

CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DO MILHO À MANCHA POR PHAEOSPHAERIA

ADILSON RICKEN SCHUELTER¹, ISABEL REGINA PRAZERES DE SOUZA², FERNANDO FERNANDES TAVARES², MANOEL XAVIER DOS SANTOS², ELIZABETH DE OLIVEIRA², CLAUDIA TEIXEIRA GUIMARÃES²

¹Universidade Paranaense. Av. Parigot de Souza, 3636, CEP 85903-170 Toledo, PR. E-mail: adilson@unipar.br (autor para correspondência).

²Pesquisadores, Embrapa Milho e Sorgo. Caixa Postal 151, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.2, n.1, p.80-86, 2003

RESUMO - A mancha por *Phaeosphaeria* tem causado reduções expressivas no rendimento de grãos de milho, no Brasil, devido à alta incidência e severidade. O desenvolvimento de cultivares resistentes a essa doença tem-se constituído no método de maior eficácia para seu controle. No entanto, o conhecimento do controle genético da resistência é essencial para o processo de seleção de genótipos de interesse e para a definição das estratégias de melhoramento. O trabalho teve como objetivos avaliar a natureza e a magnitude de efeitos gênicos envolvidos na determinação da resistência da linhagem de milho L31.2.1.2 a essa doença, empregando-se o método da análise de gerações. O experimento foi conduzido no ano agrícola de 2000/2001, em Sete Lagoas, MG, com tratamentos constituídos pelos parentais e gerações F₁, F₂, RC_{1.1} e RC_{1.2}. A avaliação da resistência foi realizada através de escala de notas para a severidade da doença. Nas populações originadas entre as linhagens L31.2.1.2 e L726, respectivamente, resistente (R) e susceptível (S), os resultados indicaram a presença de variabilidade genética, em que os efeitos aditivos foram os mais importantes para a determinação da resistência e o modelo aditivo-dominante apresentou-se inteiramente adequado para a análise dos resultados. A elevada magnitude dos coeficientes de herdabilidade evidencia a possibilidade do emprego de técnicas seletivas simples com eficácia na obtenção de ganhos satisfatórios.

Palavras-chave: *Zea mays*, *Phaeosphaeria maydis*, herança, resistência genética.

GENETIC CONTROL OF MAIZE RESISTANCE TO PHAEOSPHAERIA LEAF SPOT

ABSTRACT - *Phaeosphaeria* leaf spot has been causing expressive reduction in the income of corn grains in Brazil, due to its high incidence and severity. The development of resistant cultivars to this disease has been the most effective method for its control. However, the knowledge of the inheritance of the resistance is essential for the selection of the genotypes of interest and for the design of breeding strategies. The objective of this work was to evaluate the nature and magnitude of genetic effects involved in the determination of the resistance of the maize inbred line L31.2.1.2, using generation-means analysis. The experiment was evaluated in the agriculture year 2000/2001, in Sete Lagoas-MG, and the treatments were constituted by the parental lines and generations F₁, F₂, BC_{1.1} and BC_{1.2}. The resistance evaluation was graded according to the disease severity. Generations from the cross between the inbred lines L31.2.1.2 and L726, resistant and susceptible, respectively, demonstrated genetic variability, in which

additive genetic effects were the main source for determining the resistance and the additive-dominant model proved to be appropriate for the analysis of the results. The high magnitude of the hereditary coefficients evidenced the viability of simple selective techniques, effective enough to obtain satisfactory earnings.

Key-words: *Zea mays*, *Phaeosphaeria* leaf spot, inheritance, genetic resistance.

Evolutivamente, plantas e patógenos vêm interagindo desde os tempos mais remotos, sendo que, após o surgimento da agricultura intensiva, expressivas alterações ambientais refletiram seus efeitos nas populações tanto dos patógenos quanto das espécies cultivadas. Todas essas mudanças têm culminado no surgimento de novas doenças, de patógenos mais resistentes e no aumento da frequência de epidemias, causando sérios prejuízos e perdas para os agricultores e consumidores. Nesse contexto, o cultivo do milho vem sendo sujeito a uma série de doenças que afetam principalmente folhas, colmo e espigas (Shurtlett, 1976; Balmer & Pereira, 1987; Fernandes & Oliveira, 1997).

A importância dessas doenças é evidenciada pela existência de diversas publicações para a identificação de sintomas sob condições de campo (De Leon, 1994). No Brasil, a partir de 1990, vem ocorrendo o agravamento da incidência e da severidade de doenças do milho, particularmente as foliares, cujas principais causas são provenientes do cultivo durante o ano todo, sob irrigação, e utilizando cultivares susceptíveis (Machado *et al.*, 1993), além do deslocamento da cultura para novas regiões (Fernandes & Oliveira, 1997). Assim, uma doença que apresentava importância secundária, a mancha causada por *Phaeosphaeria maydis*, atualmente distingue-se como uma das mais importantes, devido à alta incidência e aos prejuízos que podem causar à produção (Fernandes & Oliveira, 1997).

