

Validação de QTLs para Resistência à Virose Mosaico Comum em Milho

Isabel Regina Prazeres de Souza¹, Silvia Neto Jardim Belicuas², Claudia Teixeira Guimarães³, Elizabeth de Oliveira⁴, ⁵Gabriel Corradi Azevedo⁵ e Flavia Ferreira Mendes⁶

^{1,2,3,4}Embrapa milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. ¹isabel@cnpms.embrapa.br, ²silvia@cnpms.embrapa.br, ³claudia@cnpms.embrapa.br, ⁴beth@cnpms.embrapa.br ⁵Doutorando da Universidade Federal de Minas Gerais e bolsista CAPES ⁵gabriel_portoreal@yahoo.com.br e ⁶Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas flvmendes2001@yahoo.com.br

RESUMO - Em nível mundial, seis espécies de *Potyvirus* têm sido identificadas causando sintomas de mosaico no milho. Dentre essas espécies de potyvirus, *Sugarcane mosaic virus* foi identificada como predominante em milho, com sintomas da virose denominada mosaico comum no Brasil. O aumento da área plantada com milho nos últimos anos, associado ao cultivo na safrinha (plantio de janeiro a março), tem ampliado a permanência da cultura em campo contribuindo para o incremento na incidência da virose mosaico comum e para manutenção do inóculo em campo. Perdas de até 50% na produção podem ser verificadas em plantas com essa virose. O objetivo deste trabalho foi identificar QTLs conferindo resistência ao mosaico, validando-os em uma segunda população de milho tropical. Foram identificados dois QTLs, sendo o de efeito maior no cromossomo 3 (bin 3.04). Ambos os QTLs foram coincidentes com dados publicados anteriormente. No entanto, além de um efeito superior, o QTL do cromossomo 3 foi expresso nos dois anos avaliados, apresentando grande potencial para ser utilizado em programas de melhoramento visando o desenvolvimento de cultivares resistentes.

Palavras-chave: *Zea mays* L, marcadores microssatélites, *Sugarcane mosaic virus*, *Potyvirus*.

Introdução

Estudos envolvendo o sequenciamento da capa proteica e testes sorológicos identificaram o *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) como a estirpe de potyvirus predominante na cultura do milho no Brasil (Almeida et al., 2001; Souza et al., 2005; Gonçalves et al., 2011).

Os sintomas de mosaico, causados pelo SCMV, podem ser facilmente identificados, em plantas jovens de milho e tendem a desaparecer quando as plantas atingem a maturidade. Nas folhas formam-se áreas cloróticas entremeadas com áreas verdes, em padrão de mosaico (Shurtleff, 1986) (Figura1).

Os potyvirus que causam o mosaico comum são transmissíveis mecanicamente, e são disseminados, em condições naturais, por várias espécies de pulgões, principalmente por *Rhopalosiphum maidis*, o pulgão do milho (Edwardson e Christie, 1991). Desta forma, o controle da doença por meio de agentes químicos não é efetivo, sendo o cultivo de cultivares resistentes o método mais eficiente de controle de vírus.

Estudos sobre a resistência ao SCMV têm sido conduzidos com germoplasma de milho dos Estados Unidos, da China e da Europa (Louie et al., 1991; Zhang-Ying et al., 2008; Uzarowska et al., 2009). Entretanto, informações envolvendo a base genética da resistência ao SCMV em germoplasma tropical de milho ainda são escassas (Souza et al., 2008). O presente trabalho teve por objetivo identificar QTLs conferindo resistência ao mosaico, visando à validação desses QTLs em uma população de milho tropical, distinta da utilizada por Souza et al., 2008. A identificação de QTLs estáveis em diferentes backgrounds genéticos e ambientes é altamente desejável para a sua utilização em programas de seleção assistida visando o desenvolvimento de cultivares resistentes.

Material e Métodos

Linhas de milho contrastantes quanto à resistência ao mosaico comum do milho, L1 (resistente) e L2 (susceptível), foram utilizadas em cruzamentos para obtenção da população estruturada de mapeamento. A genotipagem com 72 marcadores SSR polimórficos entre os parentais e distribuídos ao longo do genoma foi realizada em 127 indivíduos F_2 , cujo DNA foi extraído das folhas, conforme protocolo de Saghai-Marooof et al. (1984). As 127 famílias $F_{2:3}$, obtidas da autofecundação dos indivíduos F_2 , foram inoculadas artificialmente e avaliadas em dois anos, conforme descrito por Souza et al. (2008). O inóculo foi obtido em campo, em plantas de milho expressando os sintomas da doença. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com duas repetições, sendo cada família representada por 20 plantas/parcela perfazendo um total de 40 plantas por família.

