

IDENTIFICAÇÃO DE QTLs ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA PARCIAL À MANCHA BRANCA DO MILHO

IDENTIFICATION OF PARTIAL RESISTANCE FROM QTLs TO MAIZE WHITE SPOT

Fernando Cezar JULIATTI¹; Michele Gonçalves PEDROSA²;

Breno Cezar Marinho JULIATTI³; Igor Forigo BELOTI³; Adriana de Andrade Figueiró⁴

1. Professor, Doutor, Instituto de Ciências Agrárias – ICIAG, Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia, MG, Brasil. juliatti@ufu.br ; 2-Mestre em Fitopatologia, Laboratório de Micologia e Proteção de Plantas – UFU, Uberlândia, MG, Brasil.; 3. Mestrandos em Fitopatologia – UFU, Uberlândia, MG, Brasil; 4. Pós-Doutorado em Agronomia (PRODOC -UFU- CAPES).

RESUMO: O milho é um dos cereais mais importantes cultivados no mundo, porém, fatores como as doenças podem ocasionar decréscimos no rendimento de grãos. A mancha branca, causada por um complexo de patógenos, está entre as principais doenças desta cultura e pode ocasionar perdas de cerca de 60 %. Dentro deste contexto, este trabalho teve como objetivos estimar parâmetros genéticos, identificar e mapear QTLs associados à resistência à mancha branca do milho, visando o desenvolvimento de genótipos resistentes à doença. Noventa e oito famílias F_{2:3} do cruzamento entre as linhagens BS01 (suscetível) e BS02 (resistente) e 90 famílias F_{2:3} do cruzamento entre BS03 (suscetível) e BS04 (resistente) foram conduzidas a campo em três ambientes. As herdabilidades variaram de 82,3 % a 86,2 % nos locais avaliados para a população 1. Para a população 2 a herdabilidade variou de 76 % a 86,6 %. Na análise conjunta para a resistência nas duas populações, efeitos entre pais e entre progênes foram significativos, assim como a interação de progênes e local, indicando que uma família superior em um local não será obrigatoriamente superior em outro local. Dos QTLs testados nas populações 1 e 2, foram encontrados marcadores que expressaram até 25% da variância fenotípica nos grupos de ligação 1, 3, 6 e 9. Assim, estes dados em conjunto demonstram a possibilidade de seleção assistida, para a resistência à mancha branca do milho, nas gerações iniciais com o uso dos marcadores moleculares estudados.

PALAVRAS-CHAVE: Mancha de feosféria. Marcadores moleculares. Microsatélites. *Pantoea ananatis*. *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

A doença denominada como mancha de feosféria em outras partes do mundo (RANE et al. 1966; SHURTLEFF, 1984; CARSON et al. 1991), vem sendo descrita como um patossistema complexo causado por fungos e bactérias, denominada de mancha branca do milho ou mancha de feosféria no Brasil (PACCOLA-MEIRELLES et al., 2001; PACCOLA-MEIRELLES et al., 2002; FERNANDES et al. 1995; FERNANDES; OLIVEIRA, 1997). Possivelmente a bactéria *Pantoea ananatis* (Serrano) Margaret é a precursora da infecção inicial (encharcamento ou anasarco) (PACCOLA-MEIRELLES et al., 2001), iniciando as epidemias e, por conseguinte ocorrem as infecções secundárias por *Phyllosticta maydis* (Arny; R. R. Nelson), *Phoma sorghina* (Saccardo) Dorenbosh e Kesteren, *Phaeosphaeria maydi* (Hennings) Rane, Payak e Renfros e *Sporormiella* Ellis e Everthart.

Para uma etiologia complexa como a da mancha branca do milho, onde os agentes etiológicos nem sempre são os mesmos ou são comuns, há um aumento na dificuldade do controle da doença. Assim, tem sido proposto o uso de

genótipos mais resistentes para os diferentes ambientes e uso da associação de fungicidas com antibióticos de contato ou sistêmicos para o controle da doença (SILVA et al 2000; PATAKY-EASTBURN, 1993; MUNKVOLD et al, 2001).

O uso da resistência genética é considerado eficiente, pela sua economicidade e por ser ambientalmente segura (PRIESTLEY; BAYLES, 1988). Quando ocorre a presença de uma variação contínua de graus de resistência, indo desde extrema suscetibilidade até extrema resistência, diz-se que a resistência é horizontal poligênica (VAN DER PLANCK, 1968). Devido a essa característica métrica, a resistência horizontal ou poligênica também é denominada de resistência quantitativa. Portanto, para que seja possível distinguir genótipos resistentes de suscetíveis, há a necessidade de quantificar a doença, uma vez que a distinção entre genótipos não é tão evidente como no caso da resistência vertical e mono ou oligogênica. (VIDIGAL; POLETINI, 1999). Geralmente, a resistência horizontal é causada pela expressão de alelos para resistência em muitos *loci*, cada um com efeito menor e aditivo. A vantagem deste tipo de resistência é sua habilidade para controlar um espectro maior de raças em uma população

patogênica. Novas raças do patógeno apresentariam dificuldade em superar a presença de alelos para resistência em múltiplos *loci* (FEHR, 1987).

O uso de mapeamentos por QTLs (*loci* de características quantitativas) de resistência à fitopatógenos vem sendo empregados em estudos de herança genética, obtendo dados precisos e informativos, o que permite uma melhor compreensão dos caracteres quantitativos, além do monitoramento das regiões genômicas onde estão posicionados os *loci* de interesse (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Estes podem ser tratados como fatores mendelianos. O nível de significância para a declaração da existência de um QTL é expresso na forma de valor *lod score*. Este indica, na escala logarítmica, a razão entre a probabilidade dos dados observados terem assumido a presença de um QTL sobre a probabilidade de sua ausência. Em geral, um limite de *lod* entre 2 e 3 é utilizado, dependendo do número de marcadores testados e do tamanho do genoma em centimorgans (cM), de maneira que a probabilidade de declarar um falso QTL é mantida abaixo de um nível de significância de 0,05 no genoma como um todo (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Embora a mancha branca tenha um potencial de causar altas perdas econômicas em áreas tropicais, existem limitadas informações da herança em milho, principalmente no mapeamento de QTLs, assim se faz necessário o estudo de QTLs em outras populações de milho para aumentar o entendimento da arquitetura genética para esta característica (Moreira, 2009).

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi identificar a presença de QTLs em milho associados à resistência ao complexo da mancha branca, baseados na avaliação de marcadores do tipo microssatélites em três locais de Minas Gerais e para duas populações de milho, visando o desenvolvimento de genótipos de milho resistentes à doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Populações segregantes, locais de experimentos e delineamento experimental

Noventa e oito famílias $F_{2,3}$ provenientes do cruzamento entre as linhagens BS01 (suscetível) x BS02 (resistente ao complexo mancha branca) e 90 famílias $F_{2,3}$ do cruzamento entre as linhagens BS03 (suscetível) x BS04 (resistente ao complexo mancha branca) foram utilizadas neste estudo. As quatro linhagens utilizadas como pais nos cruzamentos foram desenvolvidas pelo programa de

Melhoramento de Milho da Syngenta Seeds, em Uberlândia - MG.

A semeadura foi realizada para as diferentes famílias em três localidades do Estado de Minas Gerais: Uberlândia, Patos de Minas e Campo Florido. A escolha desses locais foi devido ao histórico de mancha branca já relatada nestes ambientes.

O delineamento utilizado foi o em látice quadrado (10 x 10), com três repetições. Para a primeira população foram utilizadas 98 famílias, além dos pais contrastantes, totalizando 100 indivíduos. Para a segunda população foram utilizadas 90 famílias, os dois pais contrastantes e oito testemunhas. Cada parcela foi constituída de 10 linhas de 6 m cada, com espaçamento entre linhas de 0,75 m e seis sementes por metro linear. Os tratamentos culturais utilizados foram os recomendados para a cultura do milho.

Avaliação das doenças

A reação das famílias ao complexo mancha branca foi avaliada por meio de notas atribuídas independentemente e dadas por dois avaliadores na época de incidência e severidade máxima da doença. As notas variaram de 1 a 9, onde: 1=0, 2=1, 3=10, 4=20, 5=30, 6=40, 7=60, 8=80 e 9=80-100 %, conforme Agrocères (1994).

