to others inbreds to increase the level of this trait in inbreds that have low levels of delayed senescence.

Keywords: Plant breeding; Delayed senescence; Inheritance; Genetic design; Genetic variance

1 INTRODUÇÃO

A população mundial atualmente é de cerca de sete bilhões de habitantes e, segundo estimativa da FAO, essa população aumentará para mais de nove bilhões em 2050 (FAO, 2012), o que demandará uma produção de alimentos muito maior. Os cereais são a base da alimentação da grande maioria da população mundial, sendo que o milho constitui uma importante fonte de calorias, juntamente com o arroz e o trigo (ORNELLA; CERVIGNI; TAPIA, 2012). O cultivo desse cereal visa a suprir as necessidades do homem direta ou indiretamente, sendo que cerca de 70% da produção é destinada à alimentação animal, principalmente de aves e suínos, e o restante se distribui entre a alimentação humana e a indústria (DUARTE, 2000). Atualmente o milho é o cereal mais produzido no mundo (FAOSTAT, 2012).

Em 1997 o Brasil ocupava o terceiro lugar na lista dos maiores produtores mundiais de milho, com 34 milhões de toneladas. Neste mesmo ano, a produção mundial total foi de 589 milhões de toneladas (FAO, 1997). Para a safra 2012/2013 a produção brasileira esperada é de mais de 70 milhões de toneladas (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012) e a produção mundial está estimada em mais de 860 milhões de toneladas de milho (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2012).

Duvick, Smith e Cooper (2004) reportaram a contribuição do melhoramento genético para o aumento da produtividade de milho no Cinturão do Milho, região central dos Estados Unidos, nos últimos 40 anos. Os resultados de seus estudos indicaram como o melhoramento transformou o milho na cultura mais produtiva do mundo. Segundo esses autores, os aumentos em produtividade se devem muito mais à tolerância a estresses do que a aumentos de produtividade *per se*.

No Brasil, a maior parte da produção comercial do milho é realizada sem o uso de irrigação. A produção do milho brasileiro se divide em duas safras, sendo que a primeira safra compreende os meses de setembro a dezembro e a segunda safra, também chamada “safrinha”, é cultivada entre os meses de janeiro a março. Segundo a CONAB (2012) a área plantada com milho na safrinha de 2012 superou a área plantada com a primeira safra. Todavia, a safrinha é a época com maior probabilidade de ocorrência de períodos de déficits hídricos, fato que, aliado à imprevisibilidade do clima, pode gerar enormes prejuízos para o produtor em anos de seca acentuada. Calcula-se que essas perdas podem chegar a 50% em regiões tropicais, como é o caso do Brasil (EDMEADES et al., 1997).

O déficit hídrico, comum em ambientes tropicais, é um importante fator limitante da produção de milho nesses ambientes, principalmente, em países de baixa renda (EDMEADES et al., 1998; DURÃES et al., 2004). Por isso, um dos desafios da agricultura para os próximos anos é o aumento da produção de alimentos, com recursos hídricos cada vez mais escassos e sob mudanças climáticas que tendem a causar períodos de déficit hídricos cada vez mais pronunciados (EDMEADES, 2008). Desse modo, uma estratégia para amenizar o estresse hídrico na produção agrícola, principalmente de milho, é utilizar cultivares tolerantes à escassez de água (CARROW, SHEARMAN, WATSON, 1990). Edmeades (2008) estima que 25% das perdas devido aos déficits hídricos podem ser eliminadas por melhoramento genético.

A seleção para produção de grãos sob estresse hídrico, porém, tem sido considerada ineficiente devido à alta proporção da variância ambiental em relação à variância genética, o que reduz a herdabilidade do caráter e dificulta a seleção de genótipos superiores (RIBAUT et al., 1999). O melhoramento genético em condições de déficit hídrico é moroso e laborioso, visto que as condições experimentais devem ser cuidadosamente manejadas. Além disso, o aumento do estresse de umidade induz a redução na produção, sendo dependente de dois fatores com efeitos combinados, ou seja, a suscetibilidade da planta à condição de estresse e a expressão do potencial produtivo, tanto sob estresse, quanto em condições normais, fazendo com que a seleção se torne mais complexa. Na maioria dos países tropicais, há apenas uma época do ano em que não ocorrem chuvas e se pode praticar a seleção para tolerância a déficit de umidade, o que aumenta o tempo gasto no desenvolvimento e na liberação de cultivares tolerantes a essa condição (RIBAUT et al., 1997; CÂMARA et al., 2007). Em vista disso, sob condições normais de cultivo, o uso de caracteres secundários pode aumentar a eficiência da seleção para tolerância ao estresse hídrico e produção de grãos. É importante, no entanto, que esses caracteres tenham valor adaptativo ao estresse, sejam de fácil mensuração, passíveis de serem avaliados em larga escala e altamente correlacionados com produção de grãos (BOLAÑOS; EDMEADES; MARTINEZ, 1993; RIBAULT et al., 1996; RIBAULT; HOISINGTON; DEUTSCH, 1997; AGRAMA; MOUSSA, 1996; BÄZINGUER et al., 2000; KAMARA et al., 2003; DURÃES et al., 2004).

Estudos realizados para tolerância a déficits hídricos sugerem que os caracteres relacionados ao estresse hídrico em milho são: intervalo entre o florescimento masculino e feminino, prolificidade (número de espigas por planta), número de ramificações do pendão e *stay green* ou senescência retardada das folhas e colmos (CÂMARA et al., 2007; COSTA et al., 2008). Genótipos com elevado *stay green*, alta prolificidade e reduzido intervalo entre

florescimentos são menos afetados por estresses hídricos (CHAPMAN; EDMEADES, 1999; BÄNZINGER et al., 2000).

O genótipo *stay green* se caracteriza por apresentar uma senescência retardada em relação à média dos genótipos da espécie. Estudos indicam que, além de estar relacionado à tolerância ao estresse hídrico, o *stay green* pode aumentar a tolerância a pragas e doenças, reduzir o acamamento de plantas, tornar a cultura tolerante a um maior adensamento e também estar relacionado ao aumento da produtividade, direta ou indiretamente (DUVICK, 1984; RUSSEL, 1986; GENTINETTA et al., 1986; THOMAS; SMART, 1993; CHOI et al., 1995; DUVICK; CASSMAN, 1999; CÂMARA, 2006; JOSHI et al., 2007; COSTA et al., 2008). A relevância do caráter é constatada, observando-se os cultivares atualmente lançados no mercado. Empresas produtoras de sementes de milho e sorgo, por exemplo, dificilmente lançam um novo cultivar que não apresente esse caráter (AGUIAR, 1999; CÂMARA, 2006; COSTA et al., 2008; BELICUAS, 2009). Resultados comparativos mostram que híbridos comerciais de milho lançados nas últimas seis décadas do século passado apresentaram um aumento significativo na expressão do caráter *stay green* (CAMPOS et al., 2004; DUVICK, SMITH; COOPER, 2004). Entretanto, relatos sobre a herança do *stay green* para a cultura do milho na literatura ainda são escassos. Esses estudos são necessários para que os programas de melhoramento possam delinear a melhor forma de seleção, a fim de obter genótipos mais tolerantes aos déficits de umidade.

Comstock e Robinson (1948, 1952) propuseram três delineamentos para o estudo da herança de caracteres quantitativos. Entre eles está o delineamento III que permite estimar os componentes da variância genética e o grau médio de dominância, além de parâmetros importantes para o melhoramento, como coeficientes de herdabilidade e respostas esperadas com a seleção. O estudo da base genética do caráter é fundamental para fins de seleção e é um pré-requisito para que o programa de melhoramento obtenha sucesso, uma vez que a condução do programa e a forma de seleção dos diferentes caracteres dependem dos seus coeficientes de herdabilidade e graus médios de dominância.

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo estimar os parâmetros genéticos relacionados à herança do caráter *stay green* e suas interações com o ambiente em uma população de milho tropical, utilizando o delineamento III, de Comstock e Robinson (1948, 1952).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 Melhoramento genético de milho visando à tolerância ao estresse hídrico

A média mundial da produtividade do milho é cerca de 8,2 t ha⁻¹ em regiões temperadas e cerca de 3,5 t ha⁻¹ em regiões tropicais. Em ambas as regiões, a deficiência hídrica é considerada o principal fator limitante da produção de grãos, contribuindo diretamente para as diferenças entre as médias de produtividade (EDMEADES, 2008). Segundo Edmeades et al. (1997) em regiões tropicais as perdas por déficit hídrico podem chegar a 50% e calcula-se que 25% dessas perdas podem ser eliminadas apenas pelo melhoramento genético.

No Brasil, as áreas cultivadas com milho são predominantemente conduzidas sem irrigação e mesmo em anos de precipitação satisfatória são observadas perdas na produção de grãos em função, principalmente, de períodos de estiagem ou veranicos (VILLELA; BULL, 1999). À medida que o cultivo do milho avança além da época normal de plantio, a probabilidade de ocorrência de veranicos aumenta, podendo resultar em queda na produção (SHIOGA; GERAGE, 2010). O estresse hídrico atinge a cultura do milho em diferentes níveis de intensidade, e praticamente em todos os estágios de desenvolvimento, todavia, a cultura é comumente mais susceptível durante o período de florescimento, considerado o período crítico (GRANT et al., 1989; BÄNZINGER et al., 2000). Perdas significativas e de magnitudes variadas na produção de grãos são, dessa forma, esperadas quando as condições ideais de umidade requeridas pela cultura do milho não são satisfatórias, sendo que essas perdas tendem a ser mais acentuadas em genótipos que não apresentem características relacionadas com a tolerância ao estresse hídrico. Desse modo, é necessário priorizar o desenvolvimento de cultivares tolerantes nos programas de melhoramento de milho.

O melhoramento para produção de grãos sob estresse de umidade pode contribuir com atributos favoráveis a outras condições de estresse como baixos níveis de nitrogênio (N) e tolerância a altas densidades de plantio (KAMARA et al., 2005; MONNEVEUX; ZAIDI; SANCHEZ, 2005). Kamara et al. (2005) e Ajala et al. (2010) reportaram que sob baixos níveis de N, há associação entre *stay green* e produção de grãos, o que permite a seleção indireta para aumento da produção nesta condição. Mugo, Edmeades e Kirubi (2003) relataram que a tolerância a altas densidades de plantio aumenta concomitantemente com a

tolerância à deficiência hídrica, não havendo prejuízos para a produção de grãos sob condições normais de umidade. Observaram ainda que os cultivares tolerantes à deficiência de umidade e alta densidade foram também tolerantes ao acamamento, que é um dos maiores problemas em plantios em alta densidade. Sangoi, Schmitt e Zanin (2007) também observaram que genótipos com maior *stay green* podem ser mais tolerantes ao cultivo sob maiores densidades de plantas.

Contudo, muitos programas de melhoramento não têm tido sucesso no desenvolvimento de cultivares tolerantes ao estresse hídrico. Grande parte desses insucessos se deve ao fato de que a seleção de genótipos tolerantes deve ser feita sob condições especiais de experimentação, principalmente sob deficiência hídrica, devido à imprevisibilidade climática nos ambientes de avaliação e a interação dos genótipos com os ambientes. No entanto, na maioria dos países tropicais há apenas um período do ano em que não ocorrem precipitações, sendo possível a prática de seleção para tolerância ao déficit hídrico, o que pode aumentar o tempo gasto no desenvolvimento e liberação de cultivares (RIBAUT et al., 1997; CÂMARA, 2006). Assim sendo, faz-se necessária a seleção de caracteres que reconhecidamente estejam relacionados à tolerância e que possam ser manipulados em experimentos com ausência de deficiência hídrica.

Apesar das dificuldades inerentes à obtenção de ganhos em produção de grãos sob condições de estresse, o uso de caracteres secundários tem promovido resultados satisfatórios no desenvolvimento de genótipos tolerantes ao estresse hídrico. Um caráter secundário ideal deve ser geneticamente associado com a produção de grãos sob estresse, ter variabilidade, ser de avaliação rápida e barata, ser estável durante o período de avaliação e não deve estar associado às perdas de produção sob condições normais de cultivo (EDMEADES et al., 1998; BÄZINGUER et al., 2000). Portanto, o *stay green*, ou senescência retardada de folhas e colmo, é um dos mais importantes caracteres secundários relacionados a tolerância a déficits hídricos. Isso tem sido comprovado por alguns trabalhos que têm reportado correlação genética significativa e negativa (devido à natureza dos dados – quanto menor a nota, maior é o *stay green* da planta) entre produção de grãos e *stay green* (LAFITTE; EDMEADES, 1994; BETRÁN et al., 2003; ZAIDI et al., 2004; MEDICI et al., 2005; CÂMARA, 2006).