A diagnose foi realizada visualmente, com base nos sintomas característicos da virose, considerando-se a presença (susceptível) ou ausência (resistente) de sintomas de mosaico e empregou-se o percentual de plantas resistentes.

Os mapas de ligação foram construídos com base nos marcadores que apresentaram segregação mendeliana (1:2:1) e as análises, realizadas empregando-se o programa MapMaker/EXP versão 3.0 (Lander et al., 1987). As análises de QTL foram realizadas por meio do mapeamento por intervalos múltiplos (Kao et al., 1999) empregando-se o programa QTL Cartographer versão 2.5 (Wang et al., 2007) e o limite de significância calculado pelo Critério de Informação Bayesiana (*Bayesian Information Criteria* – BIC) de acordo com as instruções do programa.

Resultados e Discussão

As análises de variâncias, realizadas previamente (dados não mostrados), permitiram a detecção de variabilidade fenotípica ($p < 0,01$) para a porcentagem de plantas resistentes ao SCMV, e possibilitaram estimar herdabilidades (h^2) de magnitudes altas, 82,1 e 92,2%, nos dois anos de avaliação, respectivamente.

Dois QTLs associados com a resistência ao mosaico foram detectados nos cromossomos 3 e 6 (Tabela 1, Figura 2). O QTL do cromossomo 3 apresentou um efeito maior e foi expresso nos dois anos de avaliação, explicando entre 61 e 79% da variância fenotípica da resistência nos anos 1 e 2, respectivamente. Grande parte dos efeitos do QTL do cromossomo 3 foram aditivos, sendo também detectados efeitos menores devido à dominância nos dois anos. A região genômica desse QTL é coincidente com os QTLs Scm2a e Scm2b, identificados por Souza et al. (2008) em germoplasma tropical.

No presente estudo, o QTL do cromossomo 3 (bin 3.04) apresentou elevados valores para R^2 em ambos os anos, indicando que esta característica deve apresentar poucos genes (QTLs) em seu controle genético, corroborando com as altas estimativas de herdabilidade. Entretanto, Souza et al. (2008) identificaram dois QTLs, Scm2a e Scm2b no bin 3.04, levantando-se a possibilidade de que seja necessária maior saturação de marcadores nessa região genômica para confirmação da existência de dois QTLs independentes e ligados. Para aumentar a resolução do mapeamento nessa região, a genotipagem com SNPs está sendo realizada. O QTL Scm1, bin 6.05, apresentou interação interalélica AA. Neste estudo, os QTLs do cromossomo 3 e 6 foram validados em um diferente *background* genético, utilizando uma fonte robusta de resistência. Como o QTL do cromossomo 3 foi estável nos dois anos e apresentou um efeito elevado, essa região é um alvo potencial para ser introgridida em linhagens susceptíveis à virose mosaico comum, via seleção assistida por marcadores moleculares.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo suporte financeiro

Literatura citada

ALMEIDA, A. C. L.; OLIVEIRA, E.; RESENDE, R. O. Fatores relacionados à

incidência e disseminação do vírus do mosaico comum do milho. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 6, n. 4, p. 766-769, 2001.

EDWARDSON, J. R.; CHRISTIE, R. G. *The potyvirus group*. Gainesville: University of Florida Agricultural Experiment Station, 1991. (Monograph, 16).

GONÇALVES, M. C.; GALDEANO, M. D.; MAIA, I. G.; CHAGAS, C. M. Variabilidade genética de *Sugarcane mosaic virus*, causando mosaico em milho no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 46, p. 362-369, 2011.

KAO, C.; ZENG, H.; TEASDALE, R. D. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics*, Austin, v. 152, p. 1203-1216, 1999.

LANDER, E. S.; GREEN, P.; ABRAHAMSON, J.; BARLOW, A.; DALY, M. J.; LINCOLN, S. E.; NEWBERG, L. A. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experiment and natural populations. *Genomics*, San Diego, v. 1, p. 174-181, 1987.

LOUIE, R.; FINDLEY, W. R.; KNOKE, J. K.; MCMULLEN, M. D. Genetic basis of resistance in maize to five maize dwarf mosaic virus strains. *Crop Science*, Madison, v. 31, p. 14-18, 1991.

