

Pré-melhoramento de milho quanto à resistência a enfezamentos

Flavia França Teixeira⁽¹⁾, Flaviane Malaquias Costa⁽²⁾, Elizabeth de Oliveira Sábato⁽¹⁾, Carlos Eduardo Prado Leite⁽¹⁾, Walter Fernandes Meirelles⁽¹⁾, Claudia Teixeira Guimarães⁽¹⁾ e Silvia Neto Jardim Belicuas⁽¹⁾

⁽¹⁾Embrapa Milho e Sorgo, Rodovia MG 424, Km 45, Caixa Postal 285, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG. E-mail: flavia.teixeira@embrapa.br, elizabeth.o.sabato@embrapa.br, carlos.prado@embrapa.br, walter.meirelles@embrapa.br, claudia.guimaraes@embrapa.br, jardimbelicuas@gmail.com ⁽²⁾Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima, Trindade, CEP 88040-970 Florianópolis, SC. E-mail: flavianemcosta@hotmail.com

Resumo – O objetivo deste trabalho foi selecionar famílias de milho derivadas do retrocruzamento entre o composto "NAP Corn Stunt" (genitor doador) e linhagens-elite (genitores recorrentes), quanto à produtividade de grãos e à resistência a enfezamentos, e avaliar a eficiência do emprego de marcadores moleculares para avaliação fenotípica na seleção de genótipos com alta produtividade de grãos. Foram avaliados 100 genótipos, em cinco condições ambientais, na safra agrícola 2009/2010. Foram selecionadas famílias RC₁F₂, que aliam a alta produtividade dos genitores recorrentes à resistência aos enfezamentos, presente no genitor doador. As famílias selecionadas quanto ao desempenho agrônômico e à resistência aos enfezamentos foram: L228-3-324-S, L228-3-237-R, L228-3-109-R, que foram indicadas para cruzamentos com linhagens do grupo heterótico duro; e L3-422-R e L3-586-R, que foram indicadas para cruzamentos com linhagens do grupo heterótico dentado. Na seleção de genótipos de alta produtividade de grãos, a seleção assistida por marcadores moleculares não é eficiente para a recuperação do genótipo do pai recorrente, em comparação à avaliação fenotípica.

Termos para indexação: *Zea mays*, marcadores moleculares, mollicutes, recursos genéticos, seleção assistida, seleção fenotípica.

Maize pre-breeding for resistance to corn stunt

Abstract – The objective of this work was to select maize families derived from backcrossing between the composite NAP Corn Stunt (donor parent) and inbreed lines (recurrent parents), as to grain yield and resistance to corn stunt, and to evaluate the efficiency of the use of molecular markers in the phenotypic evaluation for the selection of genotypes with high grain yield. One hundred genotypes were evaluated in five environmental conditions in the 2009/2010 crop season. We selected RC₁F₂ families, which combine high grain yield present in the recurrent parents to resistance to corn stunt present in the donor parent. The selected maize families for agronomic performance and resistance to corn stunt were: L228-3-324-S, L228-3-237-R, L228-3-109-R, which were indicated for crosses with lines of the flint heterotic group; and L3-422-R and L3-586-R, which were indicated for crosses with lines of the dent heterotic group. For selecting genotypes with high grain yield, the molecular marker-assisted selection is not efficient for the recovery of the recurrent parent genotype, when compared to the phenotypic evaluation.

Index terms: *Zea mays*, molecular markers, mollicutes, genetic resources, marker-assisted selection, phenotypic selection.

Introdução

O Banco de Germoplasma de Milho (BAGMilho), mantido na Embrapa Milho e Sorgo, é uma fonte de variabilidade genética para suprir os programas de melhoramento, pois preserva cerca de 4.000 acessos, em sua maioria variedades coletadas no Brasil. No entanto, o uso direto do BAGMilho é pouco atrativo quando comparado à coleção elite do melhoramento. Embora o BAGMilho tenha variabilidade com potencial de uso no melhoramento dessa espécie, seus acessos apresentam desempenho agrônômico inferior

ao da coleção elite. O pré-melhoramento pode ampliar as possibilidades de uso do BAGMilho, especialmente por meio da agregação de valor a essa coleção, quanto à reação dos genótipos a estresses bióticos (Miranda Filho et al., 2000) e abióticos (Teixeira et al., 2010).

Relatos de prejuízos na cultura do milho causados por enfezamentos tornaram-se mais frequentes a partir dos anos 1990, principalmente nas áreas onde se cultivava o milho safrinha (Oliveira et al., 2007). No Brasil, em 2011, a área cultivada com o milho safrinha foi de cerca de 5,69 milhões de hectares, o que correspondeu a 42,91% da área total cultivada com milho, e a

produção foi de 21,91 milhões de toneladas, o que correspondeu a 39,10% do total da produção nacional de grãos de milho (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011).

