

Reciclagem de duas linhagens elites para resistência ao *Colletotrichum graminicola*

Cleso Antônio Patto Pacheco¹, Alexandre da Silva Ferreira¹, Carlos Roberto Casela¹, Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães¹, Elto Eugênio Gomes e Gama¹, Walter Fernandes Meirelles¹ e Sidney Netto Parentoni¹

Introdução

Uma das alterações mais significativas nos programas de melhoramento de milho norte americanos ocorreu na seleção de populações base para extração de linhagens. Os primeiros híbridos duplos, produzidos no início da década de 1930, nos EUA, foram confeccionados com linhagens extraídas de populações abertas, denominadas de linhagens de primeiro ciclo. No entanto, logo se percebeu a possibilidade de se selecionar indivíduos superiores na geração F2 de híbridos simples resultantes do cruzamento de duas linhagens que se complementam mutuamente. As linhagens recuperadas de um F2, ou após um ou dois retrocruzamentos (RC) com um dos progenitores, são chamadas de linhagens de segundo ciclo e esse processo de melhoramento, responsável pela obtenção da maior parte das novas linhagens lançadas nos EUA a partir de 1960 foi denominado de seleção por pedigree (pedigree selection), caracterizado como o melhoramento de uma linhagem elite por meio da adição de alelos favoráveis de uma linhagem complementar [1].

O objetivo geral é melhorar ou obter linhagens recicladas a partir de uma linhagem elite, de boa capacidade geral de combinação, boa produtividade e que tenha larga utilização nos híbridos comerciais. O protocolo utilizado pode variar, dependendo das linhagens incluídas nos cruzamentos, das características a serem introduzidas, do tipo de cruzamento e da geração para o teste da capacidade de combinação. Desse modo os métodos para reciclar linhagens elites podem ser considerados ilimitados e cada linhagem reciclada provavelmente provem de ajustes feitos na seleção por pedigree para o genótipo desejado [2].

Segundo [1] a população segregante ideal deve ter média alta para a característica de interesse e variância genética adequada para obtenção de ganhos com a seleção. Quando os dois progenitores envolvidos são linhagens elites, espera-se que, na ausência de epistasia, a população F2 seja superior. Esses autores investigando o efeito da epistasia na escolha da melhor população segregante para o melhoramento de linhagens concluíram que a escolha entre as populações fonte F2 ou RC depende, principalmente, da

intensidade de seleção. Deve-se usar F2 para altas intensidades de seleção ($\alpha=1\%$) e RC para baixas intensidades de seleção ($\alpha=20\%$). Entretanto, acrescentam que, intuitivamente, quando efeitos epistáticos positivos estiverem fixados nas linhagens progenitoras, haverá vantagem para um retrocruzamento com o melhor progenitor.

Essas indicações concordam com as conclusões de [3] de que a escolha entre F2 e RC se reduz à questão de se a desvantagem da menor média em F2 pode ser superada pela sua maior resposta na seleção. A resposta, entretanto, segundo os autores, não é simples e depende do material e da característica que se quer melhorar. Mas, a utilização da geração F2, para uma característica simples ou um índice linear de seleção para várias características, será melhor que a geração RC quando:

i) as diferenças entre as médias dos testcrosses para as populações F2 e RC forem pequenas comparadas aos desvios padrões genotípicos pertinentes:

ii) a herdabilidade para o critério de seleção é alta e

iii) for utilizada uma alta intensidade de seleção.

O problema é que, enquanto a intensidade de seleção pode ser determinada pelo melhorista, os outros fatores são propriedades específicas dos materiais que estão sendo submetidos à seleção. Por sua experiência o melhorista tem uma boa idéia da herdabilidade das características de interesse e as médias dos topcrosses de F2, RC1 e RC2 podem ser preditas com base nas médias das linhas progenitoras, mas as variâncias genotípicas para os topcrosses não podem ser preditas sem informações adicionais.

O objetivo desse trabalho foi verificar qual a melhor geração de cruzamento para obtenção de linhagens recicladas mais resistentes a antracnose a partir de duas linhagens elites.

