

# ESTRATÉGIA DE MELHORAMENTO DE MILHO VISANDO TOLERÂNCIA À SECA

FREDERICO O.M. DURÃES<sup>1</sup>, MANOEL X. DOS SANTOS, EDILSON PAIVA,  
LAIRSON COUTO, ANTÔNIO C. OLIVEIRA

Palavras-chave: milho, tolerância, seca, descritores, marcadores genéticos.

E-mail: fduraes@cnpmc.embrapa.br, Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, 35701-970 Sete Lagoas, MG, Brasil.

## INTRODUÇÃO

A seca é um dos principais problemas responsáveis pela redução na produtividade do milho nas condições tropicais. Portanto, a utilização de genótipos tolerantes à seca é uma estratégia eficiente para o aumento da produtividade e redução dos riscos de produção em áreas sujeitas à déficits hídricos.

Um programa de pesquisa visando melhoramento para tolerância à seca deve estar centrada em três afirmativas, quais sejam: a) Seca é a maior fonte de instabilidade do rendimento de grãos de milho em áreas tropicais; b) A herdabilidade para a característica produção de grãos é pequena e a variância genotípica no rendimento deve ser baixa sob condições de seca; c) Caracteres de planta que influenciam rendimento de grãos se expressam de maneira variada em diferentes anos.

Incorporar características secundárias desejáveis no programa de melhoramento de milho visa obter plantas com maior acesso e absorção do volume de água no solo, menor taxa de perdas de água, e maior atividade fisiológica em baixo potencial hídrico. Resultados experimentais apontam que seleção para alta taxa de expansão foliar e caulinar e atraso na senescência sob seca pode melhorar o status hídrico na planta, via aumento do volume de raízes e aumento na capacidade de regulação osmótica.

A utilização do intervalo entre florescimentos masculino e feminino (IFMF, em dias) na planta de milho é um índice fenotípico empregado para avaliação da tolerância à seca. Objetiva-se, neste trabalho, apresentar as principais estratégias do programa de melhoramento de milho visando tolerância à seca, e algumas das linhas de pesquisa em fenotipagem de características secundárias e genotipagem via marcadores moleculares. A utilização de marcadores moleculares visa identificar regiões cromossômicas do genoma do milho, responsáveis pela tolerância (baixo IFMF) e susceptibilidade (alto IFMF) à seca, tendo o IFMF como um dos principais marcadores fenotípicos.

## O Problema

Em MILHO, *Estresse Hídrico* antes/durante o florescimento

Retardamento no *Florescimento Feminino (FF)*

Aumento no comprimento do *IFMF*.

(Herrero & Johnson 1981; Hall et al. 1982; Martiniello 1984; Westgate & Boyer 1986; Bolaños & Edmeades 1993, 1996; Durães et al. 1993, 1997, 1998)

Assincronismo entre *FF* e *FM* tem sido associado com um decréscimo no rendimento

de grãos sob seca. (DuPlessis & Dijkhuis 1967; Hall et al. 1982; Westgate & Boyer 1986; Bolaños & Edmeades 1993; Labory et al. 1997; Durães et al. 2000)

### **Tipificação da Seca (Caracterização da Deficiência Hídrica):**

#### **1. Na PLANTA:** f (estádio de desenvolvimento)

- **FLORESCIMENTO**

#### **2. No SOLO:**

Monitoramento da Deficiência Hídrica da Cultura (Métodos e Técnica):

- a) Método "Termometria a Infravermelho" (*IEHC*, Jackson 1982), utilizando a equação de *Penman-Monteith* (Campbell 1985);
- b) Métodos "Termoelétricos do Pulso de Calor e do Balanço de Energia" no caule das plantas (Gomide 1990);
- c) Técnicas de "Monitoramento de Umidade do Solo" por tensiometria e gravimetria.

### **Estratégia de Pesquisa**

Seleção para *reduzido IFMF*, sob estresse hídrico controlado imposto no florescimento, promove efetivo e rápido procedimento para mais alto e estável rendimento de grãos. *Reduzido IFMF* é parcialmente consequência de maior potencial hídrico (planta) durante o florescimento. Emissão de estilo-estigma é sensível a déficits hídricos diferenciados na planta.

