



TAXAS DE INDUÇÃO DO KHI NA OBTENÇÃO DE HAPLOIDES EM FUNÇÃO DE DIFERENTES TEXTURAS DOS GRÃOS DE MILHO

Diego Yassuo Kuroda (PIBIC/CNPq/UEM), Alessandra Guedes Baleroni, Hingrid Ariane da Silva, Amanda Tami Kuroda, Carlos Alberto Scapim (Orientador), e-mail: cascapim@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias / Maringá, PR.

Palavras-chave: indução de haploidia, *R-navajo*, *Zea mays*.

Resumo:

A tecnologia de produção de duplo-haploides (DH) destaca-se nos programas de melhoramento de milho devido à possibilidade de redução no tempo de obtenção de linhagens. Os objetivos do trabalho foram obter sementes haploides de diferentes genótipos, separar as sementes potencialmente haploides, mediante a coloração por antocianina atribuída pelo gene *R1-nj* e analisar a possível taxa de indução de haploidia em função da textura do grão. Para isso, a identificação preliminar dos haploides é essencial. Foi realizado o cruzamento *in vivo* entre a variedade sintética indutora de haploidia *KHI* e três híbridos F_1 's na safrinha 2014/2015. Para determinação das possíveis taxas de indução foi avaliado o número total de sementes de cada espiga e o número de sementes caracterizadas como possíveis haploides por meio do marcador morfológico indicador de haploidia *R-navajo*. Foram obtidas cerca de oito espigas de cada genótipo cruzado com o indutor *KHI*. O híbrido AG 1051 de endosperma dentado apresentou maior taxa média de indução dos possíveis haploides (13,51%). Em contrapartida, o híbrido Cargo de grãos duro teve a menor taxa média de indução (6,26%) entre os genótipos estudados.

Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho do mundo. Essa cultura apresenta um importante papel na economia mundial. O processo convencional de obtenção de linhagens, em programas de melhoramento comercial de milho, é dispendioso e leva de seis a oito gerações de autofecundação para atingir a homozigose, enquanto que a tecnologia dos duplo-haploides permite reduzir esse tempo em pelo menos 18 meses (Milach, 2007). As sementes haploides podem ser identificadas por marcadores morfológicos, como o gene *R1-nj*, porém a grande limitação do



uso da tecnologia DH na obtenção de linhagens envolve a baixa taxa de indução alcançada e a dificuldade de identificação de plantas efetivamente haploides. (Nanda e Chase, 1966).

Dessa forma, os objetivos do trabalho foram obter sementes haploides de diferentes genótipos, separar as sementes potencialmente haploides, mediante a coloração por antocianina atribuída pelo gene *R1-nj* e analisar a possível taxa de indução de haploidia em função da textura do grão.

Materiais e métodos

O campo de polinização foi instalado na safrinha 2014/2015, na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI). O lote foi composto por duas fileiras de 3m de cada híbrido F_1 e 20 fileiras de 3m da variedade indutora. Os híbridos F_1 's foram semeados todos em uma única época e o indutor foi semeado em cinco épocas diferentes, quatro fileiras por semana, sendo a primeira semeadura na mesma época da semeadura dos híbridos F_1 's. No momento da floração foi realizada a polinização manual, coletando o pólen da variedade indutora em "bulk" e depositando-o nos estigmas receptivos dos híbridos F_1 's de diferentes texturas de grãos (Tabela 1).

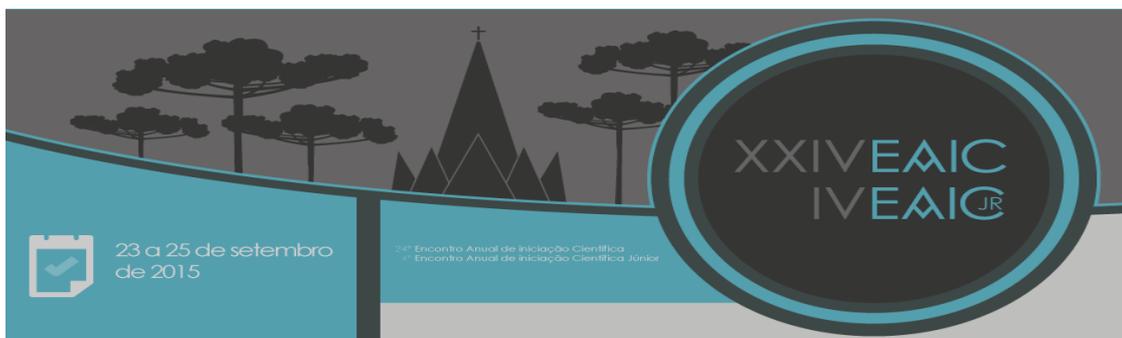
Tabela 1 - Identificação dos híbridos utilizados para indução de haploidia.