Material e métodos

Com base na alta produtividade, adaptabilidade ampla e estabilidade de produção de cinco híbridos híbridos simples do programa de melhoramento de milho do CNPMS, e na alta capacidade geral e específica de combinação de suas linhagens, foram escolhidas as linhagens A e B como progenitores recorrentes (PR). Pela maior disponibilidade de materiais caracterizados e facilidade de inoculação, além da importância do patógeno para a cultura do milho e da

1. Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo. Caixa Postal. 151. Sete Lagoas, MG, CEP 35701-970. Email do primeiro autor: cleso@cnpmc.embrapa.br.

Apoio financeiro: Embrapa e CNPq.

moderada suscetibilidade dos híbridos simples, decidiu-se trabalhar com antracnose foliar.

Como progenitores doadores (PD) foram selecionadas quatro linhagens resistentes à antracnose, denominadas 1, 2, 3 e 4, que foram cruzadas entre si, e com os PR, em esquema dialélico, para a seleção das duas melhores, para serem utilizadas como fonte de resistência a essa enfermidade. Os dois melhores PD, denominados de 1 e 2, foram selecionados em ensaios conduzidos em Goiânia-GO e em Brasilândia-MG, onde foram avaliadas as F2 e as RC1 dos quatro PD cruzados com os dois PR, mais os F2 das seis combinações possíveis entre os quatro progenitores doadores. Por meio de retrocruzamentos e autofecundações sucessivas foram obtidas as gerações: S4(F2), S3(RC1), S2(RC2) e S1(RC3), sob inoculação artificial no campo, a partir das gerações F1: 1xA, 1xB, 2xA e 2xB selecionadas.

Em cada geração de polinização, as plantas foram inoculadas com esporos de *colletotrichum*, suspensos em solução aquosa, por meio de um pulverizador, cerca de 10 dias após a polinização. No final de cada ciclo vegetativo foram selecionadas as plantas de maior sanidade foliar e resistência de colmo à podridão e ao acamamento. Além da preocupação de as populações terem tamanhos equivalentes no início do programa de seleção, não foram adotados cuidados adicionais para a manutenção do tamanho populacional além do mérito das plantas diante do critério de seleção. As 153 progênies avaliadas (Tabela 1) foram avaliadas agronomicamente em topcrosses (TC) com as linhagens complementares, em Sete Lagoas, Goiânia e Londrina, com o PR B e nos dois primeiros locais com o PR A. Nos ensaios de Goiânia ainda foi feita uma seleção fenotípica seguida de anotação da reação às principais doenças nas fileiras pré-selecionadas.

Resultados e discussão

Analisando-se a constituição genética das 153 progênies avaliadas pode-se verificar que a contribuição dos quatro progenitores foi equilibrada, com uma tendência de participação de cerca de 10% maior do PR A e do PD 1. O mesmo não se pode dizer a respeito da contribuição dos diferentes tipos de progênies; houve predominância, 50% das progênies avaliadas, das S2(RC1), seguidas das S3(F2) e dos outros dois tipos de retrocruzamento. Dentro de todos os tipos, especialmente dos S2(RC1), houve maior facilidade na seleção fenotípica das progênies em que participaram os progenitores A e 1 (Tabela 1).

Com base nos resultados dos TC foram selecionadas 15 progênies, correspondendo ao índice de seleção de 10% das progênies avaliadas. A contribuição dos PD foi bastante equilibrada, mas houve uma participação muito menor do PR B, cujo efeito só foi aproveitado quando esse genitor participou com 87,5% do genoma da progênie, pela

seleção de dois indivíduos na geração S1(RC2) (Tabela 1). Importante salientar a baixa frequência de indivíduos selecionados em S3(F2), tipo de progênie que contava com o segundo maior número de representantes.

Esses resultados permitiram verificar que o PR B foi mais importante como testador do que como genitor para esse grupo de linhagens, já que conseguiu discriminar bem as progênies do grupo complementar A, gerando híbridos simples até 21,6% mais produtivos que a testemunha, o híbrido simples comercial resultante do cruzamento dos dois PR (Tabela 2).