Análise estatística individual e conjunta dos experimentos

Para análise individual de intrablocos do látice e para a análise conjunta foram utilizados os modelos aleatórios propostos por VIANA (1993). Para a análise individual os componentes de variância foram devido aos efeitos de progênie ($\hat{\sigma}_g$), interação progênie por ambiente ($\hat{\sigma}_{gE}^2$), residual ($\hat{\sigma}^2$) e fenotípica ($\hat{\sigma}_f^2$) estimados de acordo com SILVA (1997). Entretanto, para a análise conjunta os componentes de variância foram devido aos efeitos de progênie ($\hat{\sigma}_g$), interação ($\hat{\sigma}_e$) e residual ($\hat{\sigma}^2$) (Silva, 1996).

A análise conjunta foi realizada atendendo o pressuposto estabelecido por Banzato e Kronka (1995), onde existe homogeneidade de variância dos erros quando a razão entre a variância de maior valor e a de menor valor for < 7 .

Nos experimentos em que a eficiência relativa do delineamento em látice, em relação ao delineamento em blocos casualizados completos, foi baixa, inferior a 105%, o modelo de análise de experimentos em blocos casualizados completos foi adotado (SILVA et al., 2000).

As herdabilidades foram estimadas no sentido amplo, para a seleção com base nas médias dos tratamentos, utilizando as estimativas dos componentes de variância, usando a seguinte fórmula:

$$\hat{h}_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_f^2}$$

Identificação de QTLs associados à resistência à mancha branca

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Genética Molecular da Syngenta Seeds Ltda em Uberlândia, MG.

Extração de DNA

Para extração de DNA das plantas foi utilizado o protocolo MINIPREP (DOYLE; DOYLE, 1990). As amostras foram quantificadas em espectrofotômetro e qualidade do DNA analisada em gel de agarose 1 % (p/v) corado com brometo de etídeo.

Análise dos marcadores microssatélites (SSR)

Inicialmente, 600 *primers* microssatélites foram avaliados entre as linhagens parentais, para a seleção dos *loci* polimórficos. As sequências dos *primers* utilizados são de domínio da empresa Syngenta Seeds Ltda. As reações de amplificação dos microssatélites consistiram de 5,0 µL de DNA genômico (25 ng/µL), 0,32 µL de cada primer, 0,75 µL de dNTPs (5 mM), 1,5 µL tampão da PCR 10X (20 mM MgCl₂), 7,28 µL de H₂O estéril e 0,15 µL da enzima taq polimerase (5 U/µL) em um volume total de 15 µL. As amplificações foram realizadas no termociclador PTC-200, nas seguintes condições: 94 °C por 2 min, 40 x (94 °C por 15 s, 60 °C por 45 s, 72 °C por 2 min). Os produtos amplificados foram separados em gel de agarose 3 % (p/v) corado com brometo de etídeo.

Após a identificação dos *loci* polimórficos entre os parentais, foram selecionados 68 pares de primers para a primeira população e 62 para a segunda. As condições de PCR utilizadas foram as mesmas descritas para as reações com os pais contrastantes.

Análise de dados das famílias das populações F_{2:3} e a construção do mapa genético

Os marcadores baseados na amplificação de microssatélites possuem expressão codominante, assim, os dados foram tabulados como A, B, H e (-), sendo A, o pai resistente, B, o pai suscetível, H, heterozigotos e (-) para os dados perdidos. Primers com número de dados perdidos > 10 % foram

descartados. O mapa genético de ligação entre os marcadores SSR polimórficos e com segregação mendeliana foi obtido através do programa MAPMAKER 3.0 (LANDER et al., 1987), utilizando um lod score de 1,62 e a distância máxima de 80 cM entre duas marcas adjacentes, para formação de cromossomos. Um lod score indica, essencialmente, o quanto mais provável é a ligação entre dois loci do que a não existência de ligação entre eles (LANDER; BOTSTEIN, 1989). A função de mapeamento de Haldane (HALDANE, 1919) foi empregada para calcular as distâncias genéticas em cM.

Após a construção do mapa de ligação, o mapeamento dos QTLs envolvidos na resistência à mancha branca do milho foi realizado através do programa QTL Cartographer. O mapeamento foi realizado para cada população individualmente. Mapas também foram construídos através do programa WINQTL CARTOGRAPHER.

A metodologia de mapeamento por intervalo composto foi utilizada (ZENG, 1993; ZENG, 1994), através de lod score de 2,5, para assumir um QTL associado ao controle genético do caráter analisado, numa determinada posição do genoma.

O modelo matemático de mapeamento de intervalo composto foi o seguinte:

$$y_i / (M_j M_{j+1}) = \beta_0 + \beta_j X_{ji} + \sum_{l=j, j+1}^K \beta_l X_{li} +$$

ε_i , onde:

y_i é o valor observado para o i -ésimo indivíduo;

$(M_j M_{j+1})$ é o genótipo do i -ésimo indivíduo para as marcas j e $j + 1$;

β_j é o efeito do QTL localizado entre as marcas j e $j + 1$;

X_{ji} é uma variável dummy codificadora dos genótipos do i -ésimo indivíduo quanto aos marcadores j e $j + 1$;

β_l são os coeficientes de regressão parciais para o caráter em questão, na marca l ;

X_{li} são variáveis dummy representativas do genótipo o i -ésimo indivíduo, para a marca l , e

ε_i é o erro aleatório associado a i -ésima observação, $\varepsilon_i \sim N(0, \sigma^2)$.

Estimativa da proporção da variância fenotípica explicada pelos QTLs

Após a identificação dos QTLs envolvidos no controle genético do caractere analisado, um modelo de regressão múltipla foi ajustado. A

proporção da variância fenotípica explicada pelos QTLs conjuntamente foi estimada pelo coeficiente de determinação do modelo ajustado e a proporção da variância fenotípica explicada para cada QTL pelo coeficiente de determinação parcial para dado QTL.

De posse da distribuição de frequência das populações para a doença, foi estabelecido como ponto de truncagem a nota do parental resistente e parental suscetível. Assim, os indivíduos das gerações segregantes na distribuição de frequência até a nota do pai resistente foram considerados resistentes. Os indivíduos contados entre a nota do pai resistente e o parental suscetível foram considerados de resistência moderada. Os indivíduos da geração segregante $F_{2:3}$ de ambas populações, com notas iguais ou superiores ao progenitor suscetível foram considerados como suscetíveis. De posse dessa análise, foram estabelecidas três classes fenotípicas e assim

realizado o teste de qui-quadrado (χ^2) conforme RAMALHO et al. (1990).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação fenotípica da população 1

As herdabilidades encontradas variaram de 82,3% a 86,2% nos três locais avaliados (Uberlândia, Campo Florido e Patos de Minas) para a população 1 (Tabela 1).

Efeitos significativos entre progênie e entre pais foram observados nos três locais (Tabela 1). Na análise de progênie x parentais foram observadas diferenças significativas em Uberlândia e Patos de Minas, e não significativa em Campo Florido. Isso pode ter ocorrido devido à diferença de pressão de inóculo entre os locais e/ou devido a diferenças ambientais (temperatura, pluviosidade e fotoperíodo). Os coeficientes de variação foram de 17,8% (Patos de Minas) a 22,9% (Uberlândia).

Tabela 1. Análise de variância para severidade de mancha branca do milho na população 1 $F_{2:3}$ (BS01-Suscetível x BS02-Resistente) analisada nos municípios de Uberlândia, Campo Florido e Pato de Minas, Minas Gerais.

FV	GL	QM		
		Uberlândia	Campo Florido	Patos de Minas
Repetições	2	8,26**	1,39*	1,27**
Bloco/repetição (não ajustado)	27	1,25**	2,56**	0,82**
Tratamento (ajustado)	99	1,85**	3,44**	1,06**
Entre pais	1	4,92**	1,86*	0,77*
Pais x progênie	1	2,73**	0,03 ^{NS}	1,76**
Progênie	97	1,81**	3,48**	1,05**
Resíduo	171	0,28	0,38	0,19
Média		2,29	2,86	2,43
CV (%)		22,86	21,39	17,85
h_a^2		86,10	86,20	82,35

FV= Fonte de variação; QM= quadrado médio; GL= grau de liberdade; CV= coeficiente de variação; h_a^2 = herdabilidade no sentido amplo; NS= não significativo.

