

Desempenho agrônômico de híbridos de milho derivados de linhagens duplo-haploides comparados com híbridos convencionais¹

Luciano José Lourençoni², Roberto dos Santos Trindade³, Lauro José Moreira Guimarães³ e Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães³

1 Trabalho financiado pelo CNPq. 2 Estudante do Curso de Agronomia da Univ. Fed. de São João del-Rei, Bolsista PIBIC do Convênio CNPq/Embrapa. 3 Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo

Introdução

No Brasil, conforme dados divulgados pela Companhia Nacional de Abastecimento, a produção e a produtividade de grãos ano a ano, como o milho, vem aumentando gradativamente. Este resultado está relacionado ao planejamento adequado feito por produtores – correção do solo, manejo e, sobretudo, investimentos em novas tecnologias facilitadoras do cultivo da cultura do milho. Levando em consideração a grande diversidade de fatores bióticos – pragas, doenças, plantas daninhas – e as variações climáticas observadas globalmente, sobretudo a deficiência hídrica, o avanço do melhoramento genético do milho vem sendo cada vez mais necessário na agricultura para suprir as necessidades do mercado consumidor.

Em um programa de melhoramento de milho, a linhagem é o insumo mais importante, uma vez que serve de veículo para introgressão de características superiores e como base para a obtenção de híbridos, variedades sintéticas e outros tipos de cultivares. Para a geração de novas cultivares de milho, o cultivo pode ser conduzido em campos de multiplicação de sementes, realizando autofecundações, cruzamentos manuais, cruzamentos em campos isolados para obtenção de linhagens, de híbridos e de sintéticos. No aceleração deste processo, utiliza-se de técnicas auxiliares ao melhoramento, como a seleção assistida por marcadores (SAM) e a tecnologia de produção de linhagens duplo-haploides (Borém; Miranda, 2013).

A tecnologia de linhagens duplo-haploides (DHs) é uma metodologia que visa à redução de tempo na obtenção de linhagens homozigotas, baseada na geração de indivíduos haploides e posterior duplicação de seu genoma, por via espontânea ou artificial (Chase, 1952; Prigge; Melchinger, 2011).

Para obtenção de haploides em milho, o método mais utilizado é o protocolo *in vivo*, que consiste no cruzamento de populações-fonte com indutores de haploidia, que são genótipos que possuem a capacidade de induzir a formação de sementes com embriões haploides e de constituição genética baseada nos genes dos genótipos-fonte. Após a duplicação cromossômica, estas plantas são autofecundadas e passam a ser chamadas de linhagens duplo-haploides, uma vez que, para cada cromossomo que a planta haploide possuía anteriormente, passa-se a ter uma cópia exata, o que lhe confere completa homozigose e o mesmo número de cromossomos de uma planta diploide (Prigge; Melchinger, 2011; Trindade et al., 2019). Esta técnica reduz em um ano e meio (três gerações) a obtenção de linhagens homozigóticas, possibilita a obtenção de linhagens com uniformidade e estabilidade genética, com o adicional de resultar em grande variabilidade entre as progênes obtidas, tornando a seleção entre famílias mais eficaz.

Após a obtenção de linhagens DHs de milho, é necessária a avaliação delas como genitoras de híbridos, um processo que acontece com qualquer linhagem. Em milho, a metodologia mais utilizada para avaliação de linhagens é o cruzamento com testadores comuns e a avaliação do desempenho agrônômico dos híbridos obtidos, o chamado TopCross. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho agrônômico de híbridos de milho obtidos a partir de linhagens DHs, em comparação com linhagens obtidas por métodos tradicionais.

Material e Métodos

Os dados utilizados neste trabalho foram obtidos pelo Programa de Melhoramento de Milho da Embrapa Milho e Sorgo, em janeiro de 2019. Os experimentos foram conduzidos nas áreas experimentais da Embrapa Milho e Sorgo, no município de Sete Lagoas, região Central de Minas Gerais.

Os duplo-haploides avaliados neste experimento foram derivados de um campo de indução à duplo-haploidia implantado na Fazenda Experimental da Embrapa Milho e Sorgo, na safra 2017/2018, em que as populações-fonte foram híbridos F1 obtidos pelo cruzamento de linhagens-elite dentro do mesmo grupo heterótico. Após a colheita do campo, procedeu-se à seleção de sementes haploides em cada espiga e à duplicação cromossômica, para obtenção de duplo-haploides de milho.