2.1.2 *Stay green*

2.1.2.1 Senescência em plantas

A senescência é uma fase do desenvolvimento tão importante quanto o crescimento ou a maturação. Esse processo ocorre inicialmente em células, depois em órgãos e, posteriormente em plantas inteiras. Na célula de um órgão em senescência ocorre um processo de dismantelagem, sendo que seu citoplasma para de se desenvolver (NOODÉN; GUIAMÉT; JOHN, 1997). A folha é o órgão em que o processo de senescência é mais visível.

Durante seu curto ciclo de vida, uma folha passa por, pelo menos, três fases de desenvolvimento. Inicialmente ela se expande rapidamente, importando carbono, nitrogênio e sintetizando proteína até atingir sua máxima capacidade fotossintética. Posteriormente, quando está totalmente desenvolvida, a folha madura é responsável pelo suprimento de carbono da planta e diminui a síntese proteica. Essa fase se mantém até que as condições internas e externas iniciem o processo de senescência, a última fase de desenvolvimento (BUCHANAN-WOLLASTON, 1997). De acordo com Thomas e Rogers (1990), a longevidade da folha está intimamente relacionada ao seu teor de nitrogênio e acredita-se que a senescência foliar seja provocada por uma demanda crescente de N em outras partes da planta (THOMAS; ROGERS, 1990; RAJCAN; TOLLENAR, 1999; BORREL; HAMMER, 2000; BORREL; HAMMER; HENZEL, 2000; KAMARA et al., 2003; CÂMARA, 2006).

No decorrer da senescência foliar ocorre um processo de mobilização massiva de nitrogênio, carbono e minerais da folha madura para outras partes da planta. Os primeiros sintomas visíveis são degradação da clorofila, que torna o tecido mesófilo amarelado, e diminuição da capacidade fotossintética (THOMAS; SMART, 1993; RAJCAN; TOLLENAR, 1999; KAMARA et al., 2003; CÂMARA, 2006). Juntamente à degradação da clorofila ocorre uma série de eventos ordenados, altamente regulados, envolvendo a desintegração dos cloroplastos, fragmentação das proteínas das folhas e remoção de aminoácidos para fora da folha. Ocorre a paralisação da fotossíntese, sendo que a fabricação do aparato fotossintético é dismantelada e exportada para tecidos jovens em crescimento ou sítios de deposição de reservas (THOMAS; SMART, 1993). No entanto, quando o amarelecimento das folhas pode ser notado, quase todo o processo já ocorreu.

Em plantas anuais, produtoras de grãos, os nutrientes mobilizados das partes vegetativas maduras para as partes jovens, na fase reprodutiva, são estocados nos grãos

(BUCHANAN-WOLLASTON, 1997; BUCHANAN-WOLLASTON et al., 2003). Um estudo realizado por Rajcan e Tollenar (1999) avaliaram a eficiência no uso de nitrogênio durante o enchimento de grãos de milho. Os autores comprovaram que tanto o nitrogênio dos grãos quanto de partes concorrentes na captação deste, é fornecido a partir do tecido vegetativo da planta de milho. Esse resultado foi semelhante ao reportado por Pan et al. (1986). Adicionalmente, a absorção do nitrogênio depende da disponibilidade de carboidratos solúveis nas raízes (TOLLEY-HENRY et al., 1988), conseqüentemente, o período crítico para o abastecimento de N é durante a fase reprodutiva, quando as atividades de fornecimento dos carboidratos são transferidas da raiz para as folhas, reforçando a mobilização de N das folhas e caules (RAJCAN; TOLLENAR, 1999). Logo, se uma planta apresenta senescência precoce, ela não consegue acumular reservas suficientes nos grãos, prejudicando sua produção final. Sem contar que, por reduzir a área fotossinteticamente ativa da planta, a senescência deixa os colmos e folhas com menor quantidade de clorofila, tornando a planta mais suscetível ao acamamento e até mesmo à quebra, o que dificulta a colheita e ocasiona perdas.

A senescência é o estágio final de desenvolvimento em vegetais. Quando as folhas atingem certa idade ou quando a fase reprodutiva atinge certo estágio, ela ocorre mesmo que a planta esteja sendo cultivada em condições favoráveis. Entretanto, sabe-se que o início da senescência é influenciado por fatores ambientais, como seca, temperatura, quantidade de chuva, ataque de insetos e doenças (CRAFTS-BRANDNER; HOLZER; FELLER, 1998; BUCHANAN-WOLLASTON et al., 2003; JIANG et al., 2004; BALAZADEH et al., 2008).

Para a cultura do milho há dois tipos de senescência, a precoce e a tardia (HE; ZHOU; JIN, 2002). A senescência precoce pode resultar na deterioração da qualidade vegetal e também afetar consideravelmente a qualidade e a produção de cereais (JIANG et al., 2004). Já as plantas com senescência tardia são chamadas nos programas de melhoramento genético de genótipos *stay green*.

2.1.2.2 Importância do *stay green*

Stay green é um termo geral dado a genótipos nos quais a senescência é retardada em relação a um genótipo padrão (THOMAS; HOWARTH, 2000; BEKAVAC et al., 2007; BELICUAS, 2009). Uma planta *stay green* consegue manter suas folhas e colmos verdes mesmo após o enchimento de grãos, em cereais, e após a completa formação do fruto, nos demais vegetais. O caráter *stay green* tem sido estudado em diversas culturas, como milho, sorgo, aveia, arroz, trigo, alguns tipos de gramíneas, soja, feijão, fumo, entre outras

(THOMAS; SMART, 1993; CÂMARA 2006; COSTA, 2007). Recentemente também tem sido estudado na cultura do tomate (HU et al., 2011).

Além de senescência retardada, Bekavac et al. (1998) acrescentaram, com base em seus estudos sobre a cultura do milho, que um genótipo *stay green* deve apresentar teor de umidade dos grãos menor ou igual ao teor médio da população em que foi avaliado. Assim, se um determinado genótipo apresenta senescência retardada e umidade nos grãos superior à média da população, ele não é considerado um genótipo *stay green*, mas sim um genótipo com maior período vegetativo. E segundo a definição de Hu et al. (2011) o caráter *stay green* trata da senescência foliar que ocorre sem uma significativa degradação de clorofila.

O comportamento fenotípico de genótipos *stay green* revela um prolongamento na duração da área verde dos colmos e das folhas e determina que a fase de senescência inicie de cima para baixo na planta. Colmos e folhas são as últimas estruturas a secar, disponibilizando seus fotoassimilados durante toda a fase de enchimento dos grãos (SILVA et al., 2008).

Pesquisas têm mostrado que as características conferidas à planta *stay green* estão intimamente relacionadas à alta capacidade fotossintética e a um incremento indireto na produção (GENTINETTA et al., 1986; THOMAS; HOWARTH 2000; DUVICK; SMITH; COOPER, 2004; BEKAVAC et al., 2007; JOSHI et al., 2007; COSTA et al., 2008). Em vista disso o *stay green* é considerado um caráter altamente desejável para a produção (THOMAS, 1987; THOMAS; SMART, 1993; SUBUDHI; ROSENOW; NGUYEN, 2000; THOMAS; HOWARTH 2000; HAUSSMANN et al., 2002).

As melhorias na produção de grãos e desempenho agrônômico da cultura do milho têm sido associadas à manutenção da fotossíntese nos genótipos com senescência retardada (HE; ZHOU; JIN, 2002; DUVICK; SMITH; COOPER, 2004). A relevância desse caráter pode ser comprovada observando-se as cultivares lançadas atualmente no mercado. Empresas produtoras de sementes de milho e sorgo, por exemplo, dificilmente lançam uma nova cultivar que não apresente *stay green* (AGUIAR, 1999; CÂMARA, 2006; COSTA, 2007; BELICUAS, 2009). Além disso, alguns resultados comparativos mostram que híbridos comerciais de milho lançados nas últimas seis décadas do século passado apresentaram um aumento significativo na expressão desse caráter (CAMPOS et al., 2004; DUVICK; SMITH; COOPER, 2004). De acordo com Duvick, Smith, Cooper (2004), o *stay green* ou redução na taxa de senescência da folha tem sido uma das características que mais distingue híbridos de milho novos e antigos. Valentinuz e Tollenaar (2004) reportaram que a taxa visível de senescência da folha é 3,4 e 2,1 vezes maior em híbridos antigos do que nos híbridos novos, durante a primeira e a segunda metade do período de enchimento de grãos, respectivamente.

Duvick e Cassman (1999) detectaram um aumento de 29% na nota de *stay green* (esses autores consideram nota alta como alto *stay green*) quando compararam híbridos novos e antigos. Portanto, pode-se inferir que não houve um aumento expressivo da senescência retardada, mas que esta é adicionada pouco a pouco nos híbridos, já que é controlada por muitos locos.

Uma das características mais importantes do genótipo *stay green* é que ele se torna mais resistente a épocas e regiões com déficit hídrico. De acordo com Joshi et al. (2007) e Costa (2008), cultivares que apresentam o caráter *stay green* são a melhor opção para ambientes com estresses hídricos e altas temperaturas. O retardamento da senescência das folhas no período pós-florescimento pode facilitar o desenvolvimento dos grãos em função do acúmulo de assimilados no final do estágio de enchimento, tendo como resultado, maior número de grãos totalmente desenvolvidos na espiga e um peso médio de grãos mais elevado. Consequentemente, a senescência retardada melhora o rendimento de grãos em genótipos tolerantes a estresses hídricos (ZAIDI et al, 2004). A partir do estabelecimento da espiga, a manutenção de uma copa funcional verde e da capacidade de mobilizar carboidratos estocados no colmo e na palha do milho é essencial para alta produção sob estresse terminal (KAMARA et al., 2003; CAMPOS et al., 2004). Variedades de milho melhoradas produzem mais matéria seca, devido à presença do caráter (BEKAVAC et al., 2007) e, como após o enchimento de grãos a fotossíntese se prolonga fornecendo carboidratos para colmos, folhas e raízes, genótipos *stay green* apresentam maior resistência a estresses bióticos e também abióticos (TOLLENAR; WU, 1999; JIANG et al., 2004; COSTA, 2007; BELICUAS, 2009). Entre esses, os genótipos *stay green* podem apresentar maior resistência ao acamamento e quebraimento de plantas, fatores que podem dificultar e encarecer muito a colheita, além de aumentar as perdas. O quebraimento é menor, pois por permanecerem fotossintetizando por mais tempo, essas plantas conseguem repor os carboidratos extraídos do colmo para o enchimento de grãos e, assim, manter os colmos verdes e túrgidos. Adicionalmente, essas plantas aumentam sua resistência às doenças de raízes, o que reduz a incidência de acamamento de plantas (DUVICK; CASSMAN, 1999). Além disso, plantas com senescência retardada de folhas e colmos produzem mais matéria seca e, por isso, são mais eficientes para serem usadas como alimento animal, na forma de silagem (LUPATINI et al., 2004; NEUMMAN et al., 2005, 2008).

2.1.2.3 Tipos de *stay green*

Embora o grau de atraso na expressão da senescência seja altamente dependente das condições ambientais, segundo Thomas e Smart (1993) o caráter *stay green* pode ser dividido em quatro tipos (A, B, C e D). Os tipos A e B são classificados como funcionais, porque neles a fotossíntese se estende por um período mais longo do que a média dos genótipos da espécie. No tipo A, a senescência é iniciada tardiamente e depois continua a taxas constantes. No tipo B, a senescência é iniciada normalmente, contudo, após o início, os processos tornam-se mais lentos que o normal. Sendo assim, para genótipos *stay green*, espera-se uma maior produção naquelas culturas em que os carboidratos são os principais componentes dos produtos finais, tal como milho (BEKAVAC et al., 2007). Os tipos C e D, ao contrário de A e B, apenas parecem verdes, pois perdem a competência fotossintética. Eles são classificados como *stay green* cosméticos. O tipo C caracteriza-se pela manutenção das taxas de clorofila na planta, por tempo indeterminado, todavia, as medidas de funções fisiológicas, como a capacidade fotossintética, evidenciam que a senescência está transcorrendo normalmente (ocorre perda de CO₂, apesar da retenção de clorofila). O tipo D é equivalente ao tipo C, contudo, ocorre uma paralisação da fotossíntese após a colheita do produto. Trata-se de material armazenado em herbários, por exemplo, onde a cor é preservada (THOMAS; SMART, 1993). Mais tarde Thomas e Howarth (2000) acrescentaram o tipo E, o qual apresenta algumas características semelhantes aos tipos A e C, como atraso na perda da pigmentação verde e retenção de clorofila, mas com a perda de fixação de CO₂. Nesse caso, a comparação do conteúdo absoluto de pigmentação identifica o caráter *stay green*.