Os enfezamentos são causados por espiroplasma ou fitoplasma, ambos mollicutes transmitidos pela cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*). Entre os sintomas do espiroplasma, estão estrias esbranquiçadas irregulares nas folhas. Já o fitoplasma causa um avermelhamento generalizado da planta (Oliveira et al., 2008). Os crescentes prejuízos causados por essas enfermidades devem-se à sucessão de cultivos de milho, que proporciona maior permanência das plantas no campo e possibilita a alimentação e reprodução da cigarrinha-do-milho (Oliveira et al., 2002). As mudanças climáticas também podem levar ao agravamento dos prejuízos causados pelos enfezamentos, pois são esperados aumentos nos sintomas dos enfezamentos em regiões de temperatura média elevada, a exemplo da região Centro-Oeste brasileira (Oliveira et al., 2007).

Alguns estudos foram desenvolvidos para esclarecer a herança da resistência aos enfezamentos e identificar as fontes de resistência. A avaliação de híbridos mostrou efeitos aditivos e de dominância no controle genético da resistência a essas doenças (Silveira et al., 2008). A reação aos enfezamentos de cerca de 1.200 acessos do BAGMilho foi avaliada para se conhecer o desempenho de acessos do BAGMilho (Miranda Filho et al., 2000). Os acessos mais resistentes ao enfezamento foram recombinados para a formação do composto "NAP Corn Stunt". Esse composto é mantido no BAGMilho e trata-se de um acesso com atributos especiais, uma vez que é uma variedade considerada fonte de tolerância, formada pela recombinação de acessos de procedências distintas. Isso faz com que o composto "NAP Corn Stunt" mantenha grande variabilidade, tanto para a resistência ao enfezamento, quanto para outros caracteres. Apesar de o composto "NAP Corn Stunt" ser uma fonte de resistência aos enfezamentos, ele ainda não tem sido utilizado, possivelmente porque os programas de melhoramento e o mercado de sementes estejam voltados para o uso de híbridos entre linhagens de grupos heteróticos divergentes (Parentoni et al., 2001). Assim, linhagens derivadas do composto "NAP Corn Stunt", que apresentam alta capacidade combinatória com linhagens-elite dos grupos heteróticos usados no melhoramento e alta

resistência aos enfezamentos, têm maior potencial do que o composto "NAP Corn Stunt" per se.

Indivíduos da primeira geração de retrocruzamento, no melhoramento do milho, têm, em média, 75% dos alelos provenientes do genitor recorrente; porém, esse percentual é variável entre indivíduos. A seleção assistida por marcadores moleculares (SAMM) pode ser empregada para a identificação de indivíduos com maior percentual de alelos do genitor recorrente, nos retrocruzamentos, e para reduzir o número de gerações, com o intuito de obter genótipos que aliem as vantagens de ambos os genitores (Ramalho & Lambert, 2004).

São raros os estudos sobre a eficiência da SAMM na recuperação do genótipo de linhagens favoráveis, em programa de melhoramento de milho que visem ao desenvolvimento de híbridos. Mesquita et al. (2005) não detectaram associação entre a seleção fenotípica e a assistida por marcadores na recuperação do genótipo do genitor recorrente, possivelmente em razão da influência significativa dos ambientes de avaliação.

O objetivo deste trabalho foi selecionar famílias de milho derivadas do retrocruzamento entre o composto "NAP Corn Stunt" (genitor doador) e linhagens-elite (genitores recorrentes), quanto à produtividade de grãos e à resistência aos enfezamentos, e avaliar a eficiência do emprego de marcadores moleculares para a avaliação fenotípica, na seleção de genótipos com alta produtividade de grãos.

Material e Métodos

O composto "NAP Corn Stunt" (pai doador), previamente classificado como fonte de resistência aos enfezamentos (Miranda Filho et al., 2000), foi cruzado com duas linhagens-elite (pais recorrentes) do programa de melhoramento de milho da Embrapa Milho e Sorgo, denominadas L3 e L228-3, classificadas nos grupos heteróticos duro e dentado, respectivamente. Os dados dos acessos estão disponíveis no banco de germoplasma de milho do Tratado Internacional sobre Recursos Fitogenéticos para a Alimentação e Agricultura - TIRFAA (Embrapa Cenargen, 2012). Quanto à reação aos enfezamentos, a L3 é considerada suscetível e a L228-3 é considerada moderadamente resistente ao espiroplasma e resistente ao fitoplasma. Para cada cruzamento, foi obtida uma população, que foi retrocruzada com os pais recorrentes. Trezentas plantas de cada população RC_1F_1 foram levadas a

campo para classificação preliminar de resistência aos enfezamentos, coleta de folha para extração de DNA e autofecundação para obtenção de famílias RC₁F₂. As 300 plantas de ambos os lotes foram numeradas e etiquetadas. A presença dos sintomas dos enfezamentos (Oliveira et al., 2008) foi avaliada em cada planta, 90 dias após a semeadura. Nessa classificação preliminar, as plantas foram avaliadas individualmente quanto à presença ou não dos sintomas do enfezamento, e classificadas como resistente ou suscetível.