A obtenção de híbridos para teste em campo se deu por cruzamento de linhagens duplo-haploides, utilizadas como genitoras femininas, com quatro testadores: as linhagens CMS M036 e 5702955, no grupo heterótico Dentado, e as linhagens CMS M035 e 5100290-11, do grupo heterótico Flint, que foram os genitores masculinos. Os cruzamentos se deram em lotes isolados, com despendoamento de todas as plantas dos genitores femininos para que todo o pólen viesse somente das linhagens testadoras. Visando maximizar a expressão da heterose nos híbridos obtidos, no cruzamento das linhagens duplo-haploides com os testadores, foram considerados os grupos heteróticos das populações-fonte de origem de cada DH. Assim, DHs derivadas de populações-fonte do grupo heterótico Flint foram cruzadas com testadores do grupo heterótico Dent, e vice-versa.

Dos lotes isolados foram obtidos 21 híbridos a partir de linhagens duplo-haploides. Estes híbridos foram avaliados juntamente com outros genótipos, totalizando 37 tratamentos, a saber: os 21 híbridos simples derivados de linhagens duplo-haploides, 8 híbridos pré-comerciais (ainda não registrados) e 8 híbridos comerciais. O experimento foi delineado em blocos ao acaso (DBC), com duas repetições e os 37 tratamentos, com parcelas de duas linhas de 4,2 m para cada tratamento, totalizando 148 fileiras.

A implantação do experimento se deu em janeiro de 2019, em área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, de forma mecanizada, com uso de plantadoras de parcelas. O plantio foi efetuado no espaçamento de 4,2 m x 0,70 m, com densidade de plantio de cinco sementes por metro linear. A adubação de plantio, de cobertura e todo o manejo efetuado seguiram as recomendações para a cultura do milho (Coelho, 2006).

Ao final do experimento, em julho de 2019, foram coletados os dados de estande final (ST = número total de plantas por parcela), tombamento e quebramento (TOMB =

número de plantas tombadas e quebradas por parcela), altura de planta (AP = altura média das plantas da parcela, medida da base colmo até a inserção da folha bandeira, em cm), altura de inserção da espiga (AE = altura média da inserção da primeira espiga das plantas da parcela, medida da base colmo até a inserção da primeira espiga, em cm), umidade de grãos na colheita (= UG em %) e peso total de grãos (= PROD, obtido pela conversão de quilos por parcela para toneladas por hectare, padronizado a 13% de umidade dos grãos). A colheita foi realizada de forma mecanizada, colhendo-se duas fileiras por vez e tomando-se automaticamente a umidade de grãos e o peso de grãos por parcela.

Para análise dos dados, efetuou-se análise de variância, em que foram desdobrados os graus de liberdade de genótipo para avaliar a variabilidade entre os híbridos obtidos de linhagens DH, os híbridos experimentais e comerciais, e a comparação entre estes dois grupos. Efetuou-se também a comparação entre médias via teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultado e Discussão

Houve efeito de genótipo para ST, AP, AE e UG (Tabela 1), indicando variabilidade para todos os genótipos avaliados com relação a estas características. Por sua vez, o desdobramento dos graus de liberdade de genótipo para híbridos comerciais e pré-comerciais indicou que esta classe de genótipos apresentou diferenças para AP e AE somente (Tabela 1), o que era esperado em virtude do nível mais avançado de melhoramento em que estes genótipos se encontram (fase comercial ou pré-comercial), o que acarreta menor diferenciação destes genótipos para características agrônomicas como emergência de plantas, estabelecimento de estande, patamar produtivo, resposta a doenças e outras características.

Tabela 1. Estimativas de quadrado médio, médias e componentes genéticos de variância obtidos da avaliação de 37 híbridos experimentais, comerciais e derivados de linhagens duplo-haploides para seis características de interesse agrônomico. Sete Lagoas-MG, 2019.

Fontes de Variação	GL	Quadrado médio		
		ST	TOMB	AP (cm)