A classificação dos genótipos com senescência retardada em tipos diferentes pode ajudar os melhoristas a entenderem os tipos de processos fisiológicos responsáveis pela variabilidade fenotípica. Na prática, observa-se que um comportamento *stay green* particular pode ser explicado pela combinação de dois ou mais tipos diferentes (THOMAS; HOWARTH, 2000).

Agronomicamente, genótipos *stay green* funcionais são interessantes porque atrasam o início da senescência ou o seu progresso, podendo ter um efeito vantajoso na produção (THOMAS; HOWARTH, 2000).

2.1.2.4 Métodos de avaliação do caráter *stay green*

Na literatura existem metodologias bastante variadas para avaliação da senescência retardada em plantas. Bänzinger e Lafitte (1997) avaliaram a senescência foliar contando o número de folhas verdes abaixo da espiga e estimando a porcentagem da folha que permanecia verde. Lee, Ahmadzadeh e Tollenaar (2005) mediram a proporção de área verde da folha em relação à planta inteira e estimaram a área foliar. Wang, Li e Zhang (2012) avaliaram o *stay green* medindo a área foliar verde durante o período de crescimento, após o florescimento e na maturação fisiológica. A maioria dos autores, no entanto, avalia a senescência da folha por escalas de notas, as quais variam bastante.

Cukadar-Olmedo, Miller e Hammond (1997) utilizaram um programa computacional que avalia a coloração do caule na época da colheita através de uma escala de notas de 1 a 40. Outra metodologia utilizada foi a avaliação deste caráter através de uma escala de notas visual de 1 a 10, que tem como base a proporção de folhas secas na planta no período de maturação fisiológica (WALULU et al., 1994; BEKAVAC et al., 2007).

Alguns autores utilizaram uma escala de notas variando de 1 a 5, na qual 1 corresponde à planta com todas as folhas acima da primeira espiga e, pelo menos duas folhas abaixo, verdes e 5, à planta com todas as folhas secas (GUEI; WASSOM, 1996; AGUIAR; RAMALHO; MARQUES JUNIOR, 2000; CÂMARA et al., 2007; COSTA et al., 2008; BELICUAS, 2009). Joshi et al. (2007) utilizaram outra escala, variando de 0 a 9 e, ao mesmo tempo, fizeram a quantificação da área foliar verde. Chapman e Edmeades (1999) e Ajala et al. (2010) avaliaram visualmente a porcentagem da folha em senescência de acordo com uma escala de 0 a 10. Kamara et al. (2003), por sua vez, utilizaram uma escala de notas variando de 1 a 9, onde 1 correspondeu a todas as folhas verdes e 9 a todas as folhas secas. Já Bekavac et al. (2007), Bekavac, Purar e Jockovic (2008) e Badu-Apraku e Akinwale (2011) avaliaram o caráter de acordo com uma escala de notas de 1 a 10. Duvick e Cassman (1999), ao contrário dos demais autores, classificaram as plantas *stay green* seguindo uma escala visual de notas de 1 a 9, em que 1 se referiu à rápida senescência da folha (planta pobre em *stay green*) e 9 à senescência foliar lenta (planta com bom *stay green*).

A avaliação visual do caráter, utilizando escalas de notas é feita rapidamente. Por isso, considerando os inúmeros ganhos atribuídos à presença do *stay green*, justifica-se a incorporação do mesmo nos programas de melhoramento, nas fases de avaliação de híbridos e nos programas de seleção recorrente.

2.1.2.5 Herança do caráter *stay green* em milho

Os programas de melhoramento baseiam-se nas estimativas de parâmetros genéticos como a variância aditiva e de dominância, grau médio de dominância, herdabilidades e correlações entre caracteres. A estimação desses parâmetros conduz o estudo dos caracteres quantitativos desde meados do século XIX, com grande sucesso no melhoramento de várias culturas (KHUSH, 1999). A obtenção dessas estimativas é fundamental no melhoramento de plantas, uma vez que permite identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle dos caracteres quantitativos e avaliar a eficiência de diferentes estratégias de melhoramento para a obtenção de ganhos genéticos e manutenção de uma base genética adequada nas populações (CÂMARA et al., 2007).

Segundo Hallauer e Miranda Filho (1988) desde a década de 1940 têm sido estimados os componentes da variância genética e ambiental para diferentes populações de milho. Adicionalmente, tem sido estimada a importância relativa da variância genética total atribuída aos efeitos genéticos aditivos e não aditivos em diversos caracteres em milho.

A base genética do *stay green* tem sido estudada em diversas culturas como feijão, sorgo e girassol (JOSHI et al., 2007), porém em milho, há poucas informações a respeito da herança desse caráter e as informações são muito limitadas (COSTA et al., 2008). O estudo da herança do caráter *stay green* é necessário para que os programas de melhoramento de milho possam delinear a melhor forma de seleção para o caráter, a fim de obter genótipos tolerantes à seca e com maior produção (BELICUAS, 2009). Gentinetta et al. (1986) estudando a senescência retardada em milho, reportaram que esse caráter é controlado por um único loco com dois alelos, apresentando interação do tipo dominância completa. Os autores, no entanto, observaram algumas exceções, as quais foram relatadas como prováveis poligenes, segregando em paralelo aos genes principais, sendo essa uma indicação de que o caráter poderia ter controle quantitativo. Nos últimos anos, estudos em muitas culturas onde foi detectado *stay green*, têm demonstrado que essa característica possui herança quantitativa (OSTEROM; JAYACHANDRAN; BIDINGER, 1996; CRASTA et al. 1999; CÂMARA et al., 2007; COSTA et al., 2008; BELICUAS, 2009; ZHENG et al., 2009).

Beavis et al. (1994), estudando regiões do genoma do milho associadas à variabilidade de importantes caracteres agrônômicos, reportaram que o *stay green* é um caráter quantitativo. No entanto, eles também reportaram que o coeficiente de herdabilidade para *stay green* foi alto, isto é, sofreu pouca influência ambiental, ao contrário do que tem sido relatado ultimamente por outros trabalhos (BELICUAS, 2009; AJALA et al., 2010). Beavis et al.

(1994) indicaram que os efeitos aditivos foram, em geral, superiores aos efeitos de dominância para *stay green*. Lee, Ahmadzadeh e Tollenaar (2005) também relataram predominância dos efeitos aditivos em relação aos efeitos de dominância na expressão da senescência retardada. Costa et al. (2008), utilizando cruzamentos dialélicos entre linhagens, detectaram maior contribuição da capacidade geral de combinação em relação à capacidade específica de combinação, evidenciando que o caráter é predominantemente controlado por efeitos gênicos aditivos em relação aos não aditivos.

Comstock e Robinson (1948, 1952) propuseram três delineamentos genéticos para serem utilizados no estudo de caracteres quantitativos. Entre eles, o delineamento III foi proposto para estimar os componentes da variância genética e o grau médio de dominância dos genes que controlam um caráter quantitativo. Esse delineamento utiliza-se do cruzamento de duas linhagens endogâmicas contrastantes para obtenção da geração F_1 . Esta é autofecundada gerando a população F_2 , cujas plantas são retrocruzadas com as duas linhagens genitoras, separadamente. Os pares de progênies retrocruzadas resultantes são avaliados fenotipicamente em experimentos com repetições em vários ambientes. Esse delineamento vem sendo utilizado por vários autores para o controle genético de caracteres de importância agrônômica, principalmente em milho (ROBINSON et al., 1949; GARDNER et al., 1953; MOLL et al., 1964; HAN; HALLAUER, 1989; WOLF et al., 2000; SILVA, 2002; AGUIAR, 2003; BELICUAS, 2009). Nos estudos de Belicuas (2009), a estimativa da variância aditiva foi significativamente superior à variância de dominância, sugerindo uma maior importância dos locos com efeito aditivo no controle genético do caráter e o grau médio de dominância foi de dominância parcial (0,55).

Outro parâmetro importante é o coeficiente de herdabilidade que pode auxiliar os programas de melhoramento a determinar a alocação de recursos necessários para selecionar efetivamente um caráter de interesse e adquirir máximo ganho genético com o uso mínimo de tempo e recursos (SMALLEY; DAUB; HALLAUER, 2004). Segundo Câmara (2006), o coeficiente de herdabilidade pode assim indicar quantas repetições e qual o tipo de arranjo experimental são necessários para minimizar erros experimentais. Câmara et al. (2007) encontraram altos valores de herdabilidade em nível de médias para *stay green* em milho (81,18% em uma população e 78,34% em outra). Neste caso, os autores justificam que os valores elevados obtidos em seu trabalho são em função do grande número de ambientes em que as progênies foram avaliadas. Costa (2007) reportou um valor alto do coeficiente de determinação genotípico ($R_c^2 = 82,08\%$), o qual, segundo o autor, está diretamente relacionado à herdabilidade. Bekavac, Purar e Jockovic (2008) também estudando *stay green*

em milho, encontraram estimativas de herdabilidade acima de 67%. Belicuas (2009) relatou estimativas de herdabilidade no sentido amplo e restrito de 63% e 54%, respectivamente, sendo menores que as de Câmara et al. (2007) e Bekavac, Purar e Jockovic (2008). No entanto, estimativas de herdabilidade de trabalhos diferentes são difíceis de serem comparadas visto que elas tendem a variar, dentre outros, devido ao tipo de progênie, ao número de repetições e ao número de ambientes utilizados na estimação do parâmetro.

Apesar da maioria dos híbridos de milho apresentarem o caráter *stay green*, estudos mostram que esse caráter vem sendo acumulado nesses híbridos, ao longo dos anos de melhoramento (VALETINUZ; TOLLENAAR, 2004; DUVICK, SMITH, COOPER, 2004). Em vista disso, é extremamente importante que sejam feitos outros estudos a respeito da herança desse caráter para que ele seja manipulado de forma adequada nos programas de melhoramento.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Material genético

O material genético utilizado neste trabalho foi obtido do cruzamento entre as linhagens endogâmicas L08-05F e L38-05D, as quais foram desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento de Milho do Departamento de Genética da ESALQ/USP. A linhagem L08-05F possui grãos duros de coloração alaranjada e é proveniente da população IG-1, formada a partir do cruzamento do híbrido intervarietal das populações EPB-5 e BR-105 com o genitor masculino do híbrido duplo BR-201. A linhagem L38-05D apresenta grãos dentados de coloração amarela e foi extraída do híbrido simples utilizado como genitor feminino do híbrido duplo BR-201 (AGUIAR et al., 2003).

2.2.1.1 Obtenção das progênies de retrocruzamentos

Do cruzamento entre as linhagens endogâmicas L08-05F e L38-05D foi obtida uma população F_1 , a qual foi autofecundada, gerando a população F_2 . Uma amostra de 100 plantas F_2 foi autofecundada, dando origem a 100 progênies $F_{2:3}$. Essas progênies foram retrocruzadas para ambas as linhagens parentais, em campos isolados de despendoamento, seguindo o delineamento III, proposto por Comstock e Robinson (1948, 1952), gerando assim 200 progênies de retrocruzamentos. As progênies $F_{2:3}$ foram utilizadas como fêmeas e as

linhagens parentais como machos, usando uma relação de 1 linha de macho para 3 de fêmeas. Para isso foram plantadas 60 sementes de cada progênie $F_{2:3}$ e de cada macho, em uma linha de 6 m, com espaçamento de 0,80 m entre linhas e de 0,20 m entre plantas, restando, após o desbaste, 30 plantas por linha de semeadura. Para melhor sincronização entre florescimentos, semearam-se as linhas de macho em três épocas distintas: cinco dias antes, no mesmo dia e cinco dias após o plantio das fêmeas. Antes do florescimento, as progênies $F_{2:3}$ foram despendoadas manualmente. As espigas de uma mesma progênie de retrocruzamento foram colhidas em conjunto, debulhadas e as sementes misturadas. Dessa forma produziram-se 100 progênies de retrocruzamento com cada parental, formando as 200 progênies de retrocruzamento.

Neste estudo foram utilizadas progênies $F_{2:3}$, ao invés de plantas F_2 , devido à maior facilidade para obter as progênies de retrocruzamento via despendoamento em campos isolados e, dessa maneira, obter sementes suficientes destas, para avaliação em experimentos em diversos locais e anos. É importante ressaltar que a constituição gamética das progênies $F_{2:3}$ é, em média a mesma da planta F_2 que lhe deu origem. Dessa forma, o retrocruzamento de uma progênie $F_{2:3}$ para um genitor é geneticamente igual ao retrocruzamento da planta F_2 que a originou.