A participação do PR A em outros híbridos comerciais da Embrapa, reforça outros resultados do programa de melhoramento (dados não publicados) que demonstram a grande capacidade geral de combinação (CGC) dessa linhagem. Assim, a dificuldade em se obter progênies recicladas do PR B talvez seja devida à uma alta frequência de alelos favoráveis recessivos em homozigose nos locos complementares dominantes no PR A, implicando em alta capacidade específica de combinação (CEC) com o PR A, mas baixa CGC.

Interessante mencionar que dos quinze híbridos selecionados, oito haviam sido pré-selecionados fenotipicamente quanto ao aspecto geral e sanidade foliar, indicando que além de produtivos esses híbridos também se destacaram quanto ao aspecto visual. Entretanto, alguns dos híbridos mais produtivos não foram selecionados quanto ao aspecto de suas plantas, inclusive o mais produtivo deles (Tabela 2).

Pela literatura consultada a complexidade da escolha fica patente porque depende de muitos fatores como: a divergência genética entre os progenitores, a importância dos efeitos epistáticos no valor genético dos progenitores, da herdabilidade do caráter que é dependente do número de genes envolvidos na expressão do caráter e do objetivo do melhorista. Afirma que, quando o objetivo do melhorista é a obtenção de linhagens recicladas e estão envolvidas duas linhagens elites com alta pressão de seleção, parece não haver dúvidas a respeito da maior vantagem da utilização da geração F2, apesar de o trabalho e o tempo gastos para obtenção da F2 e da RC1 serem os mesmos. Assim é provável que a superioridade dos RC1 nesse trabalho possa ser explicada pela divergência genética entre os PR e os PD.

Nesse caso em que o maior valor do PD está na resistência a um fator biótico e o objetivo é a introgressão de poucos genes visando melhorar uma linhagem elite para uma característica simples, como a resistência à uma determinada doença ou tolerância a uma praga, cujos genes foram doados por um progenitor qualquer em que esses genes estejam fixados ou em altas frequências, seja ele elite ou não, a discussão passa a ser sobre qual a melhor geração de retrocruzamento. E, nesse caso, como alerta [2], a menos que um grande cuidado seja tomado na seleção em cada retrocruzamento os efeitos da característica que está sendo incorporada serão diluídos nas gerações de retrocruzamento subsequentes.

Estes resultados permitem concluir que, na reciclagem dessas duas linhagens elites, a geração RC1 se mostrou mais apropriada que a geração F2 para a extração de linhagens; nessa geração o número de

progênes selecionadas foi pouco afetado pelo PD mas foi extremamente dependente do PR.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo auxílio e estímulo da Produtividade em Pesquisa.

Referências

[1] LAMKEY, K.R.; SCHNICKER, B.J.; MELCHINGER, A.E. Epistasis in the elite maize hybrid and choice of generation for inbred line development. *Crop Science*, v. 35, p.1272-1281, 1995.

[2] HALLAUER, A.R. Methods used in developing maize inbreds. *Maydica*, v.35, p.1-16, 1990

[3] MELCHINGER, A.E.; SCHMIDT, W.; GEIGER, H.H. Comparison of testcrosses produced from F2 and first backcross populations in maize. *Crop Science*, v.28, p.743-749, 1988.

Tabela 1. Composição genotípica de 153 progênes recicladas de duas linhagens recorrentes elites (A e B) a partir de duas linhagens doadoras (1 e 2) de genes para resistência a antracnose, avaliadas na safra 2005/2006 e das 15 progênes selecionadas.