Repetição	1	9,135135	3,905428	1409,85135
Genótipos	36	90,093844*	7,370871	560,583333**
Híbridos comerciais e pré-comerciais (HCs)	15	65,63125	4,258333	518,333333**
Híbridos de linhagens duplo-haploides (DHs)	20	96,32381*	9,895238	379,095238**
DHs x HCs	1	332,433438**	3,571597*	4824,095238**
Resíduo	36	48,274024	5,294294	146,934685
Média Geral		28,54	2,68	260,5
Média HEC		30,96	2,43	251,25
Média DHs		26,69	2,88	267,54
Variância Fenotípica		32,81	0,454929	259,16
Variância Genotípica		8,67	0,086179	185,69
H ²		26,44	18,94	71,65
CVg(%)		9,51	21,72	5,42
CVe%		24,34	63,54	4,65
Fontes de Variação	GL	Quadrado médio		
		AE (cm)	UG (%)	PROD (t/há)
Repetição	1	654,054054	0,025735	1,579136
Genótipos	36	348,986486**	0,274141**	8,371175
Híbridos comerciais e pré-comerciais (HEC)	15	366,614583**	0,165552	9,579216
Híbridos de linhagens duplo-haploides (DHs)	20	273,27381	0,368958**	6,519747
DHs x HEC	1	1598,818573*	0,00661	27,2791*
Resíduo	36	156,831832	0,106119	5,909756
Média Geral		138,91	11,86	9,28
Média HEC		133,59	11,87	9,980313
Média DHs		142,97	11,85	8,75
Variância Fenotípica		183,30	0,082776	4,789608
Variância Genotípica		104,89	0,029717	1,83473
H ²		57,22	35,89	38,30
CVg(%)		7,66	1,45	13,57
CVe%		9,01	2,74	26,18

*,**Significativo a 1% e a 5%, respectivamente, pelo teste F. H² = coeficiente de determinação genotípico; CVg = coeficiente de variação genético; CVe = coeficiente de variação experimental; ST = estande final; TOMB = tombamento e quebramento; AP = altura de planta; AE = altura de inserção da espiga; UG = umidade de grãos; PROD = produtividade de grãos em t/ha.

Os híbridos derivados de linhagens duplo-haploides apresentaram variabilidade significativa para ST, AP e UG (Tabela 1). Linhagens DHs têm como característica principal a máxima homozigose, o que proporciona máxima variância entre famílias, e explica a variabilidade para algumas características (Trindade et al., 2019).

O contraste entre híbridos derivados de linhagens duplo-haploides e híbridos comerciais e pré-comerciais indicou diferenças significativas entre estes dois grupos

para todas as características avaliadas, com exceção da UG (Tabela 1). Em geral, os dados coletados indicam superioridade dos híbridos derivados de DHs para TOMB, AP e AE, características para as quais é desejada uma redução dos valores. Por sua vez, os híbridos obtidos de linhagens DH foram superados pelos híbridos comerciais e pré-comerciais em ST e PROD, características para as quais se desejam ganhos por seleção. Embora o desempenho de híbridos DHs seja inferior aos comerciais e pré-comerciais, deve ser considerado o tamanho de amostra, o efeito de testador para cada genótipo obtido, e o desempenho pormenorizado de cada híbrido para as características avaliadas.

Importa ainda salientar os valores de coeficiente de variação experimental (C_{Ve}) que variaram entre 2,74 (UG) e 63,54 (TOMB) indicando grandes variações nos ambientes experimentais, mas também mostrando que existe uma variabilidade inerente aos genótipos em estudo, também evidenciada pelo coeficiente de variação genotípico (C_{Vg}). Cabe destaque ainda aos valores do coeficiente de determinação genotípica (H²) acima de 50% para AP e AE, indicando possibilidade de alteração destas características nos genitores em estudo.

Conclusões

Os híbridos derivados de linhagens duplo-haploides apresentaram produtividade e estande final significativamente inferior a híbridos comerciais e pré-comerciais, derivados de linhagens convencionais. Por outro lado, a altura de planta e a inserção de espiga foram maiores nos híbridos derivados de linhagens DHs.

Referências

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 6. ed. rev. ampl. Viçosa, MG: UFV, 2013. 523 p.

CHASE, S. S. Production of homozygous diploids of maize from monoploids. **Agronomy Journal**, v. 44, p. 263-267, 1952.

COELHO, A. M. **Nutrição e adubação do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 78).

PRIGGE, V.; MELCHINGER, A. E. Production of haploids and doubled haploids in maize. In: LOYOLA-VARGAS, V M; OCHOA-ALEJO, N. (ed.). **Plant cell culture protocols**. 3rd ed. New Jersey: Humana Press, 2011.

TRINDADE, R. dos S.; GUIMARÃES, L. J. M.; SOUZA, I. R. P. de; GUIMARÃES, P. E. de O.; SILVA, A. C. A. da; MARIZ, B. L.; RIBEIRO, M. R. **Efeito do avanço de gerações na indução de haploidia em populações-fonte de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2019. 22 p. (Embrapa Milho e Sorgo. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 193).