

## Identificação de fonte de resistência à ferrugem polissora em milho para desenvolvimento de população de mapeamento e estudo de herança genética

**Cynthia Maria Borges Damasceno<sup>(1)</sup>; Maria Marta Pastina<sup>(2)</sup>; Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães<sup>(2)</sup>; Luciano Viana Cota<sup>(2)</sup>; Rodrigo Veras da Costa<sup>(2)</sup>; Dagma Dionísia da Silva<sup>(2)</sup>**

<sup>(1)</sup> Pesquisador; Embrapa Milho e Sorgo; Sete Lagoas, MG; cynthia.damasceno@embrapa.br; <sup>(2)</sup> Pesquisador; Embrapa Milho e Sorgo;

**RESUMO:** A ferrugem polissora, causada pelo fungo *Puccinia polysora* Underwood, é uma importante doença do milho devido à sua agressividade e difícil controle. O desenvolvimento de híbridos resistentes é um método eficaz e sustentável para o controle da doença, porém é dificultado pela variabilidade genética do patógeno e adaptação às condições brasileiras. Assim, o presente trabalho visou a identificação de fontes de resistência e o desenvolvimento de populações segregantes adequadas para estudos de herança genética da resistência e para mapeamento de QTLs associados à doença. Uma fonte de resistência e três populações F<sub>2</sub> oriundas de pais contrastantes foram identificadas após a avaliação de 490 materiais. A população 5110699 (530850 x 371081-4) foi escolhida por apresentar a distribuição de classes mais próxima da distribuição normal, o que condiz com uma resistência de base poligênica, contribuindo para o desenvolvimento de cultivares com resistência duradoura à ferrugem polissora.

**Termos de indexação:** *Puccinia polysora*, *Zea mays*, QTL

### INTRODUÇÃO

A cultura do milho no Brasil tem apresentado aumento significativo de intensidade de doenças na última década, principalmente em relação a doenças foliares, o que gera preocupações sobre o perdas e danos na falta de controle efetivo das doenças (Costa et al., 2013). Dentre as estratégias de controle mais utilizadas está o uso de produtos químicos (principalmente fungicidas) e variedades resistentes. Uma das doenças mais importantes hoje para cultura do milho no Brasil é a ferrugem-polissora, causada pelo fungo *Puccinia polysora* Underwood, a qual pode causar perdas de produtividade superiores a 50%, o que tem sido relatado com frequência nas principais regiões produtoras (Jines et al., 2007; Costa et al., 2010).

Vários genes de resistência para controle de *P. polysora* em milho são raça-específicos e geralmente são dominantes ou dominantes

incompletos (Storey; Howland, 1957; Ullstrup, 1965). Recentemente, Wu et al. (2015) identificaram uma região no braço curto do cromossomo 10 rica em genes para resistência à ferrugem polissora (Chen et al., 2004; Zhou et al., 2007; Zhang et al., 2010, Zhao et al. 2013), sendo essa região denominada "Rpp cluster". A identificação de genótipos resistentes tem sido um dos principais gargalos dos programas de melhoramento, sendo seu uso uma importante medida para o manejo da doença. Uma das dificuldades para a seleção de genótipos resistentes à ferrugem-polissora é a inconsistência da ocorrência da doença nos ambientes de seleção (enquanto um ano pode apresentar altíssima severidade, no seguinte pode ocorrer ausência da doença) (Brewbaker et al., 2011). Outro fator é a alta variabilidade genética do fungo *P. polysora*, o que permite rápida adaptação aos materiais resistentes disponíveis no mercado. Assim, é imprescindível um trabalho contínuo de identificação de novas fontes de resistência, mais efetivas no controle da doença e de maior durabilidade, bem como o estudo de herança da mesma. Para isso, o programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo tem investido na fenotipagem de um grande número de genótipos para identificação de materiais resistentes e desenvolvimento de populações segregantes para melhor entender a base genética da resistência à ferrugem polissora.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Material genético

Foram selecionados 490 materiais do programa de melhoramento para avaliação da reação quanto à resistência à ferrugem-polissora, dentre híbridos e linhagens.

#### Avaliação fenotípica da reação à ferrugem-polissora

A avaliação de genótipos quanto a reação (resistência ou suscetibilidade) à ferrugem-polissora para identificação de matérias resistentes foi

realizada em casa de vegetação. As inoculações foram feitas nas plantas aos 15 dias após o plantio (DAP), utilizando-se como inóculo os uredósporos do isolado monopustular de *P. polysora* obtidos em Rio Verde-GO, a uma concentração de 100 uredósporos/mL. As plantas inoculadas foram mantidas em câmara úmida sob condição de temperatura entre 25 e 30 °C e umidade relativa de, aproximadamente, 90% durante 12 horas. Após esse período as plantas foram mantidas em casa de vegetação, com temperatura de 25 a 30 °C. As avaliações foram realizadas aos 30 DAP, utilizando-se uma escala de probabilidades para cada classe de reação à ferrugem-polissora (R0, R1, R2, S-, S, S+), a qual foi convertida em uma escala de números, variando de 1 a 6 para realização do cálculo dos parâmetros avaliados. Após as avaliações, as plantas que foram utilizadas para produção de sementes da população seguinte foram transplantadas em campo, na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo.