As médias de severidade da doença foram semelhantes nos três locais, apresentando valores baixos, variando de 2,29 (Uberlândia) a 2,86 (Campo Florido) (Tabela 1), provavelmente devido ao baixo potencial de inóculo existente nas áreas.

No entanto, conseguiu-se identificar algumas famílias com baixa resistência (nota maior que 4), evidenciando a ocorrência de segregação entre as famílias (Figura 1).

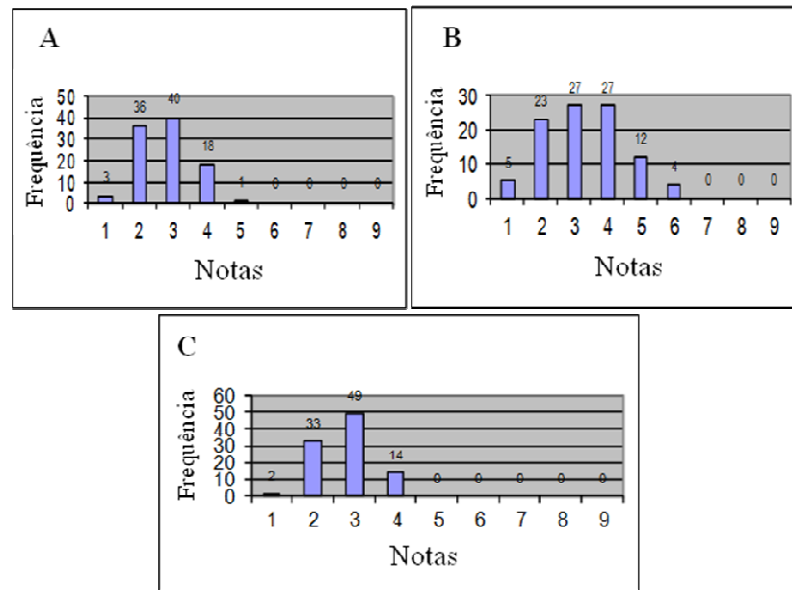


Figura 1. Distribuição de frequência para mancha branca do milho na população 1 $F_{2:3}$ (BS01-Suscetível x BS02-Resistente), nos municípios: **A.** Uberlândia; **B.** Campo Florido e **C.** Patos de Minas.

Avaliações fenotípicas da população 2

Quando analisada a resistência da população 2 ao complexo da mancha branca os resultados foram semelhantes a população 1 (Tabela 2). Diferenças significativas entre pais e entre progênieis foram detectadas. Não foram detectadas diferenças significativas no contraste pais x progênieis em Campo Florido e Patos de Minas. A herdabilidade

encontrada variou de 76% (Campo Florido) a 86,6% (Patos de Minas) e o coeficiente de variação entre 17,91% em Patos de Minas e 26,11% em Campo Florido. Em relação as notas médias para resistência, assim como para a população 1, a população 2 apresentou médias baixas, variando de 2,09 a 2,29 (Figura 2).

Tabela 2. Análise de variância para severidade de mancha branca do milho na população 2 $F_{2:3}$ (BS03-Suscetível x BS04-Resistente) analisada nos municípios de Uberlândia, Campo Florido e Pato de Minas, Minas Gerais.

FV	GL	QM		
		Uberlândia	Campo Florido	Patos de Minas
Repetições	2	0,84*	0,99*	0,13 ^{NS}
Bloco/repetição (não ajustado)	27	0,52*	0,80**	0,53**
Tratamento (ajustado)	99	1,38**	1,47**	1,44**
Entre pais	1	3,50**	11,34**	11,34**
Pais x progênieis	1	1,44*	0,97 ^{NS}	0,06 ^{NS}
Progênieis	89	1,09**	1,35**	1,12**
Resto/Outras interações	8	4,40	1,71	4,00
Resíduo	171	0,28	0,31	0,17
Média		2,09	2,14	2,29
CV (%)		25,34	26,11	17,92
h_a^2		77,71	75,98	86,63

FV= Fonte de variação; QM= quadrado médio; GL= graus de liberdade; CV= coeficiente de variação; h_a^2 = herdabilidade no sentido amplo; NS= não significativo.

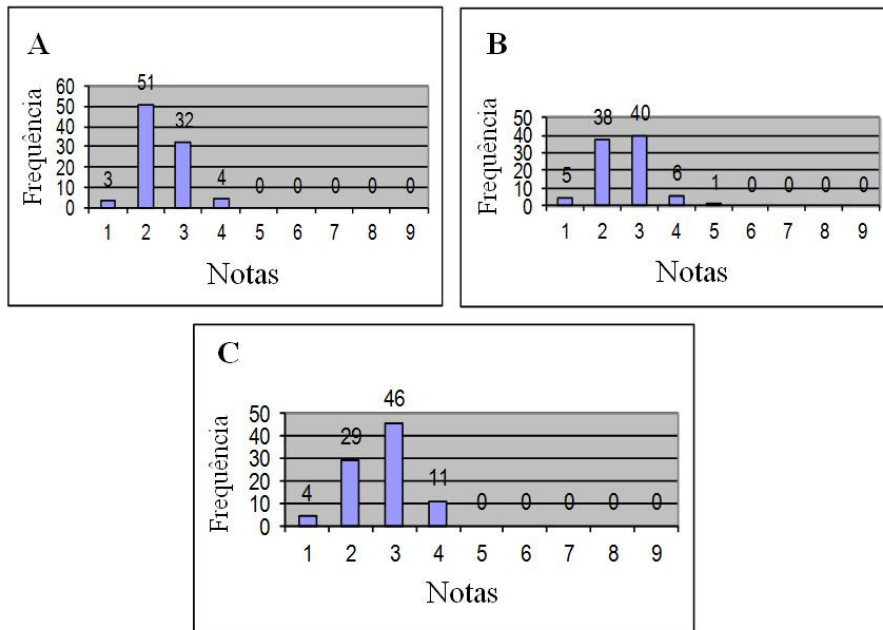


Figura 2. Distribuição de frequência para mancha branca do milho na população 2 F_{2.3} (BS03 x BS03), nos municípios: **A.** Uberlândia; **B.** Campo Florido e **C.** Patos de Minas.

Na análise conjunta para a resistência nas duas populações, efeitos entre pais e entre progênes foram significativos assim como a interação de progênes e local (Tabela 3). Isso significa que uma família superior em um local não será obrigatoriamente superior em outro local, embora os parentais apresentem uma expressão na reação à mancha branca comum nos três locais avaliados. A interação significativa de progênes x locais permite

também inferir sobre variabilidade populacional em relação à reação de resistência, o que pode ser confirmado pela interação significativa de pais e locais na população 2. Para a população 1, a média foi de 2,52 e apresentou um coeficiente de variação de 20,89 e uma herdabilidade no sentido amplo de 87,68% e para a população 2, a média foi de 2,17 %, com um coeficiente de variação de 23,17 e uma herdabilidade no sentido amplo de 87,05 %.

Tabela 3. Análises conjunta de variância para severidade de mancha branca do milho nas populações 1 F_{2.3} (BS01 x BS02) e 2 F_{2.3} (BS03 x BS04) analisada nos municípios de Uberlândia, Campo Florido e Pato de Minas, Minas Gerais.

FV	G L	População 1		População 2	
		QM	GL	QM	GL
Local	2	26,65**	2	3,21**	
Rep. (local)	6	3,64**	6	0,65*	
Bloco (local x repetição)	81	1,54**	81	0,62**	
Tratamento	(99)	5,02**	(99)	3,26**	
Entre pais	1	6,62*	1	24,67*	
Pais x progênes	1	2,64 ^{NS}	1	1,96 ^{NS}	
Progênes	97	5,03**	89	2,52**	
Tratamento x local	(198)	0,66**	(198)	0,52**	
Pais x local	2	0,46 ^{NS}	2	0,75*	
Progênie x local	194	0,66**	178	0,51**	

Pais x progênie x local	2	1,87*	2	0,50 ^{NS}
Resíduo	509	0,28	509	0,25
Média		2,53		2,18
CV (%)		20,90		23,18
h_a^2		87,68		87,05

FV= Fonte de variação; QM= quadrado médio; GL= graus de liberdade; CV= coeficiente de variação; h_a^2 = herdabilidade no sentido amplo; NS= não significativo.