2.2.2 Procedimento experimental

Os 200 tratamentos foram avaliados nos anos agrícolas 2008/2009 e 2009/2010, em três locais diferentes, no município de Piracicaba, SP. Dois destes locais situados na Estação Experimental Anhembi e outro na Estação Experimental Caterpillar, do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), utilizando-se duas épocas de semeadura. A primeira época de semeadura correspondeu à temporada habitual de plantio comercial da cultura em cada local e a segunda época de semeadura foi realizada pelo menos 30 dias após a primeira. A combinação de cada ano, local e época de semeadura foi considerada como um ambiente distinto, totalizando 10 ambientes de avaliação (Anexo A). O manejo agrônômico dos experimentos em cada local foi feito conforme recomendado para a cultura.

As 200 progênies provenientes dos retrocruzamentos foram plantadas em um mesmo experimento, utilizando o delineamento experimental alfa-látice 10 x 20, com duas repetições por ambiente. Cada parcela foi constituída por uma linha de 4 m de comprimento, semeada com 40 sementes. Aproximadamente 30 dias após a semeadura, realizou-se o desbaste,

restando 20 plantas na parcela. O espaçamento foi de 0,20 m entre plantas e 0,80 m entre parcelas (~62.500 plantas ha⁻¹).

2.2.2.2 Caracteres avaliados

Os caracteres avaliados nos experimentos foram: *stay green* (SG), avaliado cerca de 120 dias após o plantio, posterior à maturação fisiológica dos grãos, seguindo uma escala de notas variando de 1 a 5 (CÂMARA et al., 2007), em que a nota 1 referiu-se a plantas com todas as folhas verdes acima da espiga e pelo menos duas folhas, também verdes, abaixo dela; nota 2 dada às plantas em que todas as folhas acima da espiga estivessem verdes; nota 3 referiu-se às plantas com duas folhas secas acima da espiga e com as demais verdes; nota 4 às plantas em que duas folhas no ápice da planta estivessem verdes e as demais secas; e nota 5 às plantas em que todas as folhas estavam secas; e o caráter florescimento feminino (FF), o qual se refere ao número de dias do plantio até a emissão de estilo-estigmas, em 50% das plantas da parcela.

2.2.3 Análises estatístico-genéticas

2.2.3.1 Análises de variância

Foram avaliadas dez plantas competitivas por parcela e a média de cada parcela foi utilizada nas análises de variância. Como as progênies apresentaram diferentes níveis de maturação, foram tomados dados de florescimento feminino, os quais foram utilizados para corrigir essas diferenças de maturação, como covariável.

As análises genético-estatísticas foram realizadas utilizando-se o módulo “PROC GLM” do programa estatístico SAS 8.2 (SAS INSTITUTE, 1999), de acordo com o modelo genético-estatístico do delineamento III.

Nas análises de variâncias o efeito de progênies foi considerado aleatório e o efeito de parentais fixo. As análises de variância individuais foram realizadas para cada ambiente segundo o modelo matemático da eq. (1):

$$Y_{ijkl} = \mu + r_j + b_{k(j)} + t_l + p_i + (pt)_{il} + \varepsilon_{ijkl} \quad (1)$$

em que:

- Y_{ijkl} : é o valor observado da progênie i retrocruzada com o parental l , no bloco k , na repetição j ;
- μ : é a média geral;
- r_j : é o efeito aleatório da repetição j , com $j = 1, 2$;
- $b_{k(j)}$: é o efeito aleatório do bloco k dentro da repetição j , com $k = 1, 2, \dots, 20$;
- t_l : é o efeito fixo do parental l , com $l = 1, 2$;
- p_i : é o efeito aleatório da progênie i , com $i = 1, 2, \dots, 100$;
- $(pt)_{il}$: é o efeito aleatório da interação entre a progênie i com o parental l ;
- ε_{ijkl} : é o erro experimental associado à observação Y_{ijkl} .

Antes de realizar a análise conjunta, testou-se a homogeneidade das variâncias dos resíduos, através do teste de F máximo ou Hartley (HARTLEY, 1950). Nessa análise, foram utilizadas as médias ajustadas das progênies de retrocruzamentos e os quadrados médios dos erros efetivos de cada experimento, obtidos das análises individuais. O modelo matemático utilizado foi o seguinte (eq. 2):

$$Y_{ilm} = \mu + e_m + t_l + (te)_{lm} + p_i + (pt)_{il} + (pe)_{im} + (pte)_{ilm} + \bar{\varepsilon}_{ilm} \quad (2)$$

em que

- Y_{ilm} : refere-se ao valor observado da progênie i cruzada com o parental l , no ambiente m ;
- μ : é a média geral;
- e_m : é o efeito aleatório do ambiente m , com $m = 1, 2, \dots, 10$;
- t_l : é o efeito fixo do parental l , com $l = 1, 2$;
- $(te)_{lm}$: é o efeito aleatório da interação entre o parental l com o ambiente m ;
- p_i : é o efeito aleatório da progênie i , com $i = 1, 2, \dots, 100$;
- $(pt)_{il}$: é o efeito aleatório da interação entre a progênie i com o parental l ;
- $(pe)_{im}$: é o efeito aleatório da interação entre a progênie i com o ambiente m ;
- $(pte)_{ilm}$: é o efeito aleatório da interação entre a progênie i , parental l e ambiente m ;
- $\bar{\varepsilon}_{ilm}$: é o erro efetivo médio associado à observação Y_{ilm} .

Os esquemas das análises de variância individual e conjunta, com as respectivas esperanças dos quadrados médios, estão apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente. Para verificar a significância da fonte de variação parentais, na análise conjunta, utilizou-se o teste F aproximado de Satterthwaite (1946).

Tabela 1 – Esquema da análise de variância individual, com as respectivas esperanças matemáticas dos quadrados médios das fontes de variação e testes F

Fontes de Variação	GL	QM	E(QM)	F
Repetição (R)	$(J-1)=1$	QM_R	$\sigma_\varepsilon^2 + IL\sigma_{B/R}^2 + IL\sigma_R^2$	$QM_R/QM_{B/R}$
Blocos / R	$J(K-1)=38$	$QM_{B/R}$	$\sigma_\varepsilon^2 + IL\sigma_{B/R}^2$	$QM_{B/R}/QM_{Erro}$
Parentais (T)	$(L-1)=1$	QM_T	$\sigma_\varepsilon^2 + J\sigma_{PT}^2 + IJ \sum_{l=1}^2 \frac{T^2}{i-1}$	QM_T/QM_{PT}
Progênie (P)	$(I-1)=99$	QM_P	$\sigma_\varepsilon^2 + JL\sigma_P^2$	QM_P/QM_{Erro}
P x T	$(I-1)(L-1)=99$	QM_{PT}	$\sigma_\varepsilon^2 + J\sigma_{PT}^2$	QM_{PT}/QM_{Erro}
Erro	$IL(J-1)-(JK-1)=161$	QM_{Erro}	σ_ε^2	----

K, I, J, L referem-se ao número de blocos, progênie, repetições e parentais, respectivamente.

Tabela 2 – Esquema da análise de variância conjunta, com as respectivas esperanças matemáticas dos quadrados médios das fontes de variação e testes F , utilizando o delineamento III

Fontes de Variação	GL	QM	E(QM)	F
Ambientes (E)	$(M-1)=9$	QM_E	$\sigma_{\bar{\epsilon}}^2 + JL\sigma_{PE}^2 + IJL\sigma_e^2$	QM_E/QM_{PE}
Parentais (T)	$(L-1)=1$	QM_T	$\sigma_{\bar{\epsilon}}^2 + J\sigma_{PTE}^2 + IJ\sigma_{TE}^2 + JM\sigma_{PT}^2 + IJM \sum_{i=1}^2 \frac{T^2}{i-1}$	$QM_T/(QM_{TE}+QM_{PT}-QM_{PTE})$
T x E	$(L-1)(M-1)=9$	QM_{TE}	$\sigma_{\bar{\epsilon}}^2 + J\sigma_{PTE}^2 + IJ\sigma_{TE}^2$	QM_{TE}/QM_{PTE}
Progênie (P)	$(I-1)=99$	QM_P	$\sigma_{\bar{\epsilon}}^2 + JL\sigma_{PE}^2 + JLM\sigma_P^2$	QM_P/QM_{PE}
P x T	$(L-1)(I-1)=99$	QM_{PT}	$\sigma_{\bar{\epsilon}}^2 + J\sigma_{PTE}^2 + JM\sigma_{PT}^2$	QM_{PT}/QM_{PTE}
P x E	$(I-1)(M-1)=891$	QM_{PE}	$\sigma_{\bar{\epsilon}}^2 + JL\sigma_{PE}^2$	QM_{PE}/QM_{Erro}
P x T x E	$(I-1)(L-1)(M-1)=891$	QM_{PTE}	$\sigma_{\bar{\epsilon}}^2 + J\sigma_{PTE}^2$	QM_{PTE}/QM_{Erro}
Erro efetivo	$M[LI(J-1)-(JK-1)]=1610$	QM_{Erro}	$\sigma_{\bar{\epsilon}}^2$	----

M, K, I, J, L referem-se ao número de ambientes, blocos, progênie, repetições e parentais, respectivamente.

2.2.3.2 Estimativa de parâmetros genéticos

Os componentes de variância para o caráter foram estimados a partir das esperanças matemáticas dos quadrados médios da análise de variância conjunta (Tabela 2), seguindo a metodologia proposta por Searle, Casela e MacCulloch (1992), eq. (3, 4, 5 e 6):

Variância genética de progênies ($\hat{\sigma}_P^2$):

$$\hat{\sigma}_P^2 = \frac{(QM_P - QM_{PE})}{JLM} \quad (3)$$

Variância da interação progênies com ambientes ($\hat{\sigma}_{PE}^2$):

$$\hat{\sigma}_{PE}^2 = \frac{(QM_{PE} - QM_{Erro})}{JL} \quad (4)$$

Variância da interação progênies com parentais (σ_{PT}^2):

$$\hat{\sigma}_{PT}^2 = \frac{(QM_{PT} - QM_{PTE})}{JM} \quad (5)$$

Variância da interação tripla entre as progênies com parentais e ambientes ($\hat{\sigma}_{PTE}^2$):

$$\hat{\sigma}_{PTE}^2 = \frac{(QM_{PTE} - QM_{Erro})}{J} \quad (6)$$

em que:

QM_P é o quadrado médio de progênies;

QM_{PE} é o quadrado médio da interação entre progênies e ambientes;

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

QM_{PT} é o quadrado médio da interação entre progênies e parentais;

QM_{PTE} é o quadrado médio da interação tripla entre progênies, parentais e ambientes;

J , L e M correspondem ao número de repetições ($J=2$), parentais ($L=2$) e ambientes ($M=10$), respectivamente.

Foram obtidas as estimativas das variâncias aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$), de dominância ($\hat{\sigma}_D^2$), genética ($\hat{\sigma}_G^2$) e suas interações com os ambientes ($\hat{\sigma}_{AE}^2$, $\hat{\sigma}_{DE}^2$ e $\hat{\sigma}_{GE}^2$), além do grau médio de dominância (\hat{d}), segundo Comstock e Robinson (1952), através das eq. (7, 8, 9, 10, 11 12 e 13):

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

$$\hat{\sigma}_P^2 = (1/4)\hat{\sigma}_A^2 \Rightarrow \hat{\sigma}_A^2 = 4\hat{\sigma}_P^2 \quad (7)$$

Variância dominante ($\hat{\sigma}_D^2$):

$$\hat{\sigma}_D^2 = \hat{\sigma}_{PT}^2 \quad (8)$$

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

$$\hat{\sigma}_G^2 = \hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2 \quad (9)$$

Variância da interação dos efeitos aditivos com ambientes ($\hat{\sigma}_{AE}^2$):

$$\hat{\sigma}_{PE}^2 = (1/4)\hat{\sigma}_{AE}^2 \Rightarrow \hat{\sigma}_{AE}^2 = 4\hat{\sigma}_{PE}^2 \quad (10)$$

Variância da interação dos efeitos da dominância com ambientes ($\hat{\sigma}_{DE}^2$):

$$\hat{\sigma}_{DE}^2 = \hat{\sigma}_{PTE}^2 \quad (11)$$

Variância dos efeitos genéticos por ambientes ($\hat{\sigma}_{GE}^2$):

$$\hat{\sigma}_{GE}^2 = \hat{\sigma}_{AE}^2 + \hat{\sigma}_{DE}^2 \quad (12)$$

Grau médio de dominância (\hat{d}):

$$\hat{d} = \sqrt{\frac{2\hat{\sigma}_D^2}{\hat{\sigma}_A^2}} \quad (13)$$

As variâncias fenotípicas em nível de médias de meios-irmãos e de plantas foram estimadas pelas eq. (14 e 15):

$$\hat{\sigma}_F^2 = \hat{\sigma}_P^2 + \frac{\hat{\sigma}_{PE}^2}{M} + \frac{\hat{\sigma}_\varepsilon^2}{JM} \quad (14)$$

$$\hat{\sigma}_{F_{Pt}}^2 = \hat{\sigma}_G^2 + \hat{\sigma}_{GE}^2 + \hat{\sigma}_\varepsilon^2 \quad (15)$$