Em seguida, as 300 plantas da geração RC₁F₁ de cada cruzamento foram autofecundadas, as folhas foram retiradas para extração de DNA e suas sementes foram colhidas separadamente, planta a planta, para obtenção das famílias RC₁F₂. Essas famílias foram codificadas pelo nome do pai recorrente, seguido da numeração das plantas no campo e da classificação preliminar quanto à reação aos patógenos. De acordo com essa classificação e com a quantidade de sementes obtidas, foram selecionadas as famílias para as demais etapas da pesquisa, o que totalizou 92 famílias RC₁F₂. Destas, 46 foram derivadas dos retrocruzamentos com cada pai recorrente, das quais dez foram tomadas dentre as famílias derivadas das plantas RC₁F₁, classificadas como suscetíveis, e 36 dentre as classificadas como resistentes, segundo a classificação preliminar de resistência aos enfezamentos.

Tabela 1. Iniciadores testados e polimórficos, para os genótipos de milho "NAP Corn Stunt" e as linhagens L228-3 e L3.

Primer	Bin	Primer	Bin	Primer	Bin
umc1071 ⁽¹⁾	1,01	bnlg105 ⁽¹⁾	5,02	bnlg155	7,03
umc1222	1,02	phi113	5,03	umc1015	7,03
bnlg182 ⁽²⁾	1,03	bnlg1208	5,04	umc1786 ⁽¹⁾	8,01
bnlg1811 ⁽²⁾	1,04	bnlg1325	5,04	bnlg1863 ⁽²⁾	8,03
umc1035	1,06	umc1221 ⁽¹⁾	5,04	umc1033 ⁽¹⁾	9,02
bnlg125	2,02	umc1537 ⁽¹⁾	5,07	phi061	9,03
phi109642	2,03	bnlg161 ⁽²⁾	6,00	phi041	10,00
bnlg381 ⁽²⁾	2,04	bnlg1371 ⁽¹⁾	6,01	umc2018 ⁽¹⁾	10,01
bnlg166 ⁽¹⁾	2,04	umc1887	6,03	phi054	10,02
umc1875 ⁽¹⁾	2,06	mmc0241 ⁽³⁾	6,05	phi084	10,04
bnlg1006	2,07	bnlg249 ⁽³⁾	6,06	bnlg594	10,06
umc1970	3,01	umc1653 ⁽¹⁾	6,07	bnlg153	10,06
bnlg2241 ⁽¹⁾	3,06	phi089 ⁽²⁾	6,08	umc1084 ⁽¹⁾	10,07
mmc0321	4,08	umc1066 ⁽¹⁾	7,01	-	-
umc1781	5,01	umc1016 ⁽³⁾	7,02	-	-

⁽¹⁾Iniciadores polimórficos entre genitores de ambos os cruzamentos. ⁽²⁾Iniciadores polimórficos entre o composto "NAP Corn Stunt" e a linhagem L228-3. ⁽³⁾Iniciadores polimórficos entre o composto "NAP Corn Stunt" e a linhagem L3. Bin, número do cromossomo e sua posição no genoma do milho.

Agenotipagem das famílias selecionadas foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Milho e Sorgo. Foram usados 43 iniciadores "simple sequence repeat" (SSR) para avaliar o polimorfismo entre os genitores (Tabela 1). Em cada amplificação, foram usados 25 ng de DNA, 0,6 mmol L⁻¹ de cada iniciador, 100 mmol L⁻¹ de cada dNTP, 10 mmol L⁻¹ de Tris HCl (pH 8,6), 50 mmol L⁻¹ de KCl, 2 mmol L⁻¹ de MgCl₂ e 1 U de Tag DNA polimerase. As amplificações foram realizadas com um ciclo inicial de desnaturação de 95°C, por 2 min; nove ciclos de 94°C por 20 s, 68°C (com redução de 1°C por ciclo) por 20 s e 72°C por 20 s; seguido por 25 ciclos de 94°C por 20 s, 6°C por 20 s e 72°C por 20 s, e por uma extensão final de 72°C por 5 min. As famílias RC₁F₂ foram genotipadas com os marcadores SSR polimórficos, e os fragmentos amplificados foram avaliados em géis de poliacrilamida (Ninamango-Cárdenas et al., 2003). O percentual de alelos do pai recorrente de cada planta foi obtido pela divisão do número de bandas do pai recorrente pelo número total de bandas, multiplicado por 100.