Mapeamento da população 1

Para o estudo realizado em Uberlândia foram identificados quatro QTLs (Figura 3A). O primeiro situado no cromossomo 3, localizado a 71,17 cM do início do grupo (*lod* 4.2), estando entre os marcadores N444 e N892, a 3,43 cM do primeiro e 47,54 cM do segundo. O segundo QTL situado no cromossomo 5 a 120,20 cM do início do mesmo (*lod* 3.0), localizado entre os marcadores N448 e N110, a 26,40 cM do primeiro e 5,12 cM do

segundo. O terceiro no cromossomo 6, localizado a 414,68 cM do início do grupo (*lod* 4.0), entre N267 e N968, a uma distância de 338,98 cM do primeiro e 6,41 cM do segundo. O quarto também situado no cromossomo 6, a 444,94 cM do início do grupo (*lod* 4.0), entre os marcadores N968 e N430, a 23,85 cM do primeiro e 6,42 cM do segundo. Todos os QTLs identificados possuem efeito aditivo positivo e dominância completa.

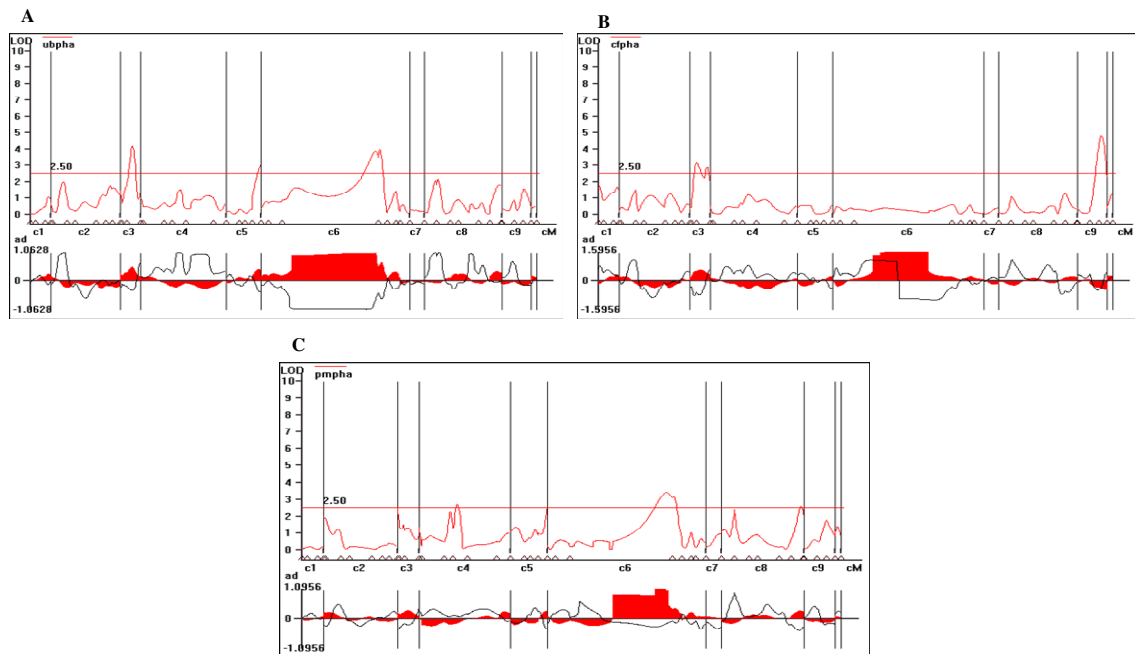


Figura 3. Mapeamento e efeitos aditivo (linha preenchida) e de dominância (linha preta) de QTLs para mancha branca do milho na população 1 nos municípios: **A.** Uberlândia; **B.** Campo Florido e **C.** Patos de Minas.

Três QTLs foram identificados quando as populações foram testadas em Campo Florido (Figura 3B), sendo o primeiro e o segundo situados no cromossomo 3, estando o primeiro localizado a 20,40 cM do início do grupo (*lod* 3.2), e o segundo localizado a 71,37 cM do início do mesmo (*lod* 2.9). O terceiro QTL situado no cromossomo 9 a uma distância de 87,44 cM do início do grupo (*lod* 4.8). Comparando com o mapa de ligação dos

marcadores SSR pode-se concluir que o primeiro QTL está situado entre os marcadores N126 e N444, a 12,72 cM do primeiro e 3,23 cM do segundo. O segundo QTL está situado entre os marcadores N444 e N892, a 47,74 cM do primeiro e 3,23 cM do segundo. O terceiro QTL, situado entre os marcadores N74 e N632, a 9,84 cM do primeiro e 18,60 cM do segundo. O primeiro e o segundo QTLs identificados possuem efeito aditivo positivo,

e o terceiro, efeito aditivo negativo. Todos os QTLS tiveram efeitos de dominância completa.

O mapeamento realizado para reação à mancha branca do milho em Patos de Minas, para a população 1 identificou quatro QTLS (Figura 3C), sendo o primeiro situado no cromossomo 4, a 110,45 cM do início do grupo (*lod* 2.5), estando entre os marcadores N506 e N754, a 25,26 cM do primeiro e 4,10 cM do segundo. O segundo QTL, no cromossomo 5, a 122,09 cM do início do grupo (*lod* 3.2), entre os marcadores N448 e N110, a 28,29 cM do primeiro e 3,23 cM do segundo. O terceiro QTL no cromossomo 6 a 414,67 cM do início do mesmo (*lod* 4.5), estando entre os marcadores N267 e N968 a 338,97 cM do primeiro e 6,42 cM do segundo. O quarto também no cromossomo 6, a 427,50 cM do início do grupo (*lod* 4.5), sendo este situado entre os marcadores N488 e N430 a 6,41 cM do primeiro e 23,86 cM do segundo. O segundo, terceiro e quarto

QTLS identificados possuem efeito aditivo positivo, sendo que o segundo e o quarto possuem dominância completa, e o terceiro dominância parcial. O primeiro QTL possui efeito aditivo negativo e ausência de dominância.

Quando foi realizada a análise conjunta para os três municípios estudados para a população 1 (Figura 4) foram identificados QTLS nos cromossomos 3, 4, 5, 6 e 9, sendo que no cromossomo 3, o mesmo QTL foi encontrado em dois locais (Uberlândia e Campo Florido), localizado entre os marcadores N444 e N892; no cromossomo 5, foi identificado o mesmo QTL em Uberlândia e Patos de Minas, situados entre os marcadores N448 e N110. No cromossomo 6, dois QTLS, sendo os mesmos em Uberlândia e Patos de Minas, mostrando essa região como importante para a seleção assistida de marcadores em vários ambientes.

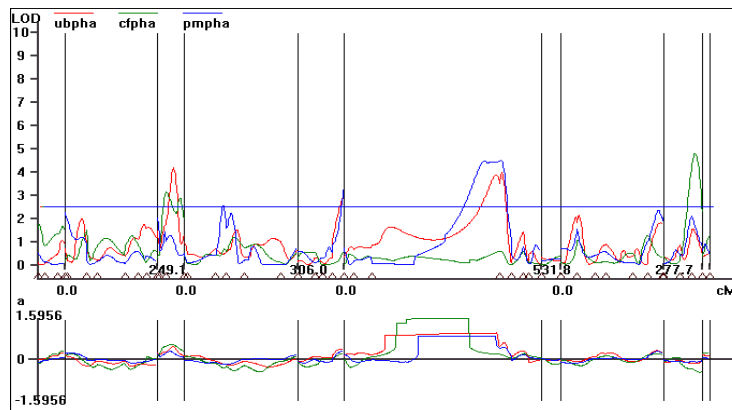


Figura 4. Mapeamento e efeito aditivo de QTLS para mancha branca do milho nos três locais (Uberlândia, Campo Florido e Patos de Minas) na população 1 $F_{2,3}$ (BS01-Suscetível x BS02-Resistente).