### Identificação de fontes de resistência e seleção de população biparental base para estudos de mapeamento

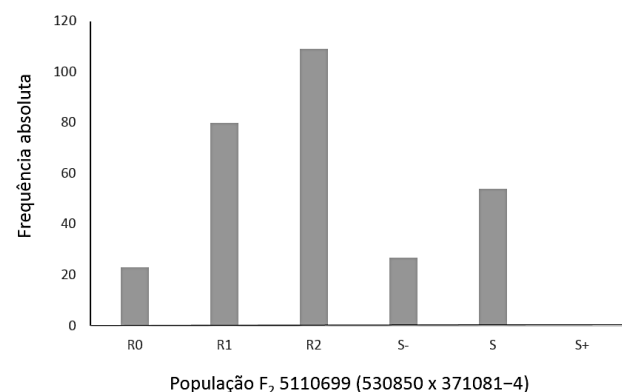
Com base na avaliação dos materiais quanto sua reação ao patógeno, foram selecionados os 10 híbridos simples mais resistentes e as respectivas linhagens parentais contrastantes. Estes híbridos (F<sub>1</sub>) foram autofecundados para obtenção da geração F<sub>2</sub>, que foi então avaliada em casa de vegetação para resistência à ferrugem-polissora, juntamente com as linhagens parentais e gerações F<sub>1</sub>. Para a escolha de uma população F<sub>2</sub> ideal, os seguintes parâmetros foram seguidos: 1) presença de distribuição de classes de reação mais próxima de uma distribuição normal, 2) pais contrastantes e 3) geração F<sub>1</sub> mais resistente. Para cada população avaliada, foram obtidas estimativas para os seguintes parâmetros: média, variância (fenotípica, genética e residual), desvio padrão, intervalo de confiança para a média (95%), coeficiente de variação, e probabilidades para cada classe de reação à ferrugem-polissora, utilizando-se o programa R.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 2012, 490 materiais foram fenotipados pela Embrapa Milho e Sorgo quanto à reação à ferrugem polissora: 91 linhagens elites, 164 híbridos simples entre linhagens de diferentes grupos heteróticos e 235 híbridos entre linhagens do mesmo grupo heterótico. Uma fonte de resistência demonstrando reação do tipo R0 e R1, 371081-4, foi identificada e utilizada para geração de populações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> que foram avaliadas fenotipicamente. Após a seleção dos 10 híbridos simples mais resistentes, e

avaliação fenotípica para resistência das gerações de interesse (parentais, F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>), foi possível identificar as três populações F<sub>2</sub> que apresentaram menor média para a reação à doença, ou seja, populações que apresentaram maior frequência de indivíduos resistentes à ferrugem-polissora (5110658, 5110699, 5110704) (**Tabela 1 e Figura 1**).

Com base nos dados apresentados, a população 5110699 (530850 x 371081-4) foi escolhida, sendo então (novamente avaliada com um maior número de plantas, confirmando a distribuição de classes mais próxima da distribuição normal, o que condiz com uma resistência de base poligênica (**Figura 2**). Acredita-se que esse tipo de resistência possa apresentar maior durabilidade para patógenos de alta adaptabilidade, como é o caso da ferrugem-polissora.



**Figura 2:** Frequência absoluta das classes de reação à ferrugem-polissora na população F<sub>2</sub> 5110699 (530850 x 371081-4). Foram avaliadas 293 plantas F<sub>2</sub>.

Assim, a população F<sub>2</sub>, 5110699 (530850 x 371081-4) foi escolhida para o mapeamento de QTLs para a resistência à ferrugem polissora. Além da geração das populações F<sub>2</sub> e F<sub>2:3</sub> para os estudos de mapeamento, retrocruzamentos com ambos parentais como genitores recorrentes (RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>) foram também desenvolvidos a fim de realizar futuramente estudo de herança da base genética para resistência à ferrugem-polissora em milho, pela análise de média de gerações.

Esses novos estudos permitirão o melhor entendimento do tipo de resistência apresentada no germoplasma disponível no programa de melhoramento da Embrapa, bem como a identificação de QTLs associados à resistência à doença, para que cultivares de milho com níveis mais elevados de resistência à ferrugem-polissora sejam mais facilmente obtidos.