Para a avaliação fenotípica, as 92 famílias RC₁F₂ foram cruzadas com linhagens testadoras, que foram os pais recorrentes invertidos, ou seja, a linhagem L3 foi testadora das famílias em que o pai recorrente foi a linhagem L228-3 e vice-versa. Os 92 híbridos obtidos com esses cruzamentos e as quatro testemunhas (o composto "NAP Corn Stunt", a variedade de milho-pipoca BRS Angela e os híbridos BRS 1010 e BRS 1030) foram avaliados em ensaios com três repetições. As parcelas experimentais foram compostas de uma linha de 5 m, com densidade de semeadura de cinco plantas por metro e espaçamento entre linhas de 0,80 m. Os ensaios foram conduzidos nas seguintes condições ambientais: Sete Lagoas, MG (19°27'S e 44°14'W, a 761 m de altitude), safra 2009/2010 (amb1); Nova Porteirinha, MG (15°48'S e 43°18'W, a 533 m de altitude), safra 2009/2010 (amb2); Sete Lagoas, safrinha 2010 (amb3); Nova Porteirinha safrinha, 2010 (amb4); e Londrina, PR (23°18'S e 51°09'W, a 585 m de altitude), safrinha 2010 (amb5). Sete Lagoas está localizada na zona de transição entre cerrado e mares de morros; Nova Porteirinha, na zona de transição entre caatinga e cerrado; e Londrina, no domínio morfoclimático das araucárias (Ab'Sáber, 2003).

Os ensaios foram implantados no final dos períodos indicados para o cultivo do milho, com o intuito

de promover a incidência natural dos patógenos, proveniente de cultivos anteriores. Dessa forma, os ensaios implantados na safra foram semeados em dezembro de 2009 e, na safrinha, em março de 2010; as colheitas foram realizadas em maio de 2010 e agosto de 2010, respectivamente. Os ensaios foram irrigados, e os tratamentos culturais seguiram as recomendações para a cultura do milho, em cada local; porém, não foi feita a aplicação de defensivos químicos para o controle de insetos, para não eliminar o vetor dos patógenos.

A incidência da doença foi avaliada por meio do índice de plantas com sintomas do enfezamento (D), calculado pela divisão do número de plantas com os sintomas de enfezamento pelo número de plantas da parcela e pela produtividade de grãos (Mg ha^{-1}), com umidade dos grãos corrigida para 13%. Foram realizadas as análises de variância individuais e conjuntas, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, com o auxílio do programa Genes (Cruz, 2006). Os tratamentos foram agrupados de duas formas. Na primeira, o agrupamento dos híbridos foi feito de acordo com o percentual de alelos dos pais recorrentes, tendo-se classificado, como “selecionados”, os híbridos derivados de plantas com percentual de alelos igual ou acima do esperado para a primeira geração de retrocruzamento e, como “não selecionados”, os demais. Na segunda forma de agrupamento de híbridos, foi considerada a classificação de plantas como resistente e suscetível, na avaliação preliminar da tolerância aos enfezamentos. Foram calculadas as médias fenotípicas dos híbridos de cada agrupamento, para se comparar diferenciais de seleção. Estimaram-se as correlações fenotípica e genética entre os caracteres PG e D, a 5% de probabilidade (Steel & Torrie, 1980).

Resultados e Discussão

Os 43 iniciadores testados cobriram todos os cromossomos do genoma do milho, tendo-se observado de 1 a 7 iniciadores por cromossomo. A presença de polimorfismo foi detectada em 23 iniciadores (Tabela 1). No cromossomo 6, foi encontrado maior número de iniciadores polimórficos, o que totalizou seis locos segregantes. Em contrapartida, no cromossomo 4, não foram encontrados iniciadores polimórficos para as populações testadas. O teste de qui-quadrado, usado para verificar o ajuste dos resultados da genotipagem aos esperados para a RC_1F_2 ,

mostrou que os iniciadores umc1071, umc1066, umc1537, umc1084, bnlgl182, bnlgl105 e bnlgl1371 não apresentaram segregação mendeliana. Com base nesses resultados, foram empregados, para as demais etapas da análise, 11 marcadores SSR segregantes para as famílias derivadas do cruzamento entre "NAP Corn Stunt" e L3, e 13 marcadores para aquelas derivadas do cruzamento entre "NAP Corn Stunt" e L228-3.

As estimativas dos percentuais dos alelos dos pais recorrentes mostraram que 47,83% das plantas provenientes do retrocruzamento com L228-3 apresentaram percentual igual ou superior à média esperada para a geração de RC_1F_2 (75% de alelos do pai recorrente). Entre as famílias provenientes do RC_1F_2 , com L3 como pai recorrente, apenas 21,74% apresentaram percentual de alelos igual ou acima de 75%. Espera-se que as famílias derivadas das plantas com maiores percentuais de alelos dos pais recorrentes apresentem desempenho agrônômico superior, uma vez que o objetivo do retrocruzamento é transferir poucos alelos do genitor doador e preservar o genoma do genitor recorrente de alto desempenho (Ramalho & Lambert, 2004). No presente trabalho, em que os genitores apresentam graus de melhoramento muito distintos, é esperado que maiores percentuais do genoma dos genitores recorrentes sejam associados ao melhor desempenho agrônômico.