Mapeamento para a população 2

Quando as análises foram efetuadas com a população 2, três QTLS foram identificados em Uberlândia (Figura 5A), estando o primeiro situado no cromossomo 3, localizado a 53,24 cM do início do cromossomo (*lod* 3.6), situado entre os marcadores N742 e N397, a uma distância de 22,93 cM do primeiro e 3,57 cM do segundo, com efeito aditivo negativo e dominância completa. O segundo QTL situado no cromossomo 5 a 5,50 cM do início do mesmo (*lod* 4.5), entre os marcadores N127 e N813, a 5,50 cM do primeiro e 37,33 cM do segundo, possuindo efeito aditivo positivo e dominância parcial. O terceiro QTL no cromossomo 8, a 41,88 cM do início do mesmo (*lod* 2.8), situado entre os marcadores N118 e N181, a 8,43 cM do primeiro e 2,25 cM do segundo, com efeito aditivo negativo e dominância completa. O mapeamento

realizado para reação de resistência à mancha branca em Campo Florido, identificou três QTLS (Figura 5B). O primeiro situado no cromossomo 1, localizado a 88,71 cM do início do mesmo (*lod* 5.5), o segundo situado também no cromossomo 1 a uma distância de 99,36 cM do início do grupo (*lod* 5.1) e o terceiro está situado no cromossomo 7, localizado a 46,64 cM do início do grupo (*lod* 3.1). O primeiro QTL situado entre os marcadores N247 e N38, a 22,07 cM do primeiro e 1,83 cM do segundo. O segundo QTL situado entre os marcadores N38 e N566, a 8,82 cM do primeiro e 1,95 cM do segundo. O terceiro, entre os marcadores N21 e N799, a 7,40 cM do primeiro e 40,53 cM do segundo. Todos os QTLS identificados possuem efeito aditivo negativo, sendo que os dois primeiros possuem dominância completa e o terceiro sobredominância.

Para a população 2 em Patos de Minas, (Figura 5C), foram identificados quatro QTLs. O primeiro situado no cromossomo 1, a 88,71 cM do início do mesmo (*lod* 3.0), situado entre os marcadores N247 e N38, a uma distância de 22,07 cM do primeiro e 1,83 cM do segundo. O segundo no cromossomo 2 a 2,20 cM do início do grupo (*lod* 2.7), situado entre os marcadores N410 e N305, a uma distância de 2,20 cM do primeiro e 8,91 cM do segundo. O terceiro no cromossomo 5, a 5,14 cM do início do grupo (*lod* 3.3), entre os marcadores N127

e N813, a 5,14 cM do primeiro e 37,69 cM do segundo. O quarto situado no cromossomo 7, a 31,93 cM do início do grupo (*lod* 4.2), entre os marcadores N107 e N21, a 21,65 cM do primeiro e 7,31 cM do segundo. O primeiro e o quarto QTLs identificados possuem efeito aditivo negativo, e o segundo e o terceiro possuem efeito aditivo positivo. Quanto ao efeito de dominância, no primeiro há ausência de dominância, no segundo e no quarto QTL dominância completa e no terceiro foi determinada a dominância parcial.

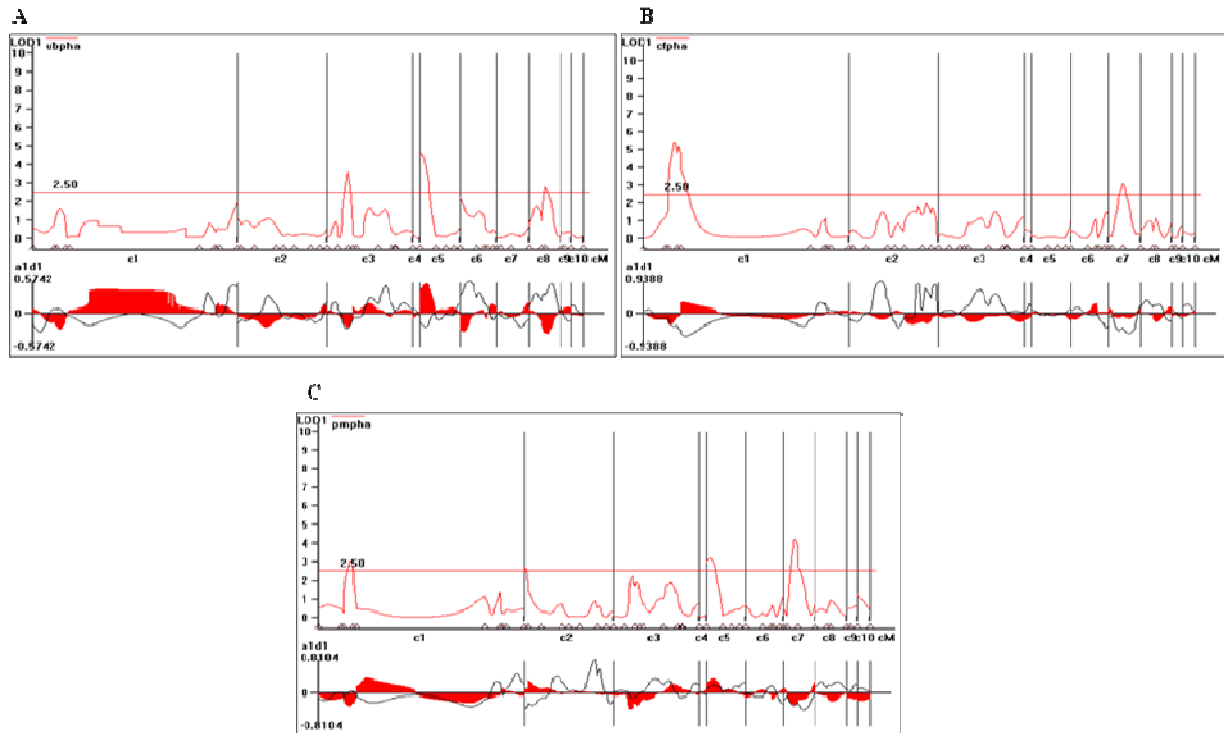


Figura 5. Mapeamento e efeitos aditivo (linha preenchida) e de dominância (linha preta) de QTLs para mancha branca do milho na população 2 nos municípios: **A.** Uberlândia; **B.** Campo Florido e **C.** Patos de Minas.

QTLs foram identificados nos cromossomos 1, 2, 3, 5, 7 e 8 (Figura 6). No cromossomo 1, foi identificado o mesmo QTL em Campo Florido e Patos de Minas localizado entre os marcadores N247 e N38 e no cromossomo 5, o mesmo QTL foi encontrado em Uberlândia e Patos de Minas, situado entre os marcadores N127 e N813. Nos outros cromossomos foram identificados QTLs apenas para um local.

Análise de regressão para mancha branca ou de feosféria (populações 1 e 2)

População 1

Para mancha de mancha branca do milho em Uberlândia (Tabela 4), o efeito do QTL associado ao marcador N968 foi o que explicou a

maior parte da variação fenotípica do caráter (9,89%), tendo esse efeito sido estimado em -0,283. Os quatro marcadores em conjunto conseguiram explicar 18,22 %.

O efeito do QTL associado ao marcador N74 foi o que melhor explicou a variação fenotípica do caráter (12,26 %) em Campo Florido, tendo esse efeito sido estimado em 0,456. Os três marcadores em conjunto conseguiram explicar 19,58 %.

Em Patos de Minas, o efeito do QTL associado ao marcador N968 foi o que explicou a maior parte da variação fenotípica do caráter (12,69%), tendo esse efeito sido estimado em -0,173. Os quatro marcadores em conjunto conseguiram explicar 29,82%.