Híbridos	Textura do grão	Origem
AG 1051	Dentado	Agroceres
P 30B30	Semiduro	Pioneer
Cargo	Duro	Syngenta

Após a colheita das espigas obtidas desses cruzamentos, as sementes foram secas a 14% de umidade e debulhadas individualmente. Posteriormente contou-se o número de sementes por espiga e as mesmas foram separadas visualmente pela coloração do endosperma e do embrião para determinação da possível taxa de indução de haploidia. Sementes contendo embrião haploide foram identificadas pela coloração roxa somente no endosperma, devido à presença de antocianina, e coloração branca do embrião (Nanda e Chase, 1966).

Resultados e Discussão

Dos cruzamentos realizados com o indutor de haploidia *KHI* foram obtidas cerca de 8 espigas de cada genótipo com expressão de antocianina em algumas sementes, devido à presença do gene *R1-nj*. As sementes que não foram pigmentadas podem ser provenientes de contaminação com pólen externo ou ser resultante da influência do *background* genético do parental



feminino (Rabel, 2008). As sementes que apresentaram pigmentação arroxeadada no endosperma e o embrião sem coloração foram selecionadas como possíveis haploides e aquelas com coloração roxa tanto no endosperma quanto no embrião foram identificadas como diploides. As demais foram denominadas como contaminação (Figura 1).



Figura 1 – Separação dos possíveis haploides.

A partir da separação das sementes possivelmente haploides por meio da expressão do gene *R1-nj*, foi determinada a taxa média de indução de haploidia para os três híbridos induzidos (Tabela 2).

Tabela 2 - Taxa média de indução dos possíveis haploides dos três híbridos induzidos a haploidia.

Híbrido	Possíveis haploides (PH)	Total de sementes	Taxa média de indução dos PH (%)
AG 1051	155	1147	13,51
P 30B30	96	1181	8,13
Cargo	47	751	6,26

A taxa média de indução em função do *R-navajo* variou entre os genótipos que apresentam diferentes texturas de grãos, conforme pode ser visualizado na Tabela 2. O híbrido AG 1051 de grãos dentados apresentou a maior taxa média que foi de 13,51% e suas sementes foram as mais fáceis de separar pela coloração do endosperma e embrião devido ao seu formato achatado, o que proporciona uma maior área de exposição do embrião fazendo com que este seja visualizado com mais clareza. Por outro lado o híbrido Cargo de grãos duros teve a menor taxa média de indução (6,26%) e foram os mais difíceis de separar, pois suas sementes apresentavam formato mais arredondado dificultando a visualização da expressão do *R1-nj* no embrião. O híbrido P 30B30 apresentou uma taxa média de indução intermediária entre os genótipos estudados, a qual foi de 8,13%.



Eder e Chalyk (2002), Röber et al. (2005), dentre outros autores também encontraram diferenças ao avaliar diversos germoplasmas aliados a diferentes texturas de grãos.

Conclusões

O híbrido AG 1051 de endosperma dentado apresentou maior taxa média de indução dos possíveis haploides (13,51%). O híbrido Cargo de grãos duro teve a menor taxa média de indução (6,26%) entre os genótipos estudados.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro.

Referências

EDER, J.; CHALYK, S. *In vivo* haploid induction in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, n. 104, p. 703-708, 2002.

MILACH, S. C. K. O melhoramento de milho. **Informativo Pioneer**, ano XII, n. 25, p. 16-17, 2007.

NANDA, D.K.; CHASE, S.S. An embryo marker for detecting monoploids of maize (*Zea mays L.*). **Crop Science**, n. 6, p. 213-215, 1966.

RABEL, M. **Haploides androgenéticos em milho tropical**. 2008. 69f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

RÖBER, F. K.; GORDILLO, G. A.; GEIGER, H. H. *In vivo* haploid induction in maize – Performance of new inducers and significance of doubled haploid lines in hybrid breeding. **Maydica**, n. 50, p. 275-283, 2005.