O percentual médio de alelos dos genitores recorrentes nas plantas genotipadas foi de 72,24 e 63,26%, nos cruzamentos que envolveram L228-3 e L3, respectivamente. Essas estimativas estão ligeiramente abaixo das esperadas para a geração RC_1F_2 , possivelmente em razão da seleção praticada com base na reação ao patógeno. Esses resultados são indicativos de que as famílias endogâmicas têm, em média, maior similaridade genética com o pai doador do que o esperado.

Os tratamentos, representados por híbridos entre as famílias RC_1F_2 e as linhagens testadoras, diferiram entre si. Observou-se efeito significativo da interação genótipo com ambientes (GxA) para índice de plantas com sintoma de enfezamento (D) e para produtividade de grãos. A presença desta interação é um fator adverso para a seleção, especialmente para caracteres de maior ênfase na seleção.

As correlações entre as médias de produção nos ambientes foram significativas e positivas, tendo variado de 0,22 a 0,37 entre amb1 e amb3, e entre

amb2 e amb4, respectivamente. Para o índice D, também foram estimadas correlações positivas entre as médias nos ambientes. Essas correlações variaram de 0,15, entre as médias de D no amb3 e no amb5, a 0,51, entre aquelas obtidas no amb1 e no amb4. Correlações significativas e positivas, porém baixas, eram esperadas, tendo em vista a interação GxA para os caracteres produtividade de grãos e incidência de enfezamentos (D). Esses resultados mostram que, apesar da interação GxA, há associação entre esses caracteres de um ambiente para o outro; contudo, as correlações foram baixas, apesar de significativas. Na maioria dos casos, as correlações fenotípicas entre as médias de produtividade de grãos e incidência de enfezamentos foram significativas, embora inversas e baixas, tendo variado entre -0,18, no amb4, e -0,50 no amb1. Esses resultados indicam que o aumento na incidência da doença tende a reduzir a produtividade de grãos. A correlação genética entre as médias dos tratamentos para os caracteres D e produtividade de grãos, nos cinco ambientes, foi de -0,73. Essa estimativa foi significativa e de alta magnitude, o que indica que o controle genético da resistência ao enfezamento está associado de forma inversa à herança da produtividade de grãos. Esse resultado deve-se ao efeito negativo dos enfezamentos sobre a produção, o que está de acordo com os resultados obtidos por Oliveira et al. (2007). Além disso, também pode ter havido efeito de ligação gênica (Ramalho & Lambert, 2004), uma vez que alelos desfavoráveis para a produtividade, presentes no genitor doador, podem cossegregar com os alelos que conferem resistência ao enfezamento.

Os genótipos com maiores produtividades e menores valores de D, nos cinco ambientes, foram considerados como de desempenho superior (Tabela 2). Esse critério de seleção restritivo foi utilizado dado ao alto desempenho apresentado por cultivares elite (Eymygdio et al., 2007; Cruz et al., 2010), e levou à seleção de apenas cinco tratamentos, o que corresponde a 5,53% de seleção.

Os cinco genótipos selecionados foram comparados às testemunhas, seguindo os mesmos critérios de seleção, ou seja, foram considerados superiores apenas os genótipos de alto desempenho nas cinco condições ambientais. Os genótipos selecionados tiveram desempenho superior ao composto "NAP Corn Stunt" (pai doador), quanto aos caracteres produtividade e D, nas avaliações conduzidas em Nova Porteirinha, o que mostra o avanço obtido com a introgressão (Tabela 2). Ao se compararem os tratamentos de melhor desempenho com as testemunhas comerciais, é possível verificar que apenas o híbrido BRS 1030 igualou-se aos materiais de melhor desempenho em relação ao caráter D, em todas as condições ambientais. Já quanto à produtividade de grãos, apenas o híbrido BRS 1010 igualou-se aos tratamentos selecionados, em todas as condições ambientais.

A maioria dos materiais selecionados originou-se de plantas classificadas como resistentes aos enfezamentos, exceto o tratamento L228-3-324-S x L3 (Tabela 2). A maioria dos tratamentos selecionados para resistência aos enfezamentos originou-se de plantas com alto percentual de alelos dos pais recorrentes. Entretanto, o híbrido L228-3-109-R x L3 apresentou

Tabela 2. Reação aos enfezamentos e percentual de alelos do pai recorrente de genótipos de milho com desempenho superior, quanto aos caracteres índice de plantas de milho com sintomas do enfezamento e produtividade de grãos, em cinco ambientes⁽¹⁾.