SAGHAI-MAROOF, M. A.; SOLIMAN, K. M.; JORGENSON, R.; ALLAR, R. W. Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 81, p. 8014-8018, 1984.

SHURTLEFF, M. C. *Compendium of corn diseases*. 2nd. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1986. 105 p.

SOUZA, I. R. P.; SCHUELTER, A. R.; GUIMARÃES, C. T.; CHUSTER, I.; OLIVEIRA, E. de; REDINBAUGH, M. Mapping QTL contributing to SCMV resistance in tropical maize. *Hereditas*, Lund, v. 145, p. 167-173, 2008.

SOUZA, I. R. P.; LENARDON, S.; GIOLITTI, F. J.; OLIVEIRA, E.; CARNEIRO, N. P.; GOMES, E. A. Identification of the potyvirus species in maize, sorghum and sugarcane from Brazil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 51., 2005, Águas de Lindóia. Resumos. Águas de Lindóia: SBG, 2005. p. 64.

UZAROWSKA, A.; DIONISIO, G.; SARHOLZ, B.; PIEPHO, H-P.; XU, M.; INGVARSDEN, C.; WENZEL, G.; LÜBBERSTEDT, T. Validation of candidate genes putatively associated with resistance to SCMV and MDMV in maize (*Zea mays* L.) by expression profiling. *BMC Plant Biology*, v. 9, n15, p. 1-15, 2009.

WANG, S.; BASTEN, C. J.; ZENG, Z. B. *Windows QTL cartographer 2.5.010*. Raleigh: North Carolina State University, 2011.

ZHANG-YING, X.; SHU-HONG, Z.; XIN-HAI1, L.; CHUAN-XIA, X.; MING-SHUN,

L.; ZHUAN-FANG, H.; DE-GUI, Z.; YE-HONG, L.; LI, B.; SHI-HUANG, Z.
 Identification and mapping of a novel sugarcane mosaic virus resistance gene in maize.
 Acta Agronomica Sinica, v. 34, n. 9, p. 1494-1499, 2008.

