

# Retrocruzamento Assistido por Marcadores SSR em Milho: Altura de Espiga

---

XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 01 a 05 de setembro de 2002 - Florianópolis - SC

---

MESQUITA A.G.G., GUIMARÃES C.T., PARENTONI S.N. e PAIVA, E.

Embrapa Milho e Sorgo, CP 151 Sete Lagoas MG 35701-970 [gilsonm@ufac.br](mailto:gilsonm@ufac.br)

Palavras-chave: Milho, Altura da Espiga, Retrocruzamento, Topcross, Microsatélites.

## Introdução

O método do retrocruzamento tem por objetivo recuperar o genótipo do genitor recorrente. O processo envolve a utilização de dois materiais genéticos, sendo um deles adaptado e produtivo, e outro contendo o caráter de interesse que se deseja introduzir (Borém, 1998). As características com alta herdabilidade, controladas por um ou poucos genes, são mais facilmente transferidas por esse método (Fehr, 1987). Os marcadores moleculares apresentam-se como uma alternativa importante para aumentar a eficiência do processo de retrocruzamento uma vez que possibilitam a identificação precoce de indivíduos que tenham maior recuperação do genoma do genitor recorrente (Openshaw et al., 1994; Van Berloo, 1999). A identificação da origem parental de cada região cromossômica pela análise de dados moleculares foi inicialmente proposta por Young e Tanksley (1989), que lançaram o conceito de genotipagem gráfica. Desta forma, são identificados indivíduos que possuem os alelos de interesse ligados a um menor número de alelos indesejáveis do genitor doador, sendo calculada a proporção de recuperação do genótipo recorrente em cada indivíduo da progênie do retrocruzamento. Dentre os vários marcadores moleculares que podem ser usados no monitoramento da recuperação do genótipo recorrente, os microsatélites (SSR) apresentam-se como um dos mais promissores para a ampla utilização nos programas de melhoramento uma vez que são codominantes e multialélicos, fornecendo um elevado nível de informação genética por loco (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

O presente estudo teve por objetivo otimizar o estabelecimento de um programa de retrocruzamento de milho tropical assistido por marcadores SSR, avaliando a eficiência de recuperação do genótipo recorrente e os ganhos de seleção, utilizando-se a altura de espiga como característica de interesse a ser transferida para uma linhagem com elevada capacidade combinatória para a produção de grãos.

## 2. Material e Métodos

### Material genético

Foram utilizadas duas linhagens elite de milho derivadas da variedade CMS-14C, sendo a linhagem L13 escolhida como genitor doador por possuir uma baixa inserção de espiga,

característica quantitativa e de alta herdabilidade a ser transferida, e uma baixa capacidade combinatória. A linhagem L11 foi selecionada como genitor recorrente por apresentar uma excelente capacidade combinatória para produção de grãos e uma alta inserção da espiga.

### **Obtenção e seleção de plantas nos retrocruzamentos**

No primeiro ciclo de retrocruzamento [(L11 x L13) x L11] foram avaliados 523 indivíduos RC<sub>1</sub> para altura de inserção da espiga (AE), altura da planta (AP), número de nós até a espiga (NNE) e número total de nós (NTN), sendo selecionadas 35 plantas que apresentaram AE com um desvio padrão abaixo da média da população. Tais plantas foram genotipadas com marcadores SSR, sendo selecionadas cinco plantas que apresentaram um desvio padrão acima da média de recuperação do genótipo recorrente. As cinco plantas RC<sub>1</sub> selecionadas foram utilizadas para gerar uma população RC<sub>2</sub> de 241 indivíduos, sendo selecionadas 31 plantas segundo os mesmos critérios de seleção utilizados no primeiro ciclo de retrocruzamento.