Os coeficientes de herdabilidade tanto em nível de médias de progênes de meios-irmãos ($\hat{h}_{\bar{X}}^2$), quanto em nível de plantas F_2 , no sentido amplo (\hat{h}_a^2) e no restrito (\hat{h}_r^2), foram estimados através das eq. (16, 17 e 18):

$$\hat{h}_{\bar{X}}^2 = \frac{\hat{\sigma}_P^2}{\hat{\sigma}_F^2} \quad (16)$$

$$\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_{Fpt}^2} \quad (17)$$

$$\hat{h}_r^2 = \frac{\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_{Fpt}^2} \quad (18)$$

Os intervalos de confiança para os componentes da variância e grau médio de dominância foram estimados, com 95% de probabilidade, seguindo os procedimentos apresentados por Burdick e Graybill (1992), eq. (19 e 20):

$$IC(\hat{\sigma}^2)_{0,95} = \left[\frac{n_t \hat{\sigma}^2}{\chi_{n_t;0,975}^2} \leq \hat{\sigma}^2 \leq \frac{n_t \hat{\sigma}^2}{\chi_{n_t;0,025}^2} \right] \quad (19)$$

em que:

$\hat{\sigma}^2$ é a estimativa do componente da variância para o parâmetro considerado;

n_t é o número de graus de liberdade associado à estimativa do componente de variância $\hat{\sigma}^2$;

$\chi_{n_t;0,975}^2$ e $\chi_{n_t;0,025}^2$ referem-se aos valores tabelados de χ^2 com n_t graus de liberdade e $\alpha = 97,5\%$ e $2,5\%$ de probabilidade, respectivamente;

e

$$IC(\hat{d})_{0,95} = \left[\frac{M_1}{M_2 F_{0,975;n_1;n_2}} \leq \hat{d} \leq \frac{M_1}{M_2 F_{0,025;n_1;n_2}} \right] \quad (20)$$

em que:

$$M_1 = QM_{PT} - QM_{PTE}$$

$$M_2 = QM_P - QM_{PE}$$

$F_{0,975;n_1;n_2}$ e $F_{0,025;n_1;n_2}$ referem-se ao valor tabelado de F a 0,975 e 0,025 de probabilidade, respectivamente, com n_1 e n_2 graus de liberdade associados aos componentes M_1 e M_2 , respectivamente, estimados pela expressão de Satterthwaite (1946).

Foram estimados também os intervalos de confiança para as estimativas dos coeficientes de herdabilidade em nível de médias de progênies, seguindo os procedimentos apresentados por Knapp Stroup e Ross (1985) eq. (21):

$$IC(\hat{h}_X^2)_{0,95} = \left[1 - \frac{1}{\left(\frac{QM_P}{QM_{PE}}\right) F_{0,975;GL_P;GL_{PE}}} \leq \hat{h}_X^2 \leq 1 - \frac{1}{\left(\frac{QM_P}{QM_{PE}}\right) F_{0,025;GL_P;GL_{PE}}} \right] \quad (21)$$

em que:

$F_{0,975;GL_P;GL_{PE}}$ e $F_{0,025;GL_P;GL_{PE}}$ referem-se ao valor tabelado de F com $\alpha = 97,5\%$ de probabilidade, GL_P graus de liberdade de progênies e GL_{PE} graus de liberdade da interação entre progênies com ambientes;

Para os coeficientes de herdabilidade em nível de plantas F_2 , no sentido amplo (\hat{h}_a^2) e no restrito (\hat{h}_r^2), foram seguidos os procedimentos reportados por Falconer e Mackay (1996) eq. (22):

$$IC(\hat{h}^2)_{0,95} = \left[\hat{h}^2 - \sqrt{\frac{(\hat{h}^2 \times 16)}{IJLM}} \leq \hat{h}^2 \leq \hat{h}^2 + \sqrt{\frac{(\hat{h}^2 \times 16)}{IJLM}} \right] \quad (22)$$

em que:

$IJLM$ é o número total de observações utilizadas para estimativa da herdabilidade em nível de plantas F_2 ($IJLM = 4000$ observações).

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Médias e coeficientes de variação (CV)

A média geral do *stay green*, ou senescência retardada, foi de 3,95, variando de 3,33 a 4,59. As médias dos ambientes variaram de 3,24 a 4,64. Pela sobreposição dos intervalos de confiança, observa-se que as médias de todos os ambientes diferiram significativamente entre si, sendo as médias do retrocruzamento 2 (F_2 x L38-05D) sempre significativamente superiores às médias do retrocruzamento 1 (F_2 x L38-05D). Em geral, as progênies retrocruzadas com o parental 2 (L38-05D) apresentaram média de 4,12, com intervalo de variação de 3,51 a 4,66, sendo significativamente superior à média das progênies retrocruzadas com o parental 1 (L08-05F), a qual foi de 3,77, variando de 2,88 a 4,52. Observa-se que o retrocruzamento 2 apresentou maior amplitude de variação que o retrocruzamento 1 (Tabela 5). Apesar de as linhagens *per se* não terem sido avaliadas, os parentais apresentaram significância na análise de variância, indicando que estes são geneticamente divergentes para esse caráter. Como a média do retrocruzamento para a linhagem L08-05F apresentou valores inferiores ao retrocruzamento para a linhagem L38-05D, infere-se que a L08-05F apresenta maior *stay green* que a L38-05D.

Dentre os autores que avaliaram a senescência retardada em milho, com escala de 1 a 5, Câmara et al. (2007) encontraram médias de 3,44 e 4,13. Costa et al. (2008) obtiveram uma média geral de 3,51 e Belicuas (2009) obteve 2,88 de média para o caráter. Já Bekavac et al. (2007), utilizando uma escala que variou de 1 a 10, encontrou médias de 2,59 e 2,73. Assim, pode-se dizer que as médias encontradas neste trabalho estão dentro do padrão da literatura.

O coeficiente de variação da análise conjunta foi de 10,03% e todos os coeficientes de variação das análises individuais ficaram abaixo de 15,00%, variando de 5,79% na E.E. Caterpillar no ano agrícola de 2008/2009 (E_4) a 14,53% nas E.E. Caterpillar (E_3) e Anhemi (E_5), no mesmo ano agrícola (Tabelas 3 e 4). Em milho tropical, Câmara et al. (2007) obtiveram valores de CV de 10,39% e 7,29%, Costa et al. (2008) de 15,34% e Belicuas (2009) obteve um coeficiente de variação de 18,01% para o caráter, valores estes que são próximos àquele obtido neste estudo. Já Ajala et al. (2010), reportaram CV de 27,70% e 56,42%, ao avaliar o caráter em condições de estresse, e Bekavac, Purar e Jockovic (2008) obtiveram valores de CV de 31,84% e 24,49%, ao avaliar populações de milho temperado. Esses autores não utilizam o florescimento feminino como covariável para *stay green* e como as progênies apresentam diferentes épocas de florescimento, os elevados valores dos coeficientes de variação encontrados por esses autores podem estar relacionados à falta dessa correção. Assim, comparando o valor encontrado com os valores reportados na literatura e levando-se em consideração que a estimativa obtida foi corrigida para a covariável

florescimento feminino, com avaliações em muitos ambientes e sem condições de estresse, considera-se que houve uma boa precisão experimental.

2.3.2 Análises de variâncias

Pelo teste de F máximo (HARTLEY, 1950) observou-se que a relação entre o maior e o menor valor do QM_{Erro} foi de 3,89, o que demonstra que as variâncias do erro experimental podem ser consideradas homogêneas (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Nas análises de variâncias individuais foram detectadas diferenças altamente significativas ($P \leq 0,01$) para parentais em nove dos dez ambientes. Apenas para o ambiente E_6 não foram identificadas diferenças significativas, indicando que as médias dos parentais, na grande maioria dos casos, diferiram. Para as progênies de retrocruzamentos foram identificadas diferenças significativas ($P \leq 0,01$) para todos os ambientes de avaliação, demonstrando a presença de variabilidade genética para o caráter *stay green* na população. As interações progênies por parentais (P x T) foram significativas ($P \leq 0,01$ ou $P \leq 0,05$) na maioria dos ambientes, exceto em dois deles (E_4 e E_5), indicando que, em geral, essas progênies apresentaram performances diferentes conforme o *background* genético do parental (Tabela 3).

Na análise de variância conjunta foram detectadas diferenças altamente significativas ($P \leq 0,01$) para ambientes (E), parentais (T) e para as interações parentais por ambientes (T x E). Tais resultados indicam, respectivamente, a presença de elevada variação entre os ambientes de avaliação, divergência genética entre os parentais e que o desempenho dos parentais não foi consistente nos diferentes ambientes de avaliação. Para progênies também foram detectadas diferenças altamente significativas ($P \leq 0,01$), assim como as interações entre progênies e parentais, e entre progênies e ambientes. Estes resultados indicam a presença de elevada variabilidade genética na população e que as progênies se comportam de maneira diferencial conforme são retrocruzadas com cada um dos parentais. As progênies apresentaram performances diferenciais nos diversos ambientes em que foram avaliadas, evidenciando a elevada influência da condição ambiental sobre a expressão fenotípica deste caráter. Já a interação tripla entre progênies, parentais e ambientes não apresentou diferença significativa. Dessa forma, podemos concluir que a interação entre progênies e parentais foi consistente nos diferentes ambientes.

2.3.3 Estimativas das variâncias

Todas as estimativas dos componentes de variância diferiram significativamente ($P \leq 0,05$) de zero, exceto a estimativa da variância da interação de dominância com ambiente ($\hat{\sigma}_{D \times E}^2$). A estimativa da variância genética aditiva ($\hat{\sigma}_A^2 = 0,16$) foi cerca de 80% superior à estimativa da variância de dominância ($\hat{\sigma}_D^2 = 0,03$), sugerindo uma maior importância dos efeitos aditivos no controle genético do *stay green*. A estimativa da variância da interação aditiva com ambiente ($\hat{\sigma}_{AE}^2 = 0,27$) foi cerca de 40% superior à $\hat{\sigma}_A^2$. Já a estimativa da variância genética ($\hat{\sigma}_G^2 = 0,19$), correspondeu a 72% da variância da interação genética com ambiente ($\hat{\sigma}_{GE}^2 = 0,27$), sendo que este alto valor da $\hat{\sigma}_{GE}^2$, se deve basicamente à $\hat{\sigma}_{AE}^2$, já que a $\hat{\sigma}_{DE}^2$ não diferiu de zero (Tabela 7).

Resultados similares, que mostram a predominância dos efeitos aditivos sobre os de dominância, têm sido reportados por outros estudos, como os de Guei e Wassom (1996) que avaliaram duas populações de milho tropical, sendo uma de irmãos completos e outra de meios-irmãos. Estes autores detectaram maior importância dos efeitos aditivos em relação aos de dominância no controle da expressão da senescência retardada em ambas as populações. Costa et al. (2008) reportaram que a capacidade geral de combinação explicou aproximadamente 70% da variação dos híbridos, evidenciando a maior importância relativa dos efeitos gênicos aditivos sobre os não aditivos no controle da senescência retardada em milho. Belicuas (2009) também utilizou o delineamento III para avaliar o *stay green* em milho tropical. Este autor detectou que a $\hat{\sigma}_A^2$ foi significativamente superior à $\hat{\sigma}_D^2$, sugerindo uma maior importância dos locos com efeito aditivo no controle genético do caráter. Outros autores, trabalhando com milho temperado, também identificaram maior importância dos efeitos aditivos sobre os de dominância (LEE; AHMADZADEH; TOLLENAAR, 2005; BEKAVAC; PURAR; JOCKOVIC, 2008).

A estimativa da variância aditiva por ambiente ($\hat{\sigma}_{AE}^2$) foi muito superior à estimativa da variância aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$) e também à estimativa da variância de dominância ($\hat{\sigma}_D^2$), enfatizando a grande magnitude da interação entre os efeitos ambientais e aditivos na expressão do caráter. Portanto, a seleção para o caráter não pode ser conduzida nas primeiras gerações do processo de obtenção de linhagens para ser aproveitada nos híbridos, mas deve ser realizada durante as avaliações de testecrosses, nas fases de desenvolvimento dos híbridos e nos programas de seleção recorrente em experimentos com repetição em diversos ambientes.