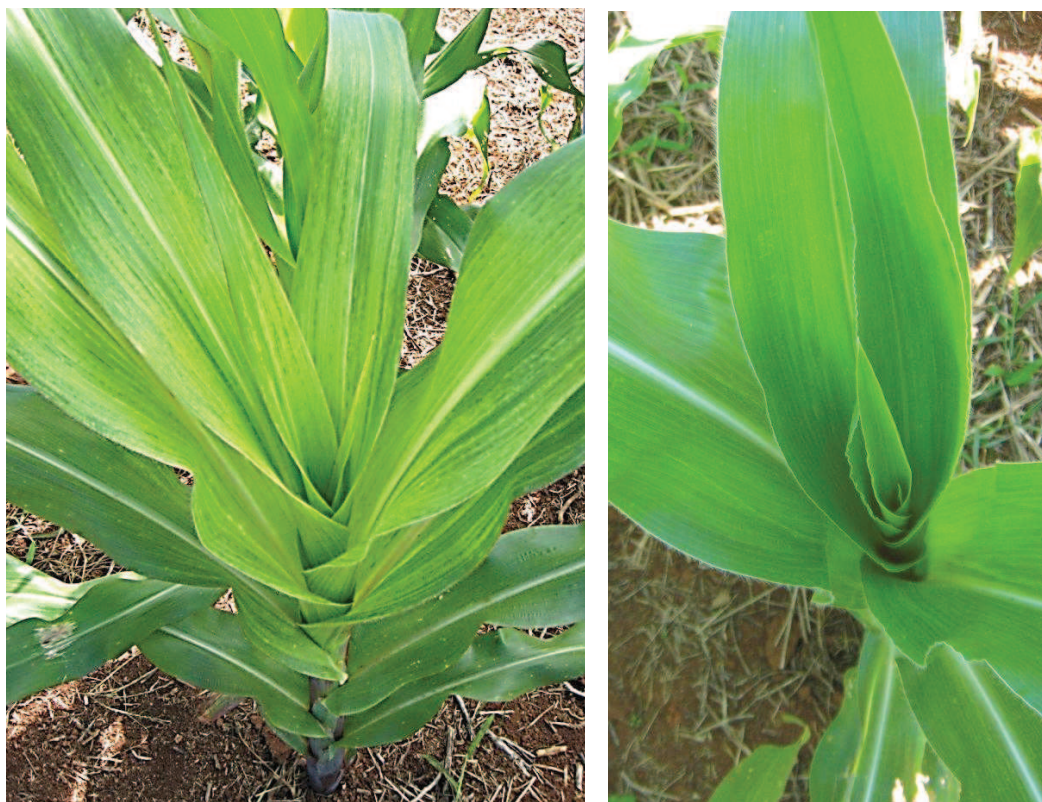


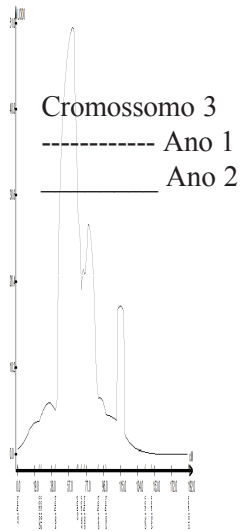
Figura 1. Comparação de folhas de milho com áreas cloróticas entremeadas com áreas verdes, em padrão do sintoma de mosaico e folhas sem sintomas.

Tabela 1. QTLs associados com a resistência ao SCMV em população de milho tropical detectados pelo mapeamento por intervalo múltiplo.

QTL	Bin ¹	Posição (cM) ²	Marcador Flanqueando	Efeitos Gênicos ⁴			Ação ⁵ Gênica	R ² (%) ³
				d	a	[d/a]		
Scm2 (Ano1)	3.04	61,17	bnlg1904	14,39	25,81	0,56	DP	61,0

Scm2 (Ano2)	3.04	61.18	bnlg1904	16.74	46,76	0,36	DP	79,2
Scm1 (Ano1)	6.05	101,15	nc012	0,14	4,69	0,03	A	2,4
			Scm2xScm1 (Ano1)		-7,13		AA	6,0

¹Posição do marcador no cromossomo; ²distância em cM em relação ao início do grupo de ligação; ³R² é a proporção da variância fenotípica explicada para cada QTL; ⁴a e d são, respectivamente, as estimativas dos efeitos aditivo e de dominância; ⁵Ação Gênica (DP: dominância parcial; A: Aditiva; AA: Epistática Aditiva por Aditiva).



Cromossomo 6
Ano1

Scm1

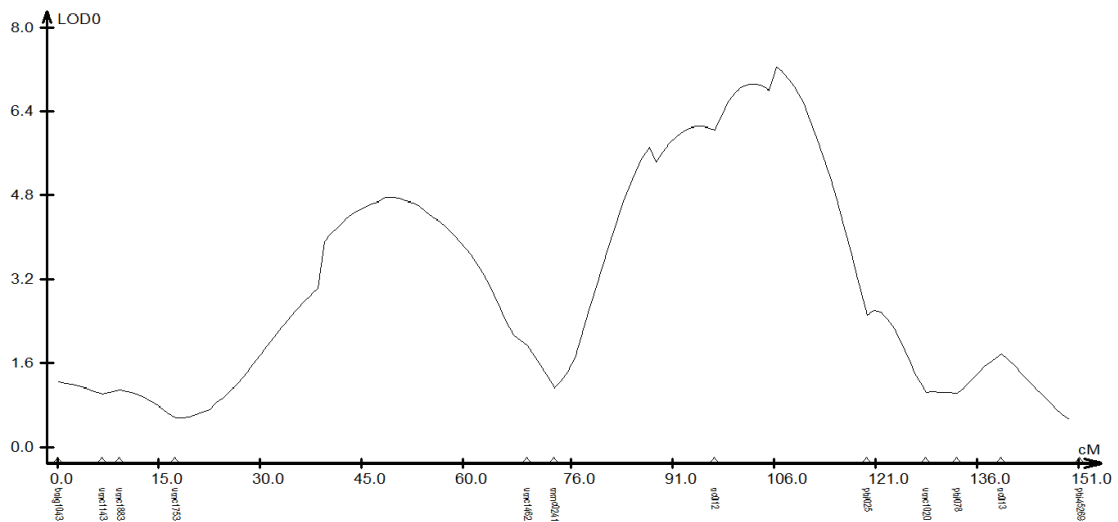


Figura 2. QTLs conferindo resistência ao SCMV nos cromossomos 3 (*Scm2*) e 6 (*Scm1*) em milho. Cada pico LOD independente, *Scm2* e *Scm1*, indica a presença de um QTL significativo pelo critério BIC (Bayesian information criteria)-M0 conforme QTL Cartographer 2.5. Distâncias no mapa estão em centiMorgans(cM).