Tratamento ⁽²⁾	Reação ⁽³⁾	Percentual do pai recorrente	Percentual de plantas com sintomas					Produtividade de grãos (Mg ha ⁻¹)				
			amb1	amb2	amb3	amb4	amb5	amb1	amb2	amb3	amb4	amb5
L228-3-324-S x L3	S	84,62	4,77B	25,46B	20,37A	18,45C	6,41C	7,57A	7,39A	7,35A	5,57A	8,53A
L228-3-237-R x L3	R	76,92	7,26B	21,16B	14,16A	11,16C	20,79C	7,53A	7,86A	9,43A	5,57A	6,77A
L228-3-109-R x L3	R	28,57	10,38B	28,42B	12,75A	12,57C	15,73C	7,27A	6,83A	9,89A	6,16A	7,01A
L3-422-R x L228-3	R	83,33	6,00B	24,10B	27,95A	9,03C	9,26C	9,07A	8,00A	7,77A	5,51A	8,22A
L3-586-R x L228-3	R	66,67	8,64B	25,27B	20,56A	14,44C	13,21C	8,67A	7,38A	7,39A	6,23A	8,02A
NAP Corn Stunt	R	-	14,10B	34,34A	41,95A	20,17B	18,70C	3,89C	1,19C	4,98B	3,27B	4,47B
BRS Angela	S	-	59,82A	51,39A	82,05A	89,81A	64,10A	0,78D	1,26B	0,74B	1,13B	1,17C
BRS 1010	MR	-	7,27B	36,13A	27,97A	26,10B	12,01C	9,03A	8,56A	7,48A	6,44A	7,70A
BRS 1030	MR	-	9,11B	16,96B	11,87A	6,30C	18,82C	6,48B	4,50B	9,73A	6,94A	7,57A

⁽¹⁾Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Cinco genótipos, com maiores médias de produtividade de grãos e menores valores de incidência da doença em todos os cinco ambientes, considerados com desempenho superior entre as 92 famílias avaliadas. ⁽³⁾Avaliação da reação ao enfezamento, em que: R, resistente; MR, moderadamente resistente; e S, suscetível. Ambientes 1 a 5: amb1, Sete Lagoas safra 2009/2010; amb2, Nova Porteirinha safra 2009/2010; amb3, Sete Lagoas safrinha 2010; amb4, Nova Porteirinha safrinha 2010; e amb5, Londrina safrinha 2010.

alto desempenho, apesar de ser derivado da planta com menor percentual do pai recorrente, entre todas as plantas genotipadas. Esse resultado não era esperado, pois a premissa é que o maior percentual de alelos do pai recorrente esteja associado ao melhor desempenho das plantas originadas do retrocruzamento (Yousef & Juvik, 2002; Ramalho & Lambert, 2004; Mesquita et al., 2005).

Quanto à produtividade, as médias das plantas com maiores percentuais de alelos dos pais recorrentes foram similares às médias gerais (Tabela 3). Assim, os diferenciais de seleção, quando considerados os grupos com maior percentual de alelos dos pais recorrentes, foram, em geral, muito similares às médias gerais. Por essa razão, quando foram consideradas todas as famílias avaliadas, a seleção assistida por marcadores moleculares (para recuperação do genótipo dos pais recorrentes) não levou a ganhos em produtividade. Dessa forma, a seleção baseada nas famílias com maiores percentuais dos genótipos dos pais recorrentes não proporcionaria ganhos em produtividade. A falta de coincidência entre a seleção fenotípica e a SAMM já foi relatada (Mesquita et al., 2005), e os autores atribuíram à grande influência dos fatores ambientais na manifestação fenotípica.

Alguns fatores podem ter contribuído para que a SAMM e a seleção fenotípica não tenham sido coincidentes quanto à produtividade, já que a média dos genótipos de maior percentual de alelos do pai recorrente

foi similar à média geral dos ensaios (Tabela 3). O fato de os marcadores empregados não estarem associados aos caracteres usados na seleção e o pequeno número de marcadores utilizado na genotipagem podem ter contribuído para uma amostragem inadequada dos genótipos; entretanto, deve-se considerar que foram usados marcadores dispersos ao longo do genoma do milho, e que a resistência aos enfezamentos mostrou ser controlada por poucos genes (Silveira et al., 2008). Outro fator que pode ter levado à discordância entre as duas metodologias de seleção é o fato de a genotipagem ter sido realizada com plantas derivadas das famílias RC₁F₂, enquanto a fenotipagem foi feita nos cruzamentos dessas famílias com plantas testadoras (pais recorrentes invertidos: linhagem L3 testadora das famílias, em que o pai recorrente foi a linhagem L228-3, e vice-versa), o que pode ter aumentado o patamar da produtividade de grãos e influenciado a detecção de diferenças entre as famílias.

A falta de concordância entre as metodologias também pode ser atribuída à seleção prévia e branda de famílias derivadas de plantas classificadas como resistentes. Isso porque o fenômeno conhecido como “linkage drag”, que se caracteriza pela ligação entre o loco de interesse e os outros alelos que conferem fenótipo indesejável no genitor doador (Ramalho & Lambert, 2004), faz com que a transferência do alelo de interesse leve consigo alelos indesejáveis.

Tabela 3. Índice de plantas com sintomas do enfezamento (D) e produtividade de grãos (PG) em cada ambiente, e médias de grupos de tratamentos selecionados.