2.3.4 Grau médio de dominância (\hat{d})

A estimativa do grau médio de dominância (\hat{d}) foi de 0,65, sendo classificada como dominância parcial (Tabela 7). Belicuas (2009) também encontrou dominância do tipo parcial para *stay green* ($\hat{d} = 0,55$). Porém, como mostrado por Comstock e Robinson (1948, 1952), as populações F_2 estão em forte desequilíbrio de ligação, o que pode causar vieses nas estimativas da variância aditiva e de dominância, fazendo com que, nessas populações, as estimativas da variância de dominância sejam superestimadas e a variância aditiva subestimada ou superestimada, na presença da fase de repulsão ou de associação, respectivamente. Isto é, $\hat{\sigma}_{AF_2}^2 = \hat{\sigma}_A^2 \pm \sum_{ij}(1 - 2r_{ij}) a_i a_j$ e $\hat{\sigma}_{DF_2}^2 = \hat{\sigma}_D^2 + (1/2) \sum_{ij}(1 - 2r_{ij})^2 d_i d_j$, em que r_{ij} é a fração de recombinação entre os locos i e j , sendo $a_i(a_j)$ e $d_i(d_j)$ os efeitos aditivos e de dominância dos locos i e j , respectivamente. As linhagens parentais L08-05F e L38-05D pertencem a grupos heteróticos distintos e são divergentes para este caráter e, provavelmente, para a grande parte dos locos que controlam este caráter. Portanto, essa população deve estar em elevado desequilíbrio de ligação em fase de repulsão e, dessa forma, a estimativa do grau médio de dominância deve estar superestimada, sugerindo que os efeitos aditivos são mais importantes para este caráter do que essa estimativa sugere. Assim, a magnitude da heterose para o *stay green* deve ser baixa e não poderá ser explorada nos cruzamentos.

2.3.5 Estimativas dos coeficientes de herdabilidade

Estimativas de herdabilidade auxiliam o melhoramento a determinar a alocação de recursos necessários para a seleção de um caráter de interesse e aquisição de máximo ganho genético com o uso mínimo de tempo e recursos (SMALLEY; DAUB; HALLAUER, 2004). Neste trabalho, todas as estimativas dos coeficientes de herdabilidade diferiram significativamente de zero ($P \leq 0,05$). A estimativa do coeficiente de herdabilidade baseada em médias de progênies apresentou um valor elevado ($\hat{h}_X^2 = 0,73$), mas os coeficientes de herdabilidades em nível de plantas F_2 , tanto no sentido amplo, quanto no restrito, apresentaram valores baixos ($\hat{h}_a^2 = 0,31$ e $\hat{h}_r^2 = 0,26$) (Tabela 7).

O valor elevado do coeficiente de herdabilidade em nível de médias (\hat{h}_X^2), provavelmente é decorrente do grande número de ambientes (dez) em que as progênies foram avaliadas. Câmara et al. (2007) também detectaram valores elevados para a \hat{h}_X^2 (0,81 e 0,78),

ao avaliar duas populações de milho tropical. Bekavac et al. (2007) e Bekavac, Purar e Jockovic (2008) estimaram as herdabilidades em nível de médias de duas populações de milho temperado e reportaram valores bastante próximos ao deste trabalho ($\hat{h}_X^2 = 0,78$ e $0,68$). Belicuas (2009) também reportou estimativas dos coeficientes de herdabilidade, tanto em nível de médias ($\hat{h}_X^2 = 0,63$), quanto em nível de plantas ($\hat{h}_a^2 = 0,26$ e $\hat{h}_r^2 = 0,23$), próximas às detectadas neste trabalho.

Os valores das herdabilidades deste estudo, no entanto, diferem muito daqueles encontrados em outros trabalhos, os quais utilizaram tipos de progênes diferentes. Foi o que ocorreu com Guei e Wassom (1996) para herdabilidade no sentido restrito com base em médias de progênes de irmãos completos ($\hat{h}_r^2 = 0,12$ e $0,15$) e Ajala et al. (2010) para herdabilidade no sentido amplo com base em médias de progênes de meios-irmãos e irmãos completos de milho ($\hat{h}_a^2 = 0,50$ e $0,18$, respectivamente).

Estimativas de coeficientes de herdabilidade de trabalhos diferentes são difíceis de serem comparadas, visto que essas estimativas tendem a variar, dentre outros, com o tipo de progênie, número de repetições e número de ambientes utilizados para a estimação do parâmetro. Dessa forma, enquanto as progênes deste estudo foram avaliadas em dez ambientes, Câmara et al. (2007) avaliaram suas populações em nove e sete ambientes, Belicuas (2009) e Ajala et al. (2010) utilizaram seis ambientes. Já Guei e Wassom et al. (1996), Bekavac et al. (2007) e Bekavac, Purar e Jockovic (2008) utilizaram quatro ambientes. Como o *stay green* é um caráter muito sujeito à influência dos efeitos ambientais, o que é comprovado pelas baixas estimativas dos coeficientes de herdabilidade em nível de plantas encontradas neste trabalho, para que a seleção seja eficiente, deve ser realizada com base em médias de progênes, avaliadas em muitos ambientes, obtendo assim uma estimativa de variância fenotípica menor, já que o número de ambientes é divisor da $\hat{\sigma}_{PE}^2$ e da $\hat{\sigma}_E^2$ e um maior número de ambientes resulta, conseqüentemente, em maiores estimativas de herdabilidade, aumentando a precisão do coeficiente de herdabilidade.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estima-se que nos últimos 40 anos o ganho genético em produtividade para a cultura do milho seja atribuído muito mais à maior tolerância aos estresses do que a aumentos na produtividade *per se* (DUVICK; SMITH; COOPER, 2004), sendo o estresse por déficit hídrico, uma das principais causas de perda de produtividade na agricultura (BOYER, 1982).

Os resultados deste estudo, juntamente com a grande maioria dos outros autores (GUEI; WASSOM, 1996; LEE; AHMADZADEH; TOLLENAAR, 2005; BEKAVAC; PURAR; JOCKOVIC, 2008; COSTA et al., 2008; BELICUAS, 2009) indicaram que os efeitos aditivos são mais importantes que os efeitos de dominância para o caráter *stay green*. Todavia, a $\hat{\sigma}_{AE}^2$ foi significativamente superior à $\hat{\sigma}_A^2$, em cerca de 40%. Logo, o caráter sofre forte influência dos efeitos ambientais e a seleção fenotípica individual realizada durante o desenvolvimento de linhagens endogâmicas, possivelmente não será eficiente. A estimativa do grau médio de dominância (\hat{d}) foi classificada como dominância parcial ($\hat{d}=0,65$). Porém, visto que populações F₂ estão em forte desequilíbrio de ligação na fase de repulsão, a estimativa do grau médio de dominância pode estar superestimada. Dessa forma, os efeitos aditivos são mais importantes para senescência retardada que a \hat{d} sugere. E a heterose provavelmente possui baixa magnitude e não pode ser explorada nos cruzamentos.

A herdabilidade em nível de plantas individuais apresentou baixa magnitude ($\hat{h}_a^2 = 0,31$ e $\hat{h}_7^2 = 0,26$), enfatizando ainda mais a influência do ambiente na expressão do *stay green*. Em vista disso, e devido à interação entre genótipos e ambientes, a seleção fenotípica individual pode ser ineficiente, sendo que, ao ser avaliado em ambientes diferentes, o caráter pode se expressar em um ambiente, se expressar parcialmente ou não se expressar em outro ambiente. Além disso, quando avaliado em muitos ambientes, este caráter apresenta menor variância fenotípica, aumentando a estimativa da herdabilidade em nível de médias de progênies, como observado neste estudo ($\hat{h}_{\bar{x}}^2 = 0,73$). Portanto, o caráter *stay green* deve ser avaliado em experimentos com repetições em muitos ambientes, juntamente aos demais caracteres de importância agrônômica que possuem baixa herdabilidade em nível de plantas, como produção de grãos e acamamento e quebraimento de plantas.

Avaliando os principais híbridos de milho cultivados nos Estados Unidos nos últimos 40 anos, Duvick, Smith e Cooper (2004) concluíram que, apesar de não ter sido feita seleção para a senescência retardada nesse período, este caráter aumentou no decorrer dos anos, possivelmente pela seleção para aumento da produtividade, maior tolerância ao adensamento

e maior tolerância a pragas e doenças, os quais são correlacionados ao *stay green*. Dessa forma, visando a incrementar o ganho de seleção para *stay green*, esse caráter deve ser inserido nos programas de melhoramento, devendo a seleção ser feita durante as avaliações de testecrosses, nas fases finais de avaliação dos híbridos e também nos programas de seleção recorrente, durante a avaliação de progênies, em experimentos com repetições em vários ambientes.

No presente trabalho a média geral foi alta (menor *stay green*) em relação à escala utilizada (1 a 5), entretanto, a média do retrocruzamento com a linhagem genitora L08-05F apresentou menor nota (maior *stay green*) que o retrocruzamento com a linhagem L38-05D, resultado que foi consistente em todos os ambientes de avaliação, indicando que a L08-05F apresenta maior nível de *stay green* que a L38-05D e, portanto, sugere que a L08-05F possa ser utilizada como fonte alelos favoráveis para este caráter em programas de melhoramento.

Em regiões tropicais, a deficiência hídrica é o principal fator limitante da produção de milho, podendo alcançar perdas de até 50% (EDMEADES et al., 1997). Por isso, um dos desafios da agricultura para os próximos anos é o aumento da produção de alimentos, com recursos hídricos cada vez mais escassos e sob mudanças climáticas que tendem a causar secas e períodos de déficit hídricos cada vez mais pronunciados. Portanto, uma estratégia para amenizar o estresse hídrico na produção agrícola, principalmente de milho, é a utilização de cultivares tolerantes a déficits hídricos. Logo, os resultados desse estudo contribuirão para o aumento do conhecimento da herança do caráter *stay green* e sugerem como essas informações podem ser implementadas num programa de melhoramento para aumento da expressão da senescência retardada.

REFERÊNCIAS

AGRAMA, H.A.; MOUSSA, M.E. Mapping QTLs in breeding for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) **Euphytica**, Wageningen, v. 91, n. 1, p. 89-97, 1996.

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

_____. **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.

AGUIAR, A.M.; RAMALHO, M.A.P.; MARQUES JÚNIOR, O.G. Controle genético do “stay green” no feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 47, p. 155-167, 2000.

AJALA, S.O; KLING, J.G.; MENKIR, A.; ALABI, S.O. Full-sib vs S₁ selection scheme for the improvement of a maize population for tolerance to low soil nitrogen. **Maydica**, Bergamo, v. 55, p. 239-248, 2010.

BADU-APRAKU, B.; AKINWALE, R.O. Identification of early-maturing maize inbred lines based on multiple traits under drought and low N environments for hybrid development and population improvement. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 91, p. 931-942, 2011.

BALAZADEH, S.; PARLITZ, S.; MUELLER-ROEBER, B.; MEYER, R. C. Natural developmental variations in leaf and plant senescence in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Biology**, Palo Alto, v. 10, p. 136–147, 2008.

BÄNZIGER, M.; LAFITTE, H.R. Efficiency of secondary traits for improving maize for low-nitrogen target environments. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 1110-1117, 1997.

BÄNZINGER, M.; EDMEADES, G.O.; BECK, D.; BELLON, M. **Breeding for drought and nitrogen stress tolerance in maize: from theory to practice**. Mexico: CIMMYT. 2000. 68 p.

BEAVIS, W.D.; SMITH, O.S.; GRANT, D.; FINCHER, R. Identification of quantitative trait loci using a small sample of *topcrossed* and F4 progeny from maize. **Crop science**, Madison, v. 34, p. 882-896, 1994.

BEKAVAC, G.; PURAR, B.; JOCKOVIC, D. Relationships between line per se and testcross performance for agronomic traits in two broad-based populations of maize. **Euphytica**, Wageningen, v. 162, p. 363-369, 2008.

BEKAVAC, G.; STOJAKOVIC, M.; JOCKOVIC, D.; BOCANSKI, J.; PURAR, B. Path analysis of stay-green trait in maize. **Cereal Research Communications**, Szeged, v. 26, p. 161-167, 1998.

BEKAVAC, G.; PURAR, B.; STOJAKOVIH, M.; JOCKOVIH, D.J.; IVANOVIH, M.; NASTASIH, A. Genetic analysis of stay-green trait in broad-based maize populations. **Cereal Research Communications**, Szeged, v. 35, p. 31-41, 2007.

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. 97 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BETRÁN, F. J.; BECK, D.; BÄNZIGER, M.; EDMEADES, G. O. Secondary traits in parental inbreds and hybrids under stress and non-stress environments in tropical maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 83, n. 1, p. 51-65, 2003.

BORRELL, A.K.; HAMMER, G.L. Nitrogen dynamics and the physiological basis of stay-green in sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1295-1307, 2000.