### CONCLUSÕES

Uma fonte de resistência à ferrugem polissora identificada (linhagem 371081-4) é de grande importância para desenvolvimento e introgressão de resistência em novas linhagens de milho.

Uma população F<sub>2</sub>, 5110699 (530850 X 371081-4), segregante para resistência à ferrugem polissora, será a base para nossos estudos de mapeamento de QTLs e médias de gerações para melhor entendimento da resistência à ferrugem polissora.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, à FAPEMIG e à Embrapa Milho e Sorgo pelo suporte financeiro.

### REFERÊNCIAS

BREWBAKER, J. L.; KIM, S. K.; SO, Y. S.; LOGROÑO, M.; MOON, H. G.; MING, R.; LU, X. W.; JOSUE, A. D. General resistance in maize to southern rust (*Puccinia polysora* Underw.). **Crop Science**, Madison, v. 51, p. 1393-1409, 2011.

CHEN, C. X.; WANG, Z. L.; YANG, D. E.; YE, C. J.; ZHAO, Y. B.; JIN, D. M.; WENG, M. L.; WANG, B. Molecular tagging and genetic mapping of the disease resistance gene *RppQ* to southern corn rust. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 108, p. 945-950, 2004.

COSTA, R. V. da; SILVA, D. D. da; COTA, L. V. **Efeito protetor de fungicidas no controle da ferrugem Polissora (*Puccinia polysora*) do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013. 22 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 81).

COSTA, R. V. da; COTA, L. V.; SILVA, D. D. da; PARREIRA, D. F.; ROCHA, I. M. P. da; GUIMARAES, L.

J. M.; GUIMARAES, P. E.; PARENTONI, S. N.; MACHADO, J. R. de A. **Epidemias severas da Ferrugem Polissora do milho na Região Sul do Brasil na safra 2009/2010**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 6 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 138).

JINES, M. P.; BALINT-KURTI, P.; ROBERTSON-HOYT, L. A.; MOLNAR, T.; HOLLAND, J. B.; GOODMAN, M.M. Mapping resistance to Southern rust in a tropical by temperate maize recombinant inbred topcross population. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 114, p. 659-667, 2007.

STOREY, H. H.; HOWLAND, A. K. Resistance in maize to the tropical American rust fungus, *Puccinia polysora* Underw., I. Genes *Rpp1* and *Rpp2*. **Heredity**, v. Edinburgh, v. 11, p. 289-301, 1957.

ULLSTRUP, A. J. Inheritance and linkage of a gene determining resistance in maize to an American race of *Puccinia polysora*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 55, p. 425-428, 1965.

WU, X.; LI, N.; ZHAO, P.; HE, Y.; WANG, S. Geographic and genetic identification of *RppS*, a novel locus conferring broad resistance to southern corn rust disease in China. **Euphytica**, Wageningen, v. 205, n. 1, p. 17-23, 2015.

ZHANG, Y.; XU, L.; ZHANG, D.; DAI, J.; WANG, S. Mapping of southern corn rust-resistant genes in the W2D inbred line of maize (*Zea mays* L.). **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 25, n. 3, p. 433-439, 2010.