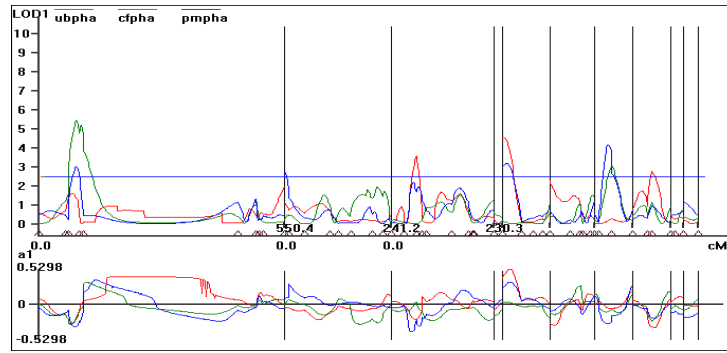


Figura 6. Mapeamento e efeito aditivo de QTLs para mancha branca do milho nos três locais (Uberlândia, Campo Florido e Patos de Minas) na população 2 F_{2:3} (Bs03-Suscetível x BS04-Resistente).

Tabela 4. Análises de regressão múltiplas, grupo de ligação ou cromossomo (Crom¹), QTL-efeito gênico², para representatividade dos QTLs de microsátélites visando resistência à mancha branca para duas populações de milho avaliadas nos municípios de Uberlândia, Campo Florido e Patos de Minas.

Marcadores	GL	Estimativas	Erro padrão	R2	Crom ¹	Efeito ²
Uberlândia – População 1 F _{2:3} (BS01 x BS02)						
N444	1	-0,0794	0,1314	0,0043	3	AP/DC
N892	1	0,0633	0,1185	0,0058	3	AP/DC
N110	1	-0,2960	0,1357	0,0732	5	AP/DC
N968	1	-0,2828	0,1291	0,0989	5	AP/DC
R ² = 0,1822 (Marcadores em conjunto)						
Campo Florido – População 1 F _{2:3} (BS01 x BS02)						
N444	1	-0,2221	0,1860	0,0504	3	AP/DC
N892	1	-0,1800	0,1670	0,0228	3	AP/DC
N74	1	0,4560	0,1775	0,1226	9	AN/DC
R ² = 0,1958 (Marcadores em conjunto)						
Patos de Minas – População 1 F _{2:3} (BS01 x BS02)						
N754	1	0,3145	0,1280	0,0509	4	AN/AD
N110	1	-0,2009	0,0872	0,0787	5	AP/DC
N968	1	-0,1732	0,0902	0,1269	6	AP/DP
N848	1	-0,1365	0,0884	0,0418	6	AP/DC
R ² = 0,2982(Marcadores em conjunto)						
Uberlândia – População 2 F _{2:3} (BS03 x BS04)						
N397	1	0,5176	0,1612	0,2515	3	AN/DC
N127	1	-0,1458	0,1356	0,0174	5	AP/DP
N181	1	0,1112	0,1332	0,0178	8	AN/DC
R ² = 0,2867(Marcadores em conjunto)						
Campo florido– População 2 F _{2:3} (BS03 x BS 04)						
N38	1	0,5022	0,1538	0,2463	1	AN/DC
N21	1	0,1886	0,1566	0,0359	7	AN/SD
R ² = 0,2822(Marcadores em conjunto)						
Patos de minas– População 2 F _{2:3} (BS 03 x BS 04)						
N410	1	0,2421	0,1272	0,1348	2	AP/DC
N127	1	0,2930	0,1655	0,0844	5	AP/DP
R ² = 0,2192(Marcadores em conjunto)						

² Efeito dos QTLs na expressão da resistência (AP=Aditivo Positivo, AN=Aditivo negativo, DC= Dominância completa, DP=Dominância parcial, AD=Ausência de dominância, SD=Sobredominância)

População 2

A análise de regressão para a reação de resistência à doença (Tabela 4) em Uberlândia, o efeito do QTL associado ao marcador N397 foi o que explicou a maior parte da variação fenotípica (25,15%) dessa característica nesse local, tendo esse efeito sido estimado em 0,139, sendo que os três marcadores em conjunto explicaram 28,67% dessa variação.

Em Campo Florido, o efeito do QTL associado ao marcador N38, foi o que mais explicou a variação fenotípica 24,63%, tendo esse efeito sido estimado em 0,502. Os dois marcadores em conjunto explicaram 28,22% dessa variação (Tabela 4).

Para Pato de Minas, o efeito do QTL associado ao marcador N305 foi o que explicou a maior parte da variação fenotípica (13,48%), sendo esse efeito sido estimado em 0,242. Os marcadores em conjunto explicaram 21,92% dessa variação fenotípica (Tabela 4).

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam que o QTL que explicou a maior parte da variação para a população 1 foi o marcador N397 no cromossomo 3, explicando 25,15 % da variação fenotípica. Para a população 2 o marcador N38 localizado no cromossomo 1, explicou 24,63 % da

variação fenotípica para expressão da resistência. Outros marcadores com menor expressão da variação fenotípica para a reação de resistência à mancha branca foram os marcadores N74 com 12,26 % (grupo de ligação 9) e N968 (grupo de ligação 6) com 12,68 % da variação fenotípica. Assim, através destes resultados foi possível observar que os marcadores mais expressivos para a resistência encontram-se nos cromossomos 1, 3, 6 e 9 para as duas populações, demonstrando que estas regiões genômicas devem ser exploradas por saturação como mais marcadores na busca dos alelos para resistência ao complexo da mancha branca do milho. Como os marcadores encontrados são de dominância completa para a expressão da resistência à mancha branca, os mesmos poderão ser usados para seleção assistida em programas de melhoramento para o complexo de patógenos.

Através da análise de segregação fenotípica foi possível observar que para a população 1 as proporções de famílias resistentes e suscetíveis apresentaram as segregações do tipo 9:7 e 13:3 (recessiva dupla e dominante-recessivo) (Tabela 5). Para a população 2 foram encontradas as epistasias 13:3 e 15:1 (recessivo dupla e dominante dupla), evidenciando a interferência ou ação da epistasia na expressão da resistência à mancha branca.

Tabela 5. Análise da segregação fenotípica na geração $F_{2:3}$ e testes de modelos pelo teste de Qui-quadrado em relação à mancha branca do milho.

População	Local	Modelos- Segregação Fenotípica				
		1:1	3:1	9:7	13:3	15:1
1	Uberlândia					
1	Campo Florido			0,006 ^{ns}		
1	Pato de Minas				1,28 ^{ns}	
2	Uberlândia					
2	Campo Florido					0,5 ^{ns}
2	Pato de Minas				0,5 ^{ns}	

Os valores de herdabilidade encontrados neste estudo foram importantes, uma vez que, de acordo com Silva (2001), o poder de detecção de QTLs é função direta da herdabilidade do caráter. Assim, a herdabilidade poderia ser aumentada utilizando um maior número de repetições nos experimentos para avaliação fenotípica do caráter estudado. Trabalhos estudando a mancha branca em milho evidenciam herdabilidades de 65 a 92,80 % e são considerados de alta magnitude (CARSON, 2001; SILVA, 2002; LOPES, 2003; CARSON et al., 2005; DERERA et al.; 2007; MOREIRA et al., 2009). Assim, este trabalho corrobora com os resultados obtidos tanto para germoplasma tropical

(LOPES, 2003; MOREIRA et al., 2009), como para temperados (CARSON, 2001; CARSON et al., 2005; DERERA et al.; 2007).

Nas análises de progênies x parentais as diferenças encontradas podem ter sido devido à diferença de pressão de inóculo entre os locais e/ou devido a diferenças ambientais (temperatura, pluviosidade e fotoperíodo). Valores semelhantes de coeficiente de variação aos obtidos neste trabalho também foram relatados (DUARTE et al., 1999; BRASIL; CARVALHO, 1998).

Juliatti et al. (2009) em estudos com a população 2 $F_{2:3}$ (BS03 x BS04) de milho utilizada no presente trabalho, encontraram sete marcadores

associados à resistência à mancha de cercosporiose em três ambientes (Uberlândia, Patos de Minas e Ipiacu, MG). Os marcadores N310 e N369 representaram juntos 72 % da variação fenotípica para Ipiacu.

Alguns mapas genéticos têm sido propostos em relação à resistência à mancha branca foliar do milho (LOPES, 2003; MOREIRA, 2004; Moreira et al., 2009), entretanto, existem poucos estudos com milho tropical. Trabalhos com milho tropical evidenciam a presença de marcadores inseridos na região genômica dos cromossomos 1 e 4 (LOPES, 2003; MOREIRA, 2004), o que vem ao encontro com os resultados obtidos neste estudo. Embora os estudos anteriores tenham sido realizados em apenas um ambiente, o que limita a aplicação dos mesmos.