### **Hipótese Científica**

Baixo IFMF

Sincronismo no florescimento

Adaptação a dado estresse hídrico

Rendimento de grãos sob condições adversas.

É possível, através de técnicas de biologia molecular, a identificação de sondas moleculares associadas a características secundárias indicadoras do rendimento de genótipos de milho com tolerância à seca.

### **O Marcador Fenotípico**

IFMF (Intervalo entre Florescimentos Feminino e Masculino, em dias) é uma característica relativamente simples de medir no campo. Entretanto, poucos estudos de herança quantitativa tem sido conduzidos sob condições de estresse abiótico.

### **O Material Genético**

**Origem:** Subprojeto SEP 04.0.94.261-01 – "Desenvolvimento e Avaliação de Cultivares de Milho Tolerantes a Estresses Ambientais" => População Sintético Elite.

### **Fontes:**

Populações (heterogêneas)

seleção

### *n* Linhagens (homogêneas)

<i>baixo IFMF</i> ( <i>tolerante</i> )		<i>alto IFMF</i> ( <i>suscetível</i> )
S <sub>1</sub>		S <sub>1</sub>
⊗		⊗
S <sub>2</sub>		S <sub>2</sub>
⊗ <sub>n</sub>		⊗ <sub>n</sub>
S <sub>8</sub>		S <sub>8</sub>
b x b	b x a	a x a
	F <sub>1</sub>	
	⊗	
	F <sub>2</sub>	
	⊗	
	F <sub>3</sub>	

### Estudos em Andamento

Desde que eficiente seleção para tolerância à seca requer cuidadosa administração das condições ambientais, marcadores moleculares serão usados para identificar os segmentos genômicos responsáveis pela expressão do *IFMF*, com o objetivo final de desenvolvimento de estratégias de *Seleção Assistida por Marcadores (SAM)*.

### Resultados Atuais

Obteve-se linhagens endogâmicas contrastantes para o caráter *IFMF*, com os quais realizou-se o cruzamento de linhagens obtendo-se e selecionando-se F<sub>1</sub>. Este híbrido foi autofecundado para a geração de populações segregantes F<sub>2</sub>. A partir dessa população avaliaram-se indivíduos que foram submetidos a estresse hídrico controlado, no período do florescimento. Verificou-se amplitude de variação para o *IFMF* e uma tendência de distribuição de frequência para o *IFMF* destes indivíduos, típica de uma característica quantitativa. Isto indica a possibilidade de seleção de indivíduos com fenótipos extremos para o caráter, que permitiria o mapeamento de *locus de caracteres quantitativos (QTL)* relacionados com a tolerância à seca, utilizando marcadores de polimorfismo de comprimentos de fragmentos de restrição, com o emprego da análise de "*bulk segregante*".

#### 1. Identificação de linhagens contrastantes para *IFMF*:

Tabela 1 - Genótipos de milho (S8) para tolerância à seca. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG, Brasil. Maio/2000.

<i>Genótipo/ Background</i>	<i>IFMF</i>
L 1170	alto (+4 dias)
L 1147	alto (+5 dias)
L 13.1.2	baixo (0 dia)
L 6.1.1	baixo (0 dia)
L 8.3.1	baixo (0 dia)
L 10.1.1	baixo (0 dia)

\* IFMF (Intervalo entre Florescimentos Feminino e Masculino).

IFMF = 0, significa "com sincronização entre florescimentos feminino e masculino"

2. Seleção de F<sub>1</sub> (L1147 x L13.1.2) para tolerância à seca;
3. Potenciais para tolerância à seca: L13.1.2 x L10.1.1; e, Cruzamentos com genótipos L6.1.1 e L8.3.1;
4. Produção e estudos de famílias F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>;
5. As sondas moleculares *umc15*, *umc30*, *umc107*, *umc32c*, *csu148a* e *csu6a* foram testadas em genótipos F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub> e genitores. Os resultados são ainda inconclusivos.

