



UTILIZAÇÃO DO INDUTOR KHI PARA A OBTENÇÃO DE HAPLOIDES DE MILHO COM DIFERENTES TEXTURAS DE GRÃO

Hans dos Santos Lima (PIBIC/CNPq/UEM), Alessandra Guedes Baleroni, Hingrid Ariane da Silva, Ronald José Barth Pinto (Orientador), e-mail: hans.lima94@gmail.com.

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

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

Resumo:

A produção de duplo-haploides (DH) tende a reduzir o tempo necessário à obtenção de linhagens em programas de melhoramento de milho. A indução de haploidia e a subsequente a duplicação do material genético são etapas fundamentais nesse processo. Este trabalho objetivou a obtenção de sementes haploides de diferentes genótipos, a verificação da eficiência da identificação das sementes haploides, pela expressão do gene *R1-nj*, e a análise da relação entre a taxa de indução de haploidia e a textura dos grãos de milho. Para tanto, plantas do sintético KHI forneceram pólen para dois híbridos semiduros (P2530 e P3989) e um híbrido de pipoca (IAC 125). A taxa de indução foi estimada a partir da relação entre o número total de sementes produzidas em cada cruzamento e o número de sementes possivelmente haploides, identificadas pelo marcador morfológico R-navajo, mediante a coloração roxa no endosperma e a coloração branca do embrião. Foram realizados testes de qui-quadrado para verificar a significância das diferenças entre o número observado de haploides, obtidos na indução com KHI, e o número de haploides naturalmente esperado. A separação das sementes pela coloração do endosperma e do embrião, devida à presença do gene *R1-nj*, não foi totalmente eficiente. As taxas de indução real foram de 16,50, 22,00 e 31,75% para os híbridos P2530, P3989 e IAC125, respectivamente, situando-se bem acima do valor de indução natural (0,1%), permitindo concluir que o sintético KHI foi efetivo na indução de haploidia.



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Ciência, Tecnologia
e Ensino Superior



Introdução

O processo convencional de obtenção de linhagens de milho é demorado, levando entre seis e oito gerações de autofecundação para produzir a plena homozigose. A tecnologia dos duplo-haploides (DH) 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*, mas existe uma grande limitação desta tecnologia devido à baixa taxa de indução alcançada e à dificuldade de identificação de plantas efetivamente haploides (Nanda e Chase, 1966). Os objetivos do trabalho foram obter sementes haploides de diferentes genótipos, separar as sementes potencialmente haploides (mediante a coloração por antocianina atribuída ao gene *R1-nj*) e analisar a taxa de indução de haploidia em função da textura do grão.

Materiais e métodos

Os cruzamentos foram realizados na FEI (UEM), em Iguatemi, Maringá-PR, durante a safrinha 2015/2016, com o uso de duas fileiras de 3m para cada híbrido e 20 fileiras de 3m para o indutor KHI. Os híbridos foram semeados na mesma época e o indutor em 5 épocas diferentes. Durante a polinização, o pólen do indutor foi coletado em “bulk” e colocado nos estigmas das espigas dos híbridos P2530 e P3989 (semiduros) e IAC125 (milho pipoca). Após o beneficiamento das espigas e sementes obtidas desses cruzamentos, a taxa de indução de haploidia foi estimada pela contagem do número de sementes por espiga e pela separação das sementes possivelmente haploides, identificadas pela coloração roxa do endosperma, devido à presença de antocianina, com simultânea coloração branca do embrião (Nanda e Chase, 1966).

Resultados e Discussão

Nos cruzamentos realizados, houve a expressão de antocianina em algumas sementes, devido à presença do gene *R1-nj*. As sementes não pigmentadas podem ser provenientes de contaminação com pólen externo ou resultantes do fundo genético do parental feminino (Rabel, 2008). As sementes com pigmentação roxa no endosperma e sem coloração no embrião foram





selecionadas como possíveis haploides. As sementes de coloração roxa, tanto no endosperma quanto no embrião, foram identificadas como diploides. As demais foram contabilizadas como contaminações.

A partir da separação das sementes possivelmente haploides, foi determinada a taxa média de indução de haploidia para os híbridos induzidos (Quadro1).

Quadro 1 - Resultado do teste de qui-quadrado (χ^2) para a taxa de possíveis haploides obtidos *in vivo* e a taxa de haploides esperados pela indução natural

Híbrido	Espiga	Total de sementes	Possíveis haploides pelo (R-navajo)	Possíveis haploides germinados	Possíveis haploides pelo fenótipo	T.I. real (%)	Haploides esperados (0,1%)	χ^2_c
P2530	3	131	21	17	0	0,00	0,13	0,13
	4	129	25	23	3	2,36	0,13	63,90*
	23	170	28	23	1	0,61	0,17	4,05*
	52	232	26	25	10	4,33	0,23	411,27*
IAC125	6	158	24	24	0	0,00	0,16	0,16
	10	237	38	35	0	0,00	0,24	0,24
	12	117	26	25	1	0,86	0,12	6,66*
	19	244	13	13	1	0,41	0,24	2,34
P3989	2	377	38	37	4	1,06	0,38	34,82*
	27	225	27	22	8	3,64	0,23	268,67*
	42	113	13	12	0	0,00	0,11	0,11
	46	157	22	20	1	0,65	0,16	4,53*

T.I.: taxa de indução; χ^2_c : qui-quadrado calculado; *: significativo a 5% de probabilidade.

A taxa média de indução variou entre os genótipos, conforme visualizado no Quadro 1. O híbrido P3989, semiduro, apresentou uma taxa média de 22% e suas sementes foram as mais fáceis de separar pela coloração do endosperma e embrião devido ao seu formato achatado, o qual proporcionou uma maior área de exposição do embrião, permitindo uma visualização mais





clara. Por outro lado, o híbrido IAC125, de milho pipoca, teve a maior taxa média de indução (31,75%), oferecendo maior dificuldade de separação de grãos, pois suas sementes têm formato arredondado e dificultam a visualização da expressão do *R1-nj* no embrião. O híbrido P2530, de grãos semiduros, apresentou 16,5% de taxa de indução, valor intermediário entre os genótipos estudados. 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 sintético KHI foi efetivo na indução de haploidia, ocorrendo variação em seus cruzamentos com diferentes genótipos. Entre os genótipos estudados, o híbrido IAC125 apresentou a maior taxa média de indução (31,75%), cabendo ao híbrido P2530 a menor taxa média de indução (16,5%)

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.