MOREIRA (2004) utilizou 256 progênies $F_{2,3}$, avaliadas em sete experimentos no município de Piracicaba, SP, enquanto no presente trabalho foram utilizadas 90 e 98 famílias respectivamente, para cada cruzamento. Apesar do menor número de famílias, a concretização do deste trabalho não foi prejudicada devido à realização dos experimentos em três ambientes e locais muito divergentes (Uberlândia, Campo Florido e Patos de Minas, MG). A maior expressão para a resistência foi encontrada junto aos QTLs localizados nos cromossomos 1, 3, 6 e 9. MOREIRA (2004) identificou seis QTLs em cinco cromossomos, os quais explicaram em conjunto 41,62 % da variância fenotípica. No presente trabalho os QTLs mais expressivos encontrados representaram 34 % e 58 % da variação fenotípica encontrada para as populações 1 e 2, respectivamente.

Neste trabalho, usando a segregação fenotípica $F_{2,3}$ (tabela 5) ficou evidenciando a interferência ou ação da epistasia na expressão da resistência à mancha branca. Lopes (2003) e Moreira (2004) encontraram maiores efeitos para aditividade em relação à dominância. Ramalho et al. (1990) indica que a epistasia interfere na expressão da resistência. Portanto, pode ser inferido que devido a este tipo de expressão fenotípica associado ou não à arquitetura da planta (WISSER et al., 2006), seja fundamental o estabelecimento de mapas genéticos e seus marcadores SSR associados para redução do número de famílias e progênies a serem avaliadas na geração $F_{2,3}$ para que o progresso genético seja alcançado (STUBER et al., 1992; TANKSLEY, 1993; TANKSLEY et al., 1989). Pegoraro et al. (2002) também encontraram efeito da epistasia e de dominância parcial, ao contrário de Carson (2001), que não evidenciou a epistasia na análise média das gerações. Entretanto, Carson (1996), identificou a existência de dominância

parcial em regiões cromossômicas associadas à resistência à mancha branca em linhagens de milho, o que foi demonstrado no presente trabalho.

Outros trabalhos têm evidenciado os efeitos genéticos como importantes na determinação da reação de resistência à mancha branca do milho (PATERNIANI et al., 2000; PEGORARO et al., 2002; SILVA, 2002; LOPES, 2003; CARSON, 2001; SILVA et al., 2004). Estudos de herança da resistência à mancha branca envolvendo variedades de milho sob condições de infestação natural demonstraram que os efeitos de dominância foram mais importantes no controle genético do caráter em cruzamentos dialélicos (DAS et al. 1989a; DAS et al. 1989b). Por outro lado, estudos indicam que os efeitos de aditividade foram mais importantes do que os de dominância em cruzamento entre linhagens de milho (LIMA et al., 1998; PATERNIANI et al., 1998). Esse fato é de extrema importância no melhoramento genético de plantas já que apenas os efeitos aditivos são transmitidos por descendência na ausência do agente de seleção. Assim, os resultados reportados na literatura, oriundos de cruzamentos dialélicos e de médias de gerações, mostraram, em sua maioria, que os efeitos aditivos são mais importantes que os efeitos não aditivos e que o caráter apresenta herdabilidade alta, o que esta de acordo com os resultados obtidos. Para mancha branca ou de feoféria em milho Santos et al. 2002 apontaram que o progresso desta doença esta correlacionado negativamente com a produtividade em milho e que existe variabilidade genética para a seleção em híbridos comerciais visando obtenção de linhagens com resistência parcial ao complexo, bem como fontes de resistência para o controle genético da mesma.

CONCLUSÕES

Foram encontrados QTLs nos cromossomos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 para resistência à mancha branca do milho, para ambas as populações estudadas. Para a população 1 foram encontrados os QTLs N968 e N74 (grupo de ligação 6 e 9).

O marcador N968 explicou parte da variação para resistência ao complexo da mancha branca, com 9,69 e 12,69 % da variação para Uberlândia e Patos de Minas. N74 (cromossomo 9) representou 12,26 % da variação para a região de Campo Florido.

A região genômica para busca de alelos para resistência à mancha branca com o uso de microsátélites encontra-se nos cromossomo 6 e 9, que explicou 35 % da variação fenotípica para a população 1.

Para a população 2 os QTLs N397 e N38, explicaram juntos 25 % da variação para Uberlândia e Campo Florido podendo ser utilizados como marcadores confiáveis para resistência à mancha branca. Também foi encontrado na população 2 o QTL N397 (grupo de ligação 3), representando 25,15 e 8,44 % da variação, para Uberlândia e Patos de Minas, respectivamente. Para Campo Florido o marcador de microssatélite de maior expressão,

também no cromossomo 1 foi N38 (grupo de ligação 1) com 24,63 % da variação.

As altas herdabilidades encontradas para ambas as populações indicam a predominância dos efeitos aditivos positivos e marcadores de dominância completa evidenciando a possibilidade de seleção de indivíduos resistentes nas gerações iniciais.

ABSTRACT: Maize is one of the most important cereal crops in the world; however, diseases, among other factors, may drastically reduce its grain yield. The white spot disease, caused by a complex of pathogens, is one of the most important syndromes affecting maize, causing losses of up to 60%. Thus, this study aimed to estimate heritability, to identify and to map QTLs associated with resistance to white spot in maize. Ninety-eight $F_{2:3}$ families from a cross between lines BS01 (susceptible) and BS02 (resistant) and ninety $F_{2:3}$ families from a cross between BS03 (susceptible) and BS04 (resistant) were evaluated in a lattice square (10x10) experimental design in three environments. Heritability estimations ranged from 82.3% to 86.2% in population 1, and from 76% to 86.6% in population 2. A joint analysis of both populations showed significant effects among parents and progenies, so it did for the interactions of locations and progenies. It means that a specific family may not show the same performance for resistance to white spot across different environments. QTLs for resistance to white spot were found in the linkage groups 1, 3, 6 and 9 in both populations. These QTLs explained up to 25% of the total phenotypic variation for the studied trait. Combined, these data confirm the possibility of marker assisted selection for resistance to maize white spot in early generations.

KEYWORDS: Marker assisted selection. QTL mapping. *Pantoea ananatis*. *Phaeosphaeria* leaf spot. *Zea mays* L.

REFERÊNCIAS

AGROCERES. **Guia Agroceres de Sanidade**. Agroceres, 56 p., 1994.

BRANZATO, D. A.; KORNKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 3. Ed. Jaboticabal, Funep, 1995.

BRASIL, E. M.; CARVALHO, Y. Comportamento de híbridos de milho em relação a *Phaeosphaeria maydis* em diferentes épocas de plantio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 12, p. 1977-1981, 1998.

CARSON, M. L.; GOODMAN, M. M.; GLAWE, D. A. *Phaeosphaeria* leaf spot of maize in Florida. **Plant Disease**, Saint Paul, v.75, p. 968, 1991.

CARSON, M. L.; STUBER, C. W.; SENIOR, M. L. Identification of quantitative trait loci (QTLs) for resistance to two foliar diseases in a mapping population of recombinant inbred (RI) lines of maize. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 86, p. S59, 1996.

CARSON, M. L. Yield lodd potential of *phaeosphaeria* leaf spot of maize caused by *Phaeosphaeria maydis* in the United State. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 986-988, 2005.

CARSON, M. L. Inheritance of resistance to *phaeosphaeria* leaf spot of maize. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, p. 798-800, 2001.

DAS, S. N.; PRODHAN, H. S.; KAISER, S. Further studies on the inheritance of resistance to *phaeosphaeria* leaf spot of maize. **Indian Journal of Mycological Research**, New Dheli, v. 27, n. 2, p. 127-130, 1989a.

DAS, S. N.; SINHAMAHAPAYTRA, S. P.; BASAK, S. L. Inheritance of resistance to *phaeosphaeria* leaf spot of maize. **Annual Agricultural Research**, Nadia, v. 10, n. 2, p. 182-184, 1989b.