### **Pesquisas planejadas:**

1. Mapeamento Molecular de *QTL para IFMF* em Famílias F<sub>2</sub> (alto *IFMF* x baixo *IFMF*), visando tolerância à seca em milho:
  - . Identificar segmentos do genoma de milho (*QTL*) responsivo para IFMF, características morfológicas e componentes do rendimento;
  - . Estimar a interação fenotípica e genotípica entre essas características;
  - . Utilizar de *QTL's IFMF* para melhoramento de tolerância à seca (*SAM*).
2. Ampliação de utilização de genótipos nos estudos de tolerância à seca:
  - . Linhagens contrastantes nos Programas de Estresse Mineral: P, N (Eficiência), Al (Tolerância);
  - . Estudos de 292 progênies de dois grupos heteróticos distintos;
  - . Introdução de 07 linhagens CIMMYT;
3. Identificação e Caracterização de Genótipos de Milho para Tolerância à Seca em Milho. Projeto SEP 04.1999.280-01;
4. Estudos de Mecanismos e Técnicas de "Screening" para Tolerância à Seca. Projeto SEP 04.1999.280-02.

### **Mapa Gênico de Milho para Tolerância à Seca: Estratégia**

A maioria das respostas para estresses ambientais, a exemplo de estresse hídrico, são devido a efeitos de alguns genes agindo juntos. Quando um cruzamento é feito entre plantas cujos fenótipos (aparência) variam marcadamente para uma característica, por exemplo, alto e baixo IFMF – Intervalo entre Florescimentos Masculino e Feminino, as progênies resultantes tendem a segregar amplamente para a característica. Isto é devido à variação entre progênies de plantas para alelos de vários, ou alguns, loci genéticos que agem juntos para produzir o fenótipo da planta. Quando alguns genes estão envolvidos, a variação, e deste modo os genótipos da população-progênie como um todo, tende a ser contínua (distribuição normal). Por essa razão, tais características como IFMF alto e baixo, cuja variação fenotípica é contínua são conhecidas como poligênicas (ou genética quantitativa). Os genes individuais condicionando tais características são ditos ser localizados *QTL's (Quantitative Trait Loci)*.

A determinação de ligação gênica entre marcadores e *QTL's* depende da existência de

desequilíbrio de ligação entre alelos no *locus* marcador e alelos do QTL. Esse desequilíbrio gera efeitos quantitativos associados ao marcador que podem ser detectados e estimados através de análises adequadas. Desequilíbrio de ligação entre dois *loci* ocorre quando as frequências genotípicas dos gametas diferem do produto das frequências dos alelos componentes, denotando a existência de uma associação significativa entre os dois *loci*. A ligação física entre os dois loci do mesmo cromossomo é apenas uma das causas de desequilíbrio de ligação. Entretanto, em experimentos de mapeamento, uma associação significativa entre marcador e gene é invariavelmente interpretada como sendo evidência de ligação física.

A maioria das estratégias de mapeamento de QTL's está baseada no uso de populações segregantes tradicionalmente utilizadas para a construção de mapas genéticos. Este tipo de pedigree é ideal pois maximiza a quantidade de desequilíbrio de ligação entre marcadores e QTL's. Operacionalmente, duas linhagens puras (geneticamente divergentes e fenotipicamente extremas em relação às características quantitativas de interesse são identificadas. Estas linhagens, homocigotas para alelos alternativos nos QTL's e polimórficas com relação a marcadores moleculares (tipo RFLP, RAPD, microsátélites, etc.) são cruzadas, e uma população segregante (F<sub>2</sub>, retrocruzamento, linhagens puras recombinantes) é obtida a partir de F<sub>1</sub>. Um certo número de indivíduos dessa população segregante (centenas) são avaliadas para as características quantitativas de interesse e genotipadas para algumas dezenas de marcadores moleculares distribuídos a intervalos regulares (10 a 30 cM) ao longo do genoma. Uma busca é então conduzida para associações entre os marcadores segregantes e as características de interesse.