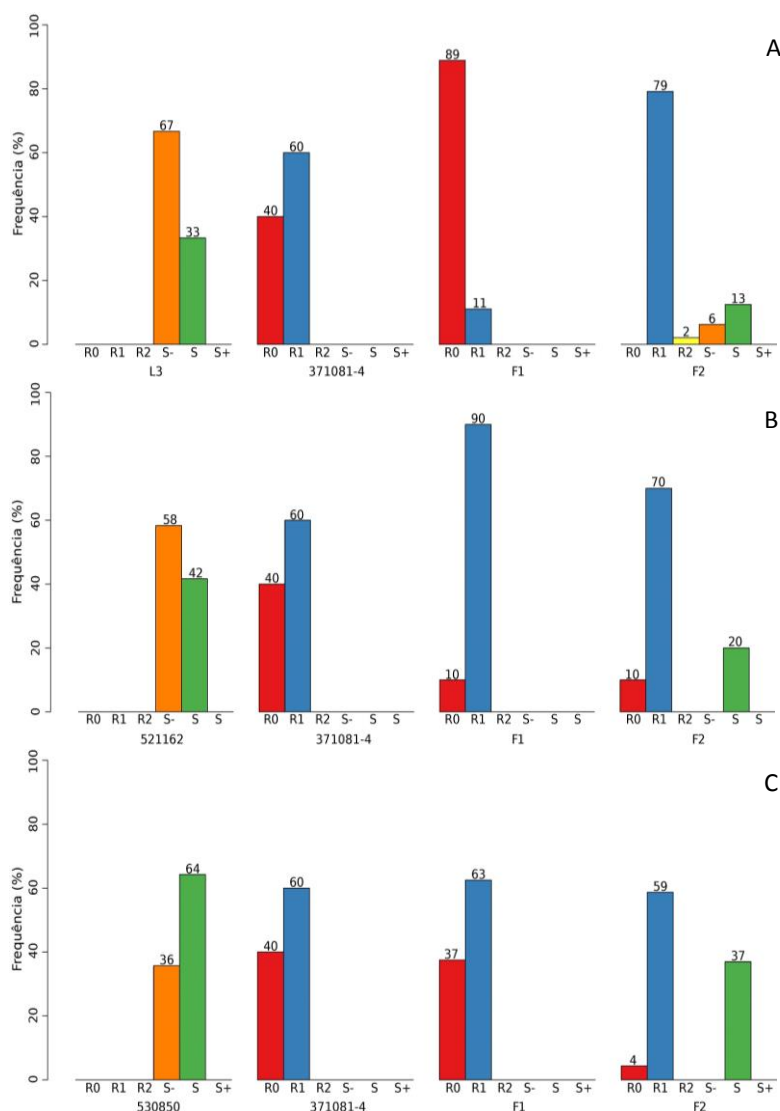
ZHAO, P.; ZHANG, G.; WU, X.; LI, N.; SHI, D.; ZHANG, D.; JI, C.; XU, M.; WANG, S. Fine Mapping of *RppP25*, a Southern Rust Resistance Gene in Maize. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 55, n. 5, p. 462-472, 2013.

ZHOU, C. J.; CHEN, C. X.; CAO, P. X. Characterization and fine mapping of *RppQ*, a resistance gene to southern corn rust in maize. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 278, p. 723-728, 2007.

**Tabela 1:** Estimativas de média, variância (fenotípica, genética e residual), desvio padrão, intervalo de confiança para a média (95%), coeficiente de variação nas linhagens, progênies F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>. Abreviações: G1, Genitor 1; G2, Genitor 2; TP, Total de plantas; Var. Fen.: Variância Fenotípica; DP, Desvio Padrão; CV, Coeficiente de Variação; Var. Gen.: Variância Genética; Var. Res.: Variância Residual.

Geração	G1	G2	Número de Plantas por Classe de Reação						TP	Média	Var. Fen.	DP	CV (%)	Var. Gen.	Var. Res.	Intervalo de Confiança para a Média (95%)
			R0	R1	R2	S-	S	S+								
<b>Linhagem</b>																
L3	-	-	0	0	0	6	3	0	9	4,33	0,25	0,50	11,54	0,00	0,25	3,95 – 4,72
371081-4	-	-	4	6	0	0	0	0	10	1,60	0,27	0,52	32,27	0,00	0,27	1,23 – 1,97
530850	-	-	0	0	0	5	9	0	14	4,64	0,25	0,50	10,71	0,00	0,25	4,36 – 4,93

Geração	G1	G2	Número de Plantas por Classe de Reação						TP	Média	Var. Fen.	DP	CV (%)	Var. Gen.	Var. Res.	Intervalo de Confiança para a Média (95%)
			R0	R1	R2	S-	S	S+								
521162	-	-	0	0	0	7	5	0	12	4,42	0,27	0,51	11,66	0,00	0,27	4,09 – 4,74
<b>F<sub>1</sub></b>																
	L3	371081-4	8	1	0	0	0	0	9	1,11	0,11	0,33	30,00	0,00	0,11	0,85 – 1,37
	530850	371081-4	3	5	0	0	0	0	8	1,63	0,27	0,52	31,85	0,00	0,27	1,19 – 2,06
	521162	371081-4	1	9	0	0	0	0	10	1,90	0,10	0,32	16,64	0,00	0,10	1,67 – 2,13
<b>F<sub>2</sub></b>																
5110658	L3	371081-4	0	38	1	3	6	0	48	2,52	1,15	1,07	42,51	0,92	0,23	2,22 – 2,82
5110699	530850	371081-4	2	27	0	0	17	0	46	3,07	2,28	1,51	49,31	2,06	0,23	2,63 – 3,50
5110704	521162	371081-4	5	35	0	0	10	0	50	2,50	1,68	1,30	51,90	1,45	0,23	2,14 – 2,86



**Figura 1.** Frequência (%) das classes de reação à ferrugem-polissora em quatro populações F<sub>2</sub> e seus respectivos genitores e geração F<sub>1</sub>: A) População 5110658 (L3 x 371081-4); B) População 5110704 (521162 x 371081-4); C) População 5110699 (530850 x 371081-4).