Caráter	Famílias com pai recorrente linhagem L228-3			Famílias com pai recorrente linhagem L3		
	Média geral	Selecionados ⁽¹⁾	Resistentes ⁽²⁾	Média geral	Selecionados ⁽¹⁾	Resistentes ⁽²⁾
PG amb1 ⁽³⁾	7,03	7,21	7,08	7,22	7,34	7,48
PG amb2	6,93	7,04	6,86	6,91	6,91	6,99
PG amb3	7,27	7,24	7,29	6,97	7,30	6,81
PG amb4	5,36	5,47	5,40	5,52	5,24	5,66
PG amb5	7,67	7,65	7,72	7,06	6,98	7,10
PG conj	6,85	6,92	6,87	6,74	6,75	6,81
D amb1	8,44	7,69	8,28	7,71	8,08	7,16
D amb2	31,20	29,98	28,87	28,86	32,83	27,84
D amb3	22,86	21,85	22,07	24,21	24,93	24,58
D amb4	16,35	16,78	15,08	17,26	18,07	15,91
D amb5	12,09	12,19	12,04	14,44	17,16	13,15
D conj	18,19	17,70	17,27	18,50	20,21	17,73

⁽¹⁾Híbridos nos quais participaram famílias derivadas de plantas com estimativa de percentual de alelos do pai recorrente igual ou superior a 75%. ⁽²⁾Híbridos entre linhagens testadoras e famílias F₂RC₁ derivadas de plantas classificadas, na avaliação preliminar, como resistentes aos enfezamentos. ⁽³⁾Ambientes 1 a 5: amb1, Sete Lagoas safra 2009/2010; amb2, Nova Porteira safra 2009/2010; amb3, Sete Lagoas safra 2010; amb4, Nova Porteira safra 2010; amb5, Londrina safra 2010. PG conj e D conj, média dos caracteres PG e D, respectivamente, nos ambientes 1 a 5.

Por fim, é possível que a contribuição dos alelos provenientes do composto "NAP Corn Stunt" tenha elevado a produtividade dos materiais testados. Os híbridos experimentais avaliados continham, em média, 12,5% de alelos desse composto, que é formado por acessos do BAGMilho e, portanto, apresentam baixo grau de melhoramento, quando comparados aos pais recorrentes. Assim, não era esperado que o genitor doador contribuisse para o aumento da produtividade. Entretanto, o composto "NAP Corn Stunt" pode ter influenciado esse caráter, uma vez que o "background" genético é muito diferente daquele do material elite (Miranda Filho et al., 2000), o que pode ter levado à maior heterozigosidade em cruzamentos com linhagens-elite.

As médias do caráter D, nas famílias derivadas de plantas classificadas preliminarmente como resistentes aos enfezamentos, foram, na maioria dos ambientes, inferiores à média geral (Tabela 3). Esses resultados são indicativos do potencial de ganho com a seleção preliminar para esse caráter. O sucesso com a avaliação de plantas resistentes aos enfezamentos, em fases iniciais do programa, pode ser resultante da predominância dos efeitos aditivos no controle genético do enfezamento, em milho (Silveira et al., 2008).

A SAMM, na conversão de linhagens, já foi associada a ganhos fenotípicos, quando a seleção é aplicada em linhagens per se (Badu et al., 2005). As condições de genotipagem e fenotipagem do presente trabalho abrangeram marcadores associados aos pais recorrentes, mas não associados a QTLs para produtividade de grãos ou à avaliação das famílias RC_1F_2 em cruzamentos com testadores. Nessas condições, a seleção fenotípica e a SAMM, para recuperação do genótipo do pai recorrente, não foram coincidentes na indicação de genótipos de melhor desempenho. Além do diferencial de seleção, o custo de cada metodologia também deve ser considerado na escolha do método mais vantajoso para a seleção de genótipos superiores.

Conclusões

1. As famílias de milho L228-3-324-S, L228-3-237-R, L228-3-109-R apresentam maior produtividade de grãos e resistência ao enfezamento, e são indicadas para cruzamentos com linhagens do grupo heterótico duro; já as famílias L3-422-R

e L3-586-R, são indicadas para cruzamentos com linhagens do grupo heterótico dentado.

2. A seleção assistida por marcadores moleculares, para a recuperação do genótipo do pai recorrente, não é eficiente, em comparação à seleção fenotípica, para a obtenção de genótipos com alta produtividade de grãos.