- DEREARA, J. TONGOONA, P.; VIVEK, B. S.; VAN RIJ, N.; LAING, M. D. Gene action determining phaeosphaeria leaf spot disease in experimental maize hybrids. **South African Journal of Plant and Soil**, South Africa, v. 24, p. 138-143, 2007.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. J. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus (Life Technology, Inc.)**, v.12, p. 13-15, 1990.
- DUARTE, J. M.; SOUZA, J. C.; CORTE, H. R. **Reação de cultivares de milho a *Phaeosphaeria maydis***. In: Reunión Latinoamericana del Maize, 18., p. 405-411, 1999.
- FEHR, W. R. **Principles of cultivar development**. New York: McMillan, 536p, 1987.
- FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E.; LIMA, L. M. A.; PINTO, N. F. J. A. Influência de fatores climáticos na ocorrência de *Phyllosticta* sp. em milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, 1995.
- FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E. **Principais doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas; Embrapa-CNPMS, 80p. Circular Técnica, 26, 1997.
- FERREIRA, M. E.; GRATAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2ª ed. Brasília-DF, Embrapa-Cenargen, p. 13-67, 1998.
- HALDANE, J. B. S. The combination of linkage values, and the calculation of distance between the loci linked factors. **Journal of Genetics**, Bangalore, v. 8, p. 299-309, 1919.
- JULIATTI, F. C.; PEDROSA, M. G.; SILVA, H. D.; SILVA, J. V. C. Genetic mapping for resistance to gray leaf spot in maize. **Euphytica**, Springer, v. 169, n. 2, 227-238, 2009.
- LANDER, E. S.; BOTSTEIN, E. S. Mapping mendelian factors underlying quantitative trait using RFLP linkage maps. **Genetics**, Bethesda, v. 121, p. 185-199, 1989.
- LANDER, E. S.; GREEN, P.; ABRAHANSON, J.; BARLOW, A.; DALEY, M.; LINCOLN, S.; NEWBURG, L. Mapmaker: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. **Genomics**, San Diego, v. 1, p. 174-181, 1987.
- LIMA, M.; DUDIENAS, C.; PATERNIANI, E. M. Cruzamentos dialélicos parciais entre linhagens de milho com ênfase na produtividade e doenças foliares. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo. **Resumos**. Recife, n. 22, 1998.
- LOPES, M. T. G. Mapeamento de genes de resistência à mancha de *Phaeosphaeria* em milho. 2003. 117 f. Tese (Doutorado) – Curso de Pós- Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.
- MOREIRA, J. U. V. Mapeamento de QTLs para reação à doença mancha de *Phaeosphaeria* em milho. 2004. 86 f. Tese (Doutorado) – Curso de Pós- Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- MOREIRA, J. U. V.; BENTO, D. A. V.; SOUZA, C. L. J. QTL mapping for reaction to *Phaeosphaeria* leaf spot in a tropical maize population. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 119, p. 1361-1369, 2009.
- MUNKVOLD, G. P.; MARTINSON, C. A.; SHRIVER, J. M.; DIXON, P. M. Probabilities for profitable fungicide use against gray leaf spot in hybrid maize. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 91, n. 5, p. 477-484, 2001.
- PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; FERREIRA, A. S.; MEIRELLES, W. F.; MARRIEL, I. E.; CASELA, C. R. Detection of a bacterium associated with a leaf spot disease of maize in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 149, n. 5, p. 275-279, 2001.

- PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; MEIRELLES, W. F.; PARENTONI, S. N.; MARRIEL, I. E.; FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. Reaction of maize inbred lines to the bacterium *Pantoea ananas* isolated from *Phaeosphaeria* leaf spot lesions. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 2, n. 4, p. 587-590, 2002.
- PATAKY, J. K.; EASTBURN, D. M. Comparing partial resistance to *Puccinia sorghi* and applications of fungicides for controlling common rust on sweet corn. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 83, n. 10, p. 1046-1051, 1993.
- PATERNIANI, E. M.; SAWAZAKI, E.; DUDIENAS, C. Cruzamentos dialélicos entre linhagens de milho com diferentes níveis de resistência a moléstia foliares. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo. **Resumos**. Recife, 1998. n. 22.
- PATERNIANI, E. M.; SAWAZAKI, E.; DUDIENAS, C. DUARTE, A. P.; GALLO, P. B. Diallel crosses among maize lines with emphasis on resistance to foliar disease. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, p. 381-385, 2000.
- PEGORADO, D. C.; BARBOSA NETO, J. F.; SOGLIO, F. K. D.; VACARO, E.; NUSS, C. N.; CONCEIÇÃO, L. H. D.; Inheritance of the resistance of phaeosphaeria leaf spot in maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 329- 336, 2002.
- PRIESTLEY, R. H.; BAYLES, R. A. The contribution and value of resistant cultivars to disease control in cereals. In: CLIFFORD, B. C.; LESTER, E. (Eds.) **Control of plant diseases: costs and benefits**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1988. p. 53-65.
- RAMALHO, M. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. B. **Genética na Agropecuária**. Fundação de Apoio ao Ensino e Extensão, Lavras, ESAL, 359p., 1990.
- RANE, M. S.; PAYAK, M. M.; RENFRO, B. L. A *Phaeosphaeria* leaf spot of maize. **Indian Phytopathology Society Bulletin**, New Delhi, v.3, 1966, p. 8-10.
- SANTOS, P. G.; JULIATTI, F. C.; BUIATTI, A. L.; HAMA AWKI, O. T. Avaliação do desempenho agrônomo de híbridos em Uberlândia, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n.5, p. 597-602, 2002.
- SHURTLEFF, M. C. *Phaeosphaeria* leaf spot. In: Shurtleff, M.C. (ed.) **Compendium of Corn Diseases**. 2.ed. Saint Paul: American Phytopathological Society, p. 23-24, 1984.
- SILVA, H. D. Análise de experimentos em látice quadrado (“Square Lattice”) com ênfase em componentes de variância e aplicações no melhoramento genético vegetal. 1997. 139 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.
- SILVA, H. D.; FERREIRA, D. F.; PACHECO, C. A. Avaliação de quatro alternativas de análise de experimentos em látice quadrado, quanto à estimação de componentes de variância. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 117-123, 2000.
- SILVA, C. C. N.; JULIATTI, F. C.; BRITO, C. H.; GOMES, L. S.; BRANDÃO, A. M. Avaliação de fungicidas e épocas de aplicação em diferentes cultivares híbridas de milho (*Zea mays* L.) no controle de *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília v. 26, p. 402, 2001.
- SILVA, H. P. Genética da resistência à *Phaeosphaeria maydis* em milho. Jaboticabal, 2002. 105 p, Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”

- SILVA, H. P.; MORO, J. P. Diallel analysis of maize resistance to *Phaeosphaeria maydis*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 1, p. 32-42, 2004.
- STUBER, C. W.; LINCOLLN, E. E.; WOLFF, D. W.; HELENTAJARIS, T.; LANDER, E. S. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid form two elite maize inbred lines using molecular markers. **Genetics**, Bethesda, n. 132, p. 823-839, 1992.
- TANKSLEY, S. D.; YONG, N. D.; PATERSON, A. H.; BONIERBALE, M. W. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. **Biotechnology**, Ithaca, v. 7, p. 257-64, 1989.
- TANKSLEY, S. D. Mapping polygenes. **Annual Reviews of Genetic**, Palo Alto, v. 27, p. 205-233, 1993.
- VAN DER PLANK, J. E. **Disease Resistance in Plants**. New York : Academic Press, 206p, 1968.
- VIANA, J. M. S. Análise de experimentos em látice quadrado (“Square lattice”) com ênfase em comportamento de variância e aplicações no melhoramento genético vegetal. 1993. 89 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- VIDIGAL, M. C. G.; POLETINI, J. P. Resistência às doenças. In: Destro, D., Montalván, R. **Melhoramento Genético de Plantas**. Londrina. UEL, 749p, 1999.
- WISSE, R. J.; BALINT-KURTI, P. J.; NELSON, R. J. The genetic architecture of disease resistance in maize: a synthesis of published studies. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, p. 120-129, 2006.
- ZENG, Z. Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping quantitative trait loci. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Stanford, v. 90, p. 10972 – 10976, 1993.
- ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Bethesda, v. 136, p. 1457 – 1466, 1994.