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

BOLAÑOS, J.; EDMEADES, G.O.; MARTINEZ, L. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. III. Responses in drought-adaptative physiological and morphological traits. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 31, n. 3/4, p. 269-286, 1993.

BOYER, J.S. Plant productivity and environment. **Science**, Washington, v. 218, p. 443-448, 1982.

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

BUCHANAN-WOLLASTON V.; EARL S.; HARRISON E.; MATHAS E.; NAVABPOUR S.; PAGE T.; PINK D. The molecular analysis of leaf senescence – a genomics approach. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 1, p. 3-22. 2003.

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

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

CÂMARA, T.M.M.; BENTO, D.A.V.; ALVES, G.F.; SANTOS, M.F.; MOREIRA, J.U.V.; SOUZA JÚNIOR, C.L. Parâmetros genéticos de caracteres relacionados à tolerância à deficiência hídrica em milho tropical. **Bragantia**, Campinas, v. 66, p. 595-603, 2007.

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

CARROW, R.N.; SHEARMAN, R.C.; WATSON, J.R. Turfgrass. In: STEWART, B.A.; NIELSON, D.R. (Ed.). **Irrigation of agricultural crops**. Madison: Centre for Climate Change Research, School of Environmental Sciences, University of Change Scenarios for the United Kingdom: The UKCIP02 Scientific Report, Tyndall, 1990. p. 889-919. (ASA. CSSA. ASSA. Monographs, 30).

CHAPMAN, S.C.; EDMEADES, G.O. Selection improves drought tolerance in tropical maize populations: II. Direct and correlated responses among secondary traits. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 5, p. 1315-1324, 1999.

CHOI, K.J.; LEE, H.S.; CHIN, M.S.; PARK, K.Y.; CHA, S.W.; PARK, S.E. Stay-green characteristics and characters related to stay-green in inbred lines. **Maize Genetics Cooperation Newsletter**, Columbia, v. 69, p. 122, 1995.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, segundo levantamento, novembro 2012**. Brasília, 2012. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 12 nov. 2012.

COMSTOCK, R.E.; ROBINSON, H.F. The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance. **Biometrics**, Washington, v. 4, p.254-266, 1948.

_____. Estimation of average dominance genes. In: GOWEN, J.W. (Ed.). **Heterosis**. Ames: Iowa State College Press, 1952. chap. 30, p. 494-516.

COSTA, E.F.N. **Herança da senescência retardada em milho**. 2007. 56 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

COSTA, E.F.N.; SANTOS, M.F.; MORO, G.V.; ALVES, G.F.; SOUZA JÚNIOR, C.L. Herança da senescência retardada em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 207-213, 2008.

CRAFTS-BRANDNER, S.J.; HÖLZER, R.; FELLER, U. Influence of nitrogen deficiency on senescence and the amounts of RNA and proteins in wheat leaves. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 102, p. 192–200, 1998.

CRATA, O.R.; XU, W.; ROSENOW, D.T.; MULLET, J.E.; NGUYEN, H.T. Mapping of post-flowering drought tolerance traits in grain sorghum: association of QTLs influencing premature senescence and maturity. **Molecular and General Genetics**, New York, v. 262, p. 579-588, 1999.

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

DUARTE, J.O. **Introdução e importância econômica do milho**. Embrapa Milho e Sorgo - Sistema de Produção, 2000. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 17 nov. 2012.

DURÃES, F.O.M.; SANTOS, M.X. dos; GAMA, E.G.; MAGALHÃES, P.C.; ALBUQUERQUE, P.E.P.; GUIMARÃES, C.T. **Fenotipagem associada a tolerância a seca em milho para uso em melhoramento, estudos genômicos e seleção assistida por marcadores**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 17 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 39).

DUVICK, D.N. Genetic contributions to yield gains of U.S. hybrid maize, 1930 to 1980. In: FEHR, W.R. (Ed.). **Genetic contributions to yield gains of five major crop plants**. Madison: ASA; CSSA, 1984. p. 15-47. (Publication, 7).

DUVICK, D.N.; CASSMAN, K.G. Post-green revolution trends in yield potential of temperate maize in the North-Central United States. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1622-1630, 1999.

DUVICK, D.N.; SMITH, L.S.C.; COOPER, M. Long-term selection in a commercial hybrid maize breeding program. **Plant Breeding Reviews**, Westport, v. 24, p. 109-151, 2004.

EDMEADES, G.O.; BÄZINGER, M.; BOLAÑOS, J.; BECK, D.; CIANO, A.O.C. Development and *per se* performance of CIMMYT maize populations as drought tolerant sources. In: DEVELOPING DROUGHT AND LOW N-TOLERANT MAIZE SYMPOSIUM, 1996, El Batán. **Proceedings...** Mexico: CIMMYT, 1997. p. 254-262.

EDMEADES, G.O.; BOLAÑOS, J.; BANZIGER, M.; RIBAUT, J.M.; WHITE, J.W.; REYNOLDS, M.P.; LAFITTE, H.R. Improving crop yields under water deficits in the tropics. In: INTERNATIONAL CROP SCIENCE CONGRESS, 2., 1998, New Delhi. **Crop Productivity and sustainability- shaping the future**; proceedings... New Delhi: Oxford and IBH, 1998. p. 437-451.

EDMEADES, G.O. Drought tolerance in maize: an emerging reality: a feature. In: JAMES, C. **Global status of commercialized biotech/gm crops**: 2008. Ithaca: ISAAA, 2008. (ISAAA Brief, 39).

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

FAO. **FAOSTAT**. 1997. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 21 ago. 2011.

_____. **FAOSTAT**. 2012. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>>. Acesso em: 12 nov. 2012.

GARDNER, C.O.; HARVEY, R.E.; COMSTOCK, R.E.; ROBINSON, H.F. Dominance of genes controlling quantitative characters in maize. **Agronomy Journal**, Madison, v. 45, p. 186-191, 1953.

GENTINETTA, E.; CEPPI, D.; LEPORI, C.; PERICO, G.; MOTTO, M.; SALAMINI, F. A major gene for delayed senescence in maize. Pattern of photosynthates accumulation and inheritance. **Plant Breeding**, Berlin, v. 97, p. 193-203, 1986.

GRANT, R.F.; JACKSON, B.S.; KINIRY, J.R.; ARKIN, G.F. Water deficit timing effects on yield components in maize. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, n. 1, p. 61-65, 1989.

GUEI, R.G.; WASSON, C.E. Genetic analysis of tassel size and leaf senescence and their relationship with yield in two tropical lowland maize populations. **African Crop Science Journal**, Kampala, v. 4, n. 3, p. 275-281, 1996.

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

HAN, G-C; HALLAUER, A.R. Estimates of genetic variability in F₂ maize populations. **The Journal of the Iowa Academy of Science**, Beltsville, v. 96, p.14-19, 1989.

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

HAUSSMANN, B.I.G.; MAHALAKSHMI, V.; REDDY, B.V.S.; SEETHARAMA, N.; HASH, C.T.; GEIGER, H.H. QTL mapping of *stay green* in two sorghum recombinant inbred populations. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 106, p. 133-142, 2002.

HE, P.; ZHOU, W.; JIN, J. Effect of nitrogen application on redistribution and transformation of photosynthesized 14c during grain formation in two maize cultivars with different senescence appearance. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 25, n. 11, p. 2443-2456, 2002.

HU, Z.L.; DENG, L.; YAN, B.; PAN, Y.; LUO, M.; CHEN, X.Q.; HU, T.Z.; CHEN, G.P. Silencing of the LeSGR1 gene in tomato inhibits chlorophyll degradation and exhibits a stay-green phenotype. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 55, n. 1, p. 27-34, 2011.

JIANG, G.H.; HE, Y.Q.; XU, C.G.; LI, X.H.; ZHANG, Q. The genetic basis of stay-green in rice analyzed in a population of doubled haploid lines derived from na indica by japonica cross. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 108, p. 688-698. 2004.

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

KAMARA, A.Y.; MENKIR, A.; AJALA, S.O.; KUREH, I. Performance of diverse maize genotypes under nitrogen deficiency in the northern Guinea savanna of Nigeria. **Experimental Agriculture**, New York, v. 41, n. 2, p. 199-212, 2005.

KAMARA, A.Y.; MENKIR, A.; BADU-APRAKU, B. IBIKUNLE, O. Reproductive and stay-green trait responses of maize hybrids, improver open-pollinated varieties and farmers' local varieties to terminal drought stress. **Maydica**, Bergamo, v. 48, n. 1, p. 29-37, 2003.

KHUSH, G.S. Green revolution: preparing for the 21st century. **Genome**, Ottawa, v. 42, p. 646-655, 1999.

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

LAFITTE, H.R.; EDMEADES, G.O. Improvement for tolerance to low soil-nitrogen in tropical maize. 1. Selection criteria. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 1-14, 1994.

LEE, E.A.; AHMADZADEH A.; TOLLENAAR, M. Quantitative genetics analysis of the physiological processes underlying maize grain yield. **Crop science**, Madison, v. 45, p. 981-987, 2005.

LUPATINI, G.C.; MACCARI, M.; ZANETTE, S.; PIACENTINI, E.; NEUMANN, M. Avaliação do desempenho agrônômico de híbridos de milho (*Zea mays*, L.) para produção de silagem. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 2, p. 193-203, 2004.

MEDICI, L.O.; PEREIRA, M.B.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Identification of maize lines with contrasting responses to applied nitrogen. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 28, n. 5, p. 903-915, 2005.

MOLL, R.H.; LINDSEY, M.F.; ROBINSON, H.F. Estimates of genetic variances and level of dominance in maize. **Genetics**, Baltimore, v. 49, p. 411-423, 1964.

MONNEVEUX, P.; ZAIDI, P.H.; SANCHEZ, C. Population density and low nitrogen affects yield-associated traits in tropical maize. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 2, p. 535-545, 2005.

MORRIS, M.L. **Impacts of international maize breeding research in developing countries, 1966-98**. Mexico: CIMMYT, 2002. 54 p.

MUGO, S.N.; EDMEADES, G.O.; KIRUBI, D.T. Genetic improvement for drought tolerance increases tolerance to high plant density in tropical maize under low input levels. In: ARNEL R. HALLAUER INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT BREEDING, 2003, Mexico City. **Book of abstracts...** Mexico City: CIMMYT, 2003. p. 50-51.

NEUMANN, M.; SANDINI, I.E.; LUSTOSA, S.B.C.; OST, P.R.; ROMANO, M.A.; FALBO, M.K.; PANSERA, E.R. Rendimentos e componentes de produção da planta de milho (*Zea mays* L.) para silagem, em função de níveis de adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 418-427, 2005.

NEUMANN, M.; OST, P.R.; PELLEGRINI, L.G. de; DEFAVERI, F.J. Comportamento de híbridos de milho (*Zea mays*) e sorgo (*Sorghum bicolor*) para silagem na região centro-sul do Paraná. **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, Guarapuava, v. 4, n. 2, p. 237-250, 2008.

NOODÉN, L.D.; GUIAMÉT, J.J.; JOHN, I. Senescence mechanisms. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 101, p.746-753. 1997.

ORNELLA, L.; CERVIGNI, G.; TAPIA, E. Applications of machine learning in breeding for stress tolerance in maize. In: VENKATESWARLU, B.; SHANKER, A.K.; SHANKER, C. MAHESWARI, M. **Crop stress and its management: perspectives and strategies**. London: Springer, 2012. chap. 5, p. 163-162.