| Progenitor | Progênes avaliadas | | | | | | | | | | Progênes selecionadas | | | | | | | | | |
|-------------------|--------------------|-------|---------|-------|---------|-------|-----|-------|-------|--------|-----------------------|------|---------|------|---------|------|-----|------|-------|-----|
| | Geração | | | | | | | | | | Geração | | | | | | | | | |
| | S3(F2) | | S2(RC1) | | S1(RC2) | | RC3 | | Total | | S3(F2) | | S2(RC1) | | S1(RC2) | | RC3 | | Total | |
| Doador | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| 1 | 16 | 10.46 | 50 | 32.68 | 14 | 9.15 | 10 | 6.54 | 90 | 58.82 | 1 | 0.65 | 4 | 2.61 | 2 | 1.31 | 1 | 0.65 | 8 | 5.2 |
| 2 | 15 | 9.80 | 27 | 17.65 | 13 | 8.50 | 8 | 5.23 | 63 | 41.18 | 0 | 0.00 | 3 | 1.96 | 3 | 1.96 | 1 | 0.65 | 7 | 4.5 |
| Total | 31 | 20.26 | 77 | 50.33 | 27 | 17.65 | 18 | 11.76 | 153 | 100.00 | 1 | 0.65 | 7 | 4.58 | 5 | 3.27 | 2 | 1.31 | 15 | 9.8 |
| Recorrente | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| A | 20 | 13.07 | 45 | 29.41 | 15 | 9.80 | 11 | 7.19 | 91 | 59.48 | 1 | 0.65 | 7 | 4.58 | 3 | 1.96 | 2 | 1.31 | 13 | 8.5 |
| B | 11 | 7.19 | 32 | 20.92 | 12 | 7.84 | 7 | 4.58 | 62 | 40.52 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 | 2 | 1.31 | 0 | 0.00 | 2 | 1.3 |
| Total | 31 | 20.26 | 77 | 50.33 | 27 | 17.65 | 18 | 11.76 | 153 | 100.00 | 1 | 0.65 | 7 | 4.58 | 5 | 3.27 | 2 | 1.31 | 15 | 9.8 |

Tabela 2. Pedigree esquemático, distribuição em função da geração de cruzamento das 15 progênes selecionadas e nome do híbrido que está sendo avaliado no ensaio preliminar de cultivares na safra 2006/2007.

| Linhagem | F2 | RC1 | RC2 | RC3 | %Rel | Híbrido | Pedigree |
|--------------|----|-----|-----|-----|--------------|---------|--------------------|
| (1xA) | 1 | | | | 109.5 | 1F557 4 | Bx(1xA) |
| ((1xA)xA) | | 1 | | | 108.9 | 1F558 4 | Bx((1xA)xA) |
| ((1xA)xA) | | 1 | | | 110.1 | 1F560 4 | Bx((1xA)xA) |
| ((1xA)xA) | | 1 | | | 112.0 | 1F561 4 | Bx((1xA)xA) |
| ((1xA)xA) | | 1 | | | 103.6 | 1F562 4 | Bx((1xA)xA) |
| ((1xA)xA)xA) | | | 1 | | 121.6 | 1F559 4 | Bx(((1xA)xA)xA) |
| ((1xA)xA)xA) | | | | 1 | 104.9 | 1F563 4 | Bx(((1xA)xA)xA)xA) |
| ((2xA)xA) | | 1 | | | 107.4 | 1F564 4 | Bx((2xA)xA) |
| ((2xA)xA) | | 1 | | | 107.2 | 1F565 4 | Bx((2xA)xA) |
| ((2xA)xA) | | 1 | | | 104.1 | 1F566 4 | Bx((2xA)xA) |
| ((2xA)xA)xA) | | | 1 | | 102.8 | 1F567 4 | Bx(((2xA)xA)xA) |
| ((2xA)xA)xA) | | | 1 | | 105.8 | 1F569 4 | Bx(((2xA)xA)xA) |
| ((2xA)xA)xA) | | | | 1 | 108.6 | 1F568 4 | Bx(((2xA)xA)xA)xA) |
| ((1xB)xB) | | | 1 | | 101.8 | 1F584 4 | Ax(((1xB)xB)xB) |
| ((2xB)xB) | | | 1 | | 111.1 | 1F585 4 | Ax(((2xB)xB)xB) |
| Média | | | | | 108.0 | | |

Onde: 1 e 2: genitores doadores; A e B: genitores recorrentes e testadores; F2: segunda geração filial; RC: geração de retrocruzamento com o genitor recorrente; %Rel: Produção percentual em relação à testemunha (Híbrido simples comercial - AxB) com identificação (negrito) dos híbridos pré-selecionados com base em avaliação fenotípica e de reação às principais enfermidades.