Ressalta-se que o mapeamento de características de herança quantitativa são do tipo produtividade, crescimento volumétrico, precocidade. Essas características, herdáveis, de importância econômica, resultam de ação conjunta de vários genes (poligenes), quantitativos ou de herança complexa. O fenótipo resultante apresenta variação contínua (em vez de classes fenotípicas discretas). Embora tenham sido amplamente relatados os resultados de mapeamento cromossômicos de várias espécies, incluindo o milho, são ainda escassas as informações sobre o número, a posição cromossômica, a magnitude do efeito e as interações dos *loci* que controlam a expressão de cada característica de interesse do melhoramento. Esses *loci* são denominados QTL's (locos controlados de características quantitativas). Evidentemente, quanto maior o efeito, o tamanho da população e a herdabilidade, e mais próximo o marcador do QTL, mais fácil será a detecção. Portanto, a capacidade de detectar um QTL é função da magnitude do seu efeito sobre a característica, do tamanho da população segregante avaliada, da frequência de recombinação entre o marcador e QTL, da herdabilidade da característica.

## LITERATURA CITADA

BOLANOS, J.; EDMEADES, G.O. The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.48, p.65-80, 1996

BOLANOS, J.; EDMEADES, G.O. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. II. Responses in reproductive behavior. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.31, p.253-268, 1993.

- DuPLESSIS,D.P.; DIJKHUIS, F.J. The influence of the time lag between pollen-shedding and silking on the yield of maize. **South African Journal of Agricultural Science**, Pretoria, v.10, p.667-674, 1967.
- DURAES, F.O.M.; MAGALHAES, P.C.; OLIVEIRA,A.C.; FANCELLI, A.C.; COSTA, J.D. Partição de fitomassa e limitações do rendimento de milho (*Zea mays* L.) relacionadas com a fonte-dreno. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Carlos, v.5. n.1. p.90-91, 1993
- DURAES, F.O.M.; PAIVA,E.; MAGALHAES,P.C.; SANTOS, M.X.; PEREIRA, J.J.; LABORY, C.R.G. Critérios morfo-fisiológicos utilizados para seleção de genótipos de milho visando tolerância à seca.. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 6., 1997, Belém, PA. **Resumos**. Belém: SBFV, 1997. p.291
- DURAES,F.O.M.; MAGALHAES,P.C.; SANTOS,M.X.; LOPES, M.A.; PAIVA, E. Intervalo entre florescimentos masculino e feminino como parâmetro fenotípico útil ao melhoramento de milho tropical para tolerância à seca. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife, PE. **Globalizacao e seguranca e alimentar - resumos**. Recife: IPA, 1998.p.27
- DURAES, F.O.M.; MAGALHAES,P.C.; FERRER,J.L.R.; MACHADO,R.A.F. Adaptação de milho às condições de seca: 2. Florescimento e Maturidade Fisiológica de Sementes de Linhagens Contrastantes para o Parâmetro Fenotípico IFMF. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23., 2000, Uberlândia, MG. **Resumos**. Uberlândia, MG. ABMS;Embrapa, 2000. no prelo
- HALL,A.J.; VILELLA, F.; TRAPANI, N.; CHIMENTI, C. The effects of water stress and genotype on the dynamics of pollen-shedding and silking in maize. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.5, p.349-363, 1982.
- HERRERO, M.P.; JONHSON, R.R. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. **Crop Science**, Madison, v.21, p.105-110, 1981.
- LABORY,C.R.G.; TEIXEIRA,F.F.; SANTOS,M.X.; MAGALHAES,P.C.; DURAES,F.O.M.; COUTO, L.; PAIVA, E. Estimativa de parâmetros genéticos de caracteres relacionados a tolerância ao déficit hídrico no milho tropical. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 43. 1997, Poços de Caldas, MG. **Resumos**. Poços de Caldas: SBG, 1997.
- MARTINELLO, P. Drought resistance in maize: Methods of detection and breeding considerations. **Genetica Agraria**, Roma, v.38, n.3, p.267-302, 1984.
- WESTGATE, M.E.; BOYER,J.S. Reproduction at low silk and pollen water potentials in maize. **Crop Science**, Madison, v.26, p.951-956, 1986.