### **Genotipagem com Marcadores SSR**

O DNA genômico foi extraído segundo a metodologia descrita por Saghai-Marooft et al. (1984). Os *primers* SSR específicos foram adquiridos da Research Genetics, Inc. (Huntsville, AL), cujas seqüências estão publicamente disponíveis no *Maize Genome Database*. Os produtos de amplificação foram separados em gel de agarose 4%, visualizados sob luz ultra-violeta em presença de brometo de etídio e fotodocumentados no Eagle Eye II. Inicialmente foram avaliados 342 *primers* SSR entre as linhagens parentais. No primeiro ciclo de retrocruzamento foram utilizados 27 *primers* polimórficos e no RC<sub>2</sub> foram utilizados 68 marcadores SSR distribuídos homogeneamente no genoma do milho. Os dados moleculares foram codificados como A (homozigoto semelhante ao pai recorrente) e H (heterozigoto), sendo analisados com auxílio do programa Graphical Genotypes - GGT (Van Berloo, 1999).

### **Obtenção e avaliação dos híbridos topcrosses**

Para participarem dos cruzamentos em topcross, foram selecionadas plantas, em cada um dos ciclos de retrocruzamento, utilizando dois critérios: um com base apenas no fenótipo e o outro, além do fenótipo, foram selecionadas as plantas mais próximas ao progenitor recorrente identificadas por meio da genotipagem. Tais plantas RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub> e as linhagens parentais foram cruzadas com o testador L161, obtendo-se ao final 41 híbridos topcrosses que foram avaliados, juntamente com um híbrido comercial altamente produtivo, como testemunha, quanto a AE, AP, NNE, NTN e produção de grãos. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com três repetições, e plantados em Goiânia, Janaúba e Sete Lagoas, no ano agrícola 2001/2002.

## **Resultados e Discussões**

As análises estatísticas realizadas com os 523 indivíduos RC<sub>1</sub> para a altura de inserção da espiga (AE) indicaram uma distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk, com média 1,22 m e desvio padrão 0,15 m. Foram selecionados 35 indivíduos que apresentaram um desvio padrão abaixo da média para a AE, obtendo-se uma redução significativa de 0,22 m na AE, comparada com a média da população. A população de 35 indivíduos RC<sub>1</sub> foi genotipada, apresentando uma média de recuperação do genótipo recorrente de 74,02%, em concordância com a média esperada no RC<sub>1</sub>, que seria de 75%. Foram selecionados cinco indivíduos RC<sub>1</sub> que apresentaram uma

recuperação média do genótipo recorrente de 82,6%, tendo-se obtido plantas com até 84,40%, o que equivaleria a um avanço de aproximadamente dois ciclos de retrocruzamento.

A partir das cinco plantas RC<sub>1</sub> selecionadas foi obtido o segundo ciclo de retrocruzamento constituído por 241 progênies RC<sub>2</sub>. Aplicando-se o mesmo critério de seleção para a AE, foram selecionadas 31 plantas RC<sub>2</sub>, cuja redução média da AE foi de 0,13 m. Após a genotipagem das 31 plantas, foi obtido uma média de recuperação do genótipo recorrente de 91,98%, o que já apresenta uma superioridade em relação à média esperada que seria de 87,5%. Das 31 plantas RC<sub>2</sub>, foram selecionadas 8 plantas com uma média de 96,44%, sendo que duas plantas apresentaram proporção de recuperação de 98,20%, o que equivaleria a uma recuperação no quinto ciclo de retrocruzamento. Tal superioridade é justificável uma vez que a geração RC<sub>2</sub> foi originada de plantas com média de recuperação elevada (82,6%). Estas informações confirmam os resultados obtidos por Opershaw et al. (1994) de que a seleção assistida por marcadores identifica plantas com maior proporção do genoma recorrente e contribui para a redução no número de retrocruzamentos necessários para se obter um adequada recuperação do genitor recorrente, levando a uma redução no tempo e nos custos para a obtenção de novas cultivares a partir de programas de retrocruzamento.