- OSTEROM, E.J. van; JAYACHANDRAN, R.; BIDINGER, F.R. Diallel analysis of the *stay green* trait and its components in sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 549-555, 1996.
- PAN, W.L.; CAMBERETO, J.J.; JACKSON, W.A.; MOLL, R.H. Utilization of previously accumulated and concurrently absorbed nitrogen during reproductive growth in maize. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 82, p. 247-253, 1986.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451p.
- RAJCAN, I.; TOLLENAAR, M. Source: sink ratio and leaf senescence in maize: I. Dry matter accumulation and partitioning during grain filling. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 60, p. 245-253, 1999.
- RIBAUT, J.M.; JIANG, C.; GONZALEZ-DE-LEON, D. Identification of quantitative trait loci under drought condition in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 5, p. 887-896, 1997.
- RIBAUT, J. .; EDMEADES, G.O.; BETRÁN, F.J.; JIANG, C.; BÄNZIGER, M. Marker-assisted selection for improving drought tolerance in tropical maize. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON GENETIC IMPROVEMENT FOR WATER-LIMITED ENVIRONMENTS, 1999, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: IRRI, 1999. p. 193-209.
- ROBINSON, H.F.; COMSTOCK, R.E.; HARVEY, P.H. Estimates of heritability and degree of dominance in corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 41, p. 353-359, 1949.
- RUSSELL, W.A. Contributions of breeding to maize improvement in the United States, 1920s-1980s. **Iowa State Journal of Research**, Ames, v. 61, n. 1, p. 5-34, 1986.
- SANGOI, L.; SCHMITT, A.; ZANIN, C.G. Área foliar e rendimento de grãos de híbridos de milho em diferentes populações de plantas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 6, n. 3, p. 263-271, 2007.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: user's guide**. Version 9.2. Cary, 2008. 584 p.
- SATTERTHWAITE, R.E. An approximate distribution of estimates of variance components. **Biometrics**, Washington, v. 2, p. 110-114, 1946.
- SEARLE, R.S.; CASELA, G.; MCCULLOCH, C.E. **Variance components**. New York: John Wiley, 1992. 501 p.
- SHIOGA; P.S.; GERAGE; A.C. Influência da época de plantio no desempenho do milho safrinha no estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 9, n. 3, p. 236-253, 2010.
- SILVA, A.R. da. **Análise genética de caracteres quantitativos em milho com o delineamento III e marcadores moleculares**. 2002. 143 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVA, J.A.G. da; CARVALHO, F.I.F. de; HARTWIG, I.; OLIVEIRA, A.C. de; BERTAN, I.; CAETANO, V.R.; SCHMIDT, D.A.M.; VALÉRIO, I.P.; RIBEIRO, G.; BUSATO, C.C. Caráter stay-green e produtividade de grãos em trigo. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 1, p. 161-167, 2008.

SMALLEY, M.D.; DAUB, J.L.; HALLAUER, A.R. Estimation of heritability in maize by parent-offspring regression. **Maydica**, Bergamo, v. 49, p. 221-229, 2004.

SUBUDHI, P.K.; ROSENOW, D.T.; NGUYEN, H.T. Quantitative trait loci for the stay-green trait in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench): consistency across genetic backgrounds and environments. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 101, p. 733-741, 2000.

THOMAS, H. Sid: a Mendelian locus controlling thylakoid membrane disassembly in senescing leaves of *Festuca pratensis*. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 73, p. 551-555, 1987.

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

THOMAS, H.; ROGERS, L.J. Turning over an old leaf. **University Wales Rev. Sci. Tech.**, Wales, v. 6, p. 29-38, 1990.

THOMAS, H.; SMART, C.M. Crops that *stay green*. **The Annals of applied biology**, London, v. 123, p. 193-219, 1993.

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

TOLLEY-HENRY, L.; RAPER Jr., C.D.; GRANATO, T.C. Cyclic variations in nitrogen uptake rate of soybean plants: Effects of external nitrate concentration. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 39, p. 613-622, 1988.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World corn production, consumption and stocks**. 2012. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline>>. Acesso em: 02 fev. 2012.

VALENTINUZ, O.R.; TOLLENNAR, M. Vertical profile of leaf senescence during the grainfilling period in older and newer maize hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 827-834, 2004.

VILELA, E.F.; BÜLL, L.T. Avaliação do crescimento de plantas de milho em função de doses de potássio e estresse hídrico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, n. 2, p. 281-289, 1999. Disponível em: <<http://redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=180218287013>>. Acesso em: 13 nov. 2012.

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

WANG, A.; LI, Y.; ZHANG, C. QTL mapping for stay-green in maize (*Zea mays*). **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 92, p. 249-256, 2012.

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

ZAIDI, P.H.; SRINIVASAN, G.; CORDOVA, H.S.; SANCHEZ, C. Gains from improvement for mid-season drought tolerance in tropical maize (*Zea mays* L.). **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 89, p. 135-152, 2004.

ZHENG, H.J.; WU, A.Z.; ZHENG, C.C.; WANG, Y.F.; CAI, R.; SHEN, X.F.; XU, R.R.; LIU, P.; KONG, L.J.; DONG, S.T. QTL mapping of maize (*Zea mays*) stay-green traits and their relationship to yield. **Plant Breeding**, Berlin, v. 128, p. 54-62, 2009.

ANEXOS

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

Ambientes	Localização ^a	Data do plantio	Época de semeadura ^b	Irrigação
E ₁	E. E. Anhembi	17/12/2008	2 ^a época	Presente
E ₂	E. E. Anhembi	17/12/2008	2 ^a época	Presente
E ₃	E. E. Caterpillar	28/11/2008	1 ^a época	Ausente
E ₄	E. E. Caterpillar	14/01/2009	2 ^a época	Ausente
E ₅	E. E. Anhembi	17/11/2008	1 ^a época	Presente
E ₆	E. E. Anhembi	17/11/2008	1 ^a época	Presente
E ₇	E. E. Anhembi	03/11/2009	1 ^a época	Presente
E ₈	E. E. Caterpillar	09/11/2009	1 ^a época	Ausente
E ₉	E. E. Anhembi	11/12/2009	2 ^a época	Ausente
E ₁₀	E. E. Caterpillar	08/01/2010	2 ^a época	Ausente

^aEstação experimental (E.E.); ^bForam considerados 2^a época de semeadura os experimentos plantados a partir do dia dez de dezembro de cada ano de avaliação.

Tabela 3 - Valores e significâncias dos quadrados médios das análises de variância individuais e coeficientes de variação (CV%) para o caráter *stay green* nos 10 ambientes (E)

Fontes de variação	Quadrados Médios										
	GL	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀
Repetição	1	0,36 ^{ns}	0,02 ^{ns}	4,11 ^{**}	0,60 [*]	0,48 ^{ns}	0,02 ^{ns}	1,13 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,15 ^{ns}	5,67 ^{**}
Bloco(Repetição)	38	0,20 ^{**}	0,54 ^{**}	0,31 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,71 ^{**}	0,29 ^{**}	0,30 ^{**}	0,23 ^{ns}	0,32 ^{**}	0,12 ^{ns}
Parentais (T)	1	22,47 ^{**}	18,75 ^{**}	26,92 ^{**}	6,87 ^{**}	2,27 ^{**}	0,56 ^{ns}	10,85 ^{**}	40,09 ^{**}	7,67 ^{**}	3,31 ^{**}
Progênes (P)	99	0,18 ^{**}	0,32 ^{**}	0,68 ^{**}	0,14 ^{**}	0,56 ^{**}	0,30 ^{**}	0,24 ^{**}	0,47 ^{**}	0,70 ^{**}	0,39 ^{**}
P x T	99	0,14 [*]	0,27 [*]	0,37 [*]	0,09 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,21 ^{**}	0,13 [*]	0,27 [*]	0,31 ^{**}	0,14 [*]
Erro	160	0,10	0,20	0,28	0,07	0,22	0,14	0,10	0,19	0,16	0,11
CV(%)		7,39	11,51	14,53	5,79	14,53	10,45	7,18	11,66	9,87	8,17

^{ns}, * e ** não significativo, significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

Tabela 4 - Valores e significâncias dos quadrados médios da análise de variância conjunta e coeficiente de variação (CV%), para o caráter *stay green*

Fontes de variação	GL	QM
Ambientes (E)	9	75,81**
Parentais (T)	1	116,74**
T x E	9	3,42**
Progênes (P)	99	2,00**
P x T	99	0,83**
P x E	891	0,42**
P x T x E	891	0,16 ^{ns}
Erro Efetivo Médio	1594	0,16
CV(%)	10,03	

Tabela 5 - Médias de cada retrocruzamento por ambiente (E), média do ambiente, média geral (\bar{E}) por retrocruzamento e média geral de todas as progênies retrocruzadas, intervalos de variação (IV) e intervalos de confiança (IC) para o caráter *stay green*

Ambientes		Retro 1 (F ₂ x L08-05F)	Retro 2 (F ₂ x L38-05D)	(Retro 1+Retro 2)/2
E ₁	\bar{x}	4,08	4,56	4,32
	IV	(2,77;5,00)	(3,84;5,00)	(2,77;5,00)
	IC ¹	(4,05;4,10)	(4,53;4,58)	(4,30;4,34)
E ₂	\bar{x}	3,71	4,15	3,93
	IV	(2,73;4,96)	(2,98;5,00)	(2,73;5,00)
	IC	(3,67;3,74)	(4,11;4,18)	(3,90;3,95)
E ₃	\bar{x}	3,37	3,89	3,63
	IV	(1,73;4,66)	(2,30;4,98)	(1,73;4,98)
	IC	(3,32;3,41)	(3,85;3,93)	(3,60;3,66)
E ₄	\bar{x}	4,51	4,77	4,64
	IV	(3,64;5,00)	(4,05;5,00)	(3,64;5,00)
	IC	(4,49;4,53)	(4,75;4,79)	(4,62;4,66)
E ₅	\bar{x}	3,16	3,32	3,24
	IV	(1,67;4,17)	(2,31;4,43)	(1,67;4,43)
	IC	(3,12;3,19)	(3,28;3,35)	(3,21;3,26)
E ₆	\bar{x}	3,48	3,56	3,52
	IV	(2,42;4,38)	(2,26;4,46)	(2,26;4,46)
	IC	(3,45;3,51)	(3,53;3,59)	(3,49;3,55)
E ₇	\bar{x}	4,24	4,58	4,41
	IV	(3,07;4,95)	(3,33;5,00)	(3,07;5,00)
	IC	(4,21;4,26)	(4,55;4,60)	(4,38;4,43)
E ₈	\bar{x}	3,35	4,02	3,69
	IV	(1,68;4,67)	(3,00;4,98)	(1,68;4,98)
	IC	(3,32;3,39)	(3,99;4,06)	(3,66;3,71)
E ₉	\bar{x}	3,94	4,22	4,08
	IV	(1,88;4,99)	(2,50;5,00)	(1,88;5,00)
	IC	(3,91;3,98)	(4,19;4,25)	(4,06;4,11)
E ₁₀	\bar{x}	3,92	4,10	4,01
	IV	(2,72;4,73)	(3,05;4,90)	(2,72;4,90)
	IC	(3,89;3,94)	(4,07;4,13)	(3,98;4,04)
\bar{E}	\bar{x}	3,77	4,12	3,95
	IV	(2,88;4,52)	(3,51;4,66)	(3,33;4,59)
	IC	(3,72;3,83)	(4,06;4,17)	(3,94;3,95)

¹IC a 95% de probabilidade.

Tabela 6 - Estimativas da variância de progênies ($\hat{\sigma}_P^2$), variância da interação progênies com ambientes ($\hat{\sigma}_{PE}^2$), variância da interação progênies com parentais ($\hat{\sigma}_{PT}^2$), variância fenotípica média ($\hat{\sigma}_{\bar{F}}^2$), variância fenotípica em nível de plantas ($\hat{\sigma}_{F_{Pt}}^2$) e dos respectivos intervalos de confiança (IC)

Parâmetros	Estimativas ¹	IC ²
$\hat{\sigma}_P^2$	3,94	(2,86;5,84)
$\hat{\sigma}_{PE}^2$	6,64	(5,73;7,79)
$\hat{\sigma}_{PT}^2$	3,35	(2,46;4,94)
$\hat{\sigma}_{\bar{F}}^2$	5,38	(4,43;6,75)
$\hat{\sigma}_{F_{Pt}}^2$	61,37	(58,49;64,50)

Tabela 7 - Estimativas dos componentes da variância genética ($\hat{\sigma}_A^2$ e $\hat{\sigma}_D^2$), da variância genética ($\hat{\sigma}_G^2 = \hat{\sigma}_A^2 + \hat{\sigma}_D^2$), suas respectivas interações com ambiente ($\hat{\sigma}_{AE}^2$ e $\hat{\sigma}_{GE}^2$), grau médio de dominância (\hat{d}), coeficientes de herdabilidade de médias de progênies de meios-irmãos e de plantas F_2 , no sentido amplo e restrito, ($\hat{h}_{\bar{x}}^2$, \hat{h}_a^2 e \hat{h}_r^2) e seus respectivos intervalos de confiança (IC) para o caráter *stay green*

Parâmetros	Estimativas ¹	IC ²
$\hat{\sigma}_A^2$	15,75	(13,30;18,96)
$\hat{\sigma}_D^2$	3,35	(2,46;4,94)
$\hat{\sigma}_G^2$	19,10	(16,44;22,55)
$\hat{\sigma}_{AE}^2$	26,56	(24,64;28,72)
$\hat{\sigma}_{GE}^2$	26,60	(24,68;28,77)
\hat{d}	0,65	(0,26;0,70)
$\hat{h}_{\bar{x}}^2$	0,73	(0,70;0,84)
\hat{h}_a^2	0,31	(0,28;0,35)
\hat{h}_r^2	0,26	(0,23;0,29)

¹Estimativas de variâncias multiplicadas por 10^2 . ²IC a 95% de probabilidade.