Referências

- AB'SÁBER, A. **Os domínios de natureza no Brasil**: potencialidades paisagísticas. São Paulo. Ateliê Editorial, 2003. 163p.
- BADU, R.; NAIR, S.K.; KUMAR, A.; VENKATESH, S.; SEKHAR, J.C.; SINGH, N.N.; SRINIVASAN, G.; GUPTA, H.S. Two-generation marker-aided backcrossing for rapid conversion of normal maize lines to quality protein maize (QPM). **Theoretical and Applied Genetics**, v.111, p.888-897, 2005. DOI: 10.1007/s00122-005-0011-6.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes**: estatística experimental e matrizes. Viçosa: UFV, 2006. 285p.
- CRUZ, J.C.; SILVA, G.H. da; PEREIRA FILHO, I.A.; GONTIJO NETO, M.M.; MAGALHÃES, P.C. Caracterização do cultivo de milho safrinha de alta produtividade em 2008 e 2009. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.9, p.177-188, 2010.
- EMBRAPACENARGEN. **Tratado Internacional sobre Recursos Fitogenéticos para a Alimentação e Agricultura**. 2012. Disponível em: <<http://tirfaa.cenargen.embrapa.br/MCPDGenebank/pages/mcpdBancos/Listar.jsp?idioma=portuguese>>. Acesso em: 5 mar. 2012.
- EMYGDIO, B.M.; IGNACZAK, J.C.; CARGNELUTTI FILHO, A. Potencial de rendimento de grãos de híbridos comerciais simples, triplos e duplos de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.6, p.95-103, 2007.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Indicadores IBGE**: estatística da produção agrícola: setembro de 2011. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. 76p. Disponível em: <http://www.ibge.com.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_201109.pdf>. Acesso em: 24 out. 2011.
- MESQUITA, A.G.G.; GUIMARÃES, C.T.; PARENTONI, S.N.; PAIVA, E. Recuperação do genitor recorrente em milho utilizando retrocruzamento assistido por marcadores microsattelites. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.4, p.275-285, 2005.
- MIRANDA FILHO, J.B.; NASS, L.L.; SANTOS, M.X. dos; REGINATO NETO, A. **Avaliação de acessos de milho para resistência a doenças foliares**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. 147p.
- NINAMANGO-CÁRDENAS, F.E.; GUIMARÃES, C.T.; MARTINS, P.R.; PARENTONI, S.N.; CARNEIRO, N.P.; LOPES, M.A.; MORO, J.R.; PAIVA, E. Mapping QTLs for aluminum tolerance in maize. **Euphytica**, v.130, p.223-232, 2003. DOI: 10.1023/A:1022867416513.
- OLIVEIRA, E. de; CARVALHO, R.V. de; DUARTE, A.P.; ANDRADE, R.A. de; RESENDE, R. de O.; OLIVEIRA, C.M. de;

- RECCO, P.C. Molicutes e vírus em milho na safrinha e na safra de verão. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, p.38-46, 2002.
- OLIVEIRA, E. de; PINTO, N.F.J. de A.; FERNANDES, F.T. **Identificação e controle de doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 157p.
- OLIVEIRA, E. de; SANTOS, J.C.; MAGALHÃES, P.C.; CRUZ, I. Maize bushy stunt phytoplasma transmission is affected by spiroplasma acquisition and environmental conditions. **Bulletin of Insectology**, v.60, p.229-230, 2007.
- PARENTONI, S.N.; MAGALHÃES, J.V.; PACHECO, C.A.P.; SANTOS, M.X.; ABADIE, T.; GAMA, E.E.G.; GUIMARÃES, P.E.O.; MEIRELLES, W.F.; LOPES, M.A.; VASCONCELOS, M.J.V.; PAIVA, E. Heterotic groups based on yield-specific combining ability data and phylogenetic relationship by RAPD markers for 28 tropical maize open pollinated varieties. **Euphytica**, v.121, p.197-208, 2001. DOI: 10.1023/A:1012221129762.
- RAMALHO, M.A.P.; LAMBERT, E. de S. Biometria e o melhoramento de plantas na era da genômica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.3, p.228-249, 2004.
- SILVEIRA, F.T.; MORO, J.R.; SILVA, H.P. da; OLIVEIRA, J.A. de; PERECIN, D. Herança da resistência ao enfezamento em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1717-1723, 2008. DOI: 10.1590/S0100-204X2008001200011.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 2nd ed. Auckland: Mc Graw-Hill, 1980. 633p.
- TEIXEIRA, F.F.; GOMIDE, R.L.; ALBUQUERQUE, P.E.P. de; ANDRADE, C.T.L. de; LEITE, C.E.P.; PARENTONI, S.N.; GUIMARÃES, P.E. de O.; GUIMARÃES, L.J.M.; SILVA, A.R.; BASTOS, E.A.; CARDOSO, M.J. Evaluation of maize core collection for drought tolerance. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.10, p.312-320, 2010. DOI: 10.1590/S1984-70332010000400005.
- YOUSEF, G.G.; JUVIK, J.A. Enhancement of seedling emergence in sweet corn by marker-assisted backcrossing of beneficial QTL. **Crop Science**, v.42, p.96-104, 2002. DOI: 10.2135/cropsci2002.0096.

Recebido em 28 de junho de 2012 e aprovado em 7 de janeiro de 2013