Quanto a característica selecionada com base no fenótipo, na primeira geração de retrocruzamento houve uma redução significativa na média da altura de espigas em torno de 18,5%, sendo que no segundo ciclo, essa redução atingiu cerca de 13,5%. Embora a característica não poder ser comparada entre os ciclos de retrocruzamento devido aos efeitos ambientais, ficou demonstrado que a seleção fenotípica foi eficiente para a redução da altura de inserção das espigas, indicando que ocorreu a transferência dos alelos de interesse. Nas análises de variância dos topcrosses, os coeficientes de variação para as características altura de espiga e peso de espiga despilhada variaram entre 3,79% e 6,04%, e entre 11,92% e 13,75%, respectivamente. Tais coeficientes indicaram que houve uma boa precisão na condução dos experimentos segundo Scapim et al. (1995). Nas análises individuais e na conjunta observou-se que os híbridos obtidos com as linhagens L11 e L13, se mantiveram como os de maior e menor AE, respectivamente, indicando que o testador foi eficiente em discriminar os materiais genéticos. Pela análise conjunta foi determinado que os híbridos apresentaram diferenças significativas quanto a altura da espiga, nos diversos locais, e que, pelo menos um híbrido apresentou desempenho produtivo diferenciado nos vários ambientes. Esse último resultado foi confirmado pelo teste de média Scott-Knott a 5%, que separou os materiais em dois grupos. Houve, ainda, interação significativa entre as linhagens parentais nos diferentes ambientes, indicando que a produção dessas linhagens não foi coincidente entre os ambientes avaliados. De fato, a linhagem L11 foi mais produtiva em Janaúba e em Sete lagoas, ao passo que a L13 conseguiu superá-la, e aos demais híbridos, em Goiânia. Um fato que merece destaque neste estudo foi que todos os híbridos obtidos foram mais produtivos que a testemunha, mostrando o potencial das linhagens obtidas na produção de novos híbridos simples.

## Conclusões

O processo de retrocruzamento assistido por marcadores é uma estratégia viável quando se deseja acelerar a conversão de linhagens elites em milho, uma vez que se pode identificar

plantas com elevado grau de recuperação do genótipo recorrente dentro de uma população segregante. nos ciclos iniciais. O número de marcadores, o tamanho das populações e o índice de seleção, utilizados no presente trabalho, parecem ter sido suficientes para a recuperação do genoma recorrente, uma vez que houve um ganho de até três ciclos de retrocruzamento. No entanto, os híbridos topcrosses recuperam, em média, a capacidade produtiva da linhagem parental recorrente independente da utilização de marcadores moleculares, sendo que todos os híbridos foram mais produtivos que a testemunha, em todos os ambientes, mostrando o potencial produtivo dos materiais avaliados.

### Referências Bibliográficas

- BORÉM, A. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa: UFV, 1998, 547 p.
- FEHR, W.F. **Principles of cultivar development: Theory and Technique**, Macmillan, New York. 1987.
- FERREIRA, M.E., GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2 ed. Brasília: EMBRAPA-Cenargen, 1996. 220p.
- OPENSHAW, S.J., JARBOE, S.G., BEAVIS, W.D. Marker assisted selection in backcross breeding. **Proceedings of the Symposium "Analysis of Molecular Marker Data" Joint Plant Breeding Symposia Series, American Society for Horticultural Science/Crop Science of America**, Corvallis, Oregon, 1994, p. 41-43.
- SAGHAI-MAROOF, M.A., SOLIMAN, K.M., JORGENSON, R., ALLAR, R.W. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.81, p.8014-18, 1994.
- SCAPIM, C. A.; CARVALHO, C. G.; CRUZ, C. D. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.30, n.05, p.683-686, 1995.
- VAN BERLOO, R. GGT: software for the display of graphical genotypes. **J. Heredity**, v.90, p. 328-329. 1999.
- YOUNG, N.D., TANKSLEY, S.D. Restriction fragment length polymorphisms maps and the concept of graphical genotypes. **Theor. Appl. Genet.**, v. 77, p. 95-101. 1989.