Apesar da disponibilidade de métodos que auxiliam no controle dessas doenças, como o plantio antecipado, rotação de culturas e aplicação de

fungicidas, o método mais eficiente e econômico para o seu controle é a utilização de cultivares resistentes. Entretanto, o desenvolvimento de cultivares é um trabalho intenso, uma vez que envolve desde a identificação de fontes de resistência, elucidação do controle genético até a elaboração e execução de estratégias eficientes na transferência dos alelos de resistência para as linhagens elites de milho que participam dos híbridos comerciais.

Estudos de herança da resistência à mancha por *Phaeosphaeria* são restritos a poucos relatos publicados na literatura, cujos resultados têm sido controversos. Alguns trabalhos têm demonstrado que os efeitos aditivos são mais importantes do que os desvios de dominância (Lima *et al.*, 1998; Paterniani *et al.*, 2000; Pacheco *et al.*, 2000; Pegoraro, 2002), enquanto que em outros o comportamento tem sido antagônico (Das *et al.*, 1989a; 1989b). Pela análise de marcadores moleculares RFLP, Carson (1996) detectou em milho a presença de seis QTLs com dominância incompleta, na determinação da resistência de linhagens recombinantes à mancha por *Phaeosphaeria*. Nesse sentido, os resultados quanto ao controle genético são controversos, visto que diferentes fontes de resistência têm sido testadas, além do que o agente causal da doença não foi totalmente compreendido. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi estudar o controle genético da resistência à mancha por *Phaeosphaeria* em linhagem-elite da Embrapa Milho e Sorgo, visando monitorar a transferência de fatores genéticos para demais linhagens-elite do programa de melhoramento.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido, sob irrigação, na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, em condições de campo, no ano agrícola de 2000/2001, empregando-se populações genéticas provenientes do cruzamento entre as linhagens-elite L31.2.1.2 e L726, resistente e susceptível, respectivamente.

No experimento, os genitores e a geração F₁ foram representados por 15 plantas, enquanto as gerações F₂, RC_{1,1} e RC_{1,2}, por 159, 145 e 150 plantas, respectivamente. As plantas das diferentes gerações foram inoculadas naturalmente em campo, com o agente causal da doença, e posteriormente avaliadas quanto às lesões foliares na fase de enchimento de grãos, empregando-se o seguinte critério de avaliação: nota 1: sem lesões; nota 2: lesões esparsas na planta; nota 3: até 50% das folhas com lesões, detectando-se lesões severas nos 25% das folhas inferiores; nota 4: até 75% das folhas com lesões, detectando-se lesões severas nos 50% das folhas inferiores; nota 5: 100% das folhas com lesões, encontrando-se lesões severas nos 75% das folhas inferiores; e nota 6: planta morta.

Os estudos genéticos sobre a herança da resistência à mancha por *Phaeosphaeria*, com base nas médias e variâncias das populações, foram realizados conforme descrito por Mather & Jinks (1982). As estimativas dos parâmetros genéticos e ambientais, baseada na análise das variâncias das gerações segregantes e não segregantes, foram realizadas segundo Cruz & Regazzi (1994), sendo expressas pelos seguintes estimadores:

$$\text{variância ambiental: } \frac{\hat{\sigma}_{e F_2}^2}{4} + 2 \hat{\sigma}_{F_1}^2 + \hat{\sigma}_{P_2}^2$$

$$\text{variância genotípica: } \hat{\sigma}_{g F_2}^2 + \hat{\sigma}_{f F_2}^2 + \hat{\sigma}_{e F_2}^2$$

$$\text{variância fenotípica: } \hat{\sigma}_{f F_2}^2 + \hat{\sigma}_{g F_2}^2 + \hat{\sigma}_{e F_2}^2$$

$$\text{variância aditiva: } 2 \hat{\sigma}_{f F_2}^2 + \hat{\sigma}_{RC_{1,1}}^2 + \hat{\sigma}_{RC_{1,2}}^2$$

variância devido aos desvios de dominância:

$$\hat{\sigma}_D^2 + \hat{\sigma}_{g F_2}^2 + \hat{\sigma}_A^2$$

$$\text{herdabilidade no sentido amplo: } h_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_{g F_2}^2}{\hat{\sigma}_{f F_2}^2}$$

$$\text{herdabilidade no sentido restrito: } h_r^2 = \frac{\hat{\sigma}_{A F_2}^2}{\hat{\sigma}_{f F_2}^2}$$

grau médio de dominância (baseado em variâncias):

$$gmd = k \sqrt{\frac{2 \hat{\sigma}_D^2}{\hat{\sigma}_A^2}}$$

número mínimo de genes envolvidos na determina-

$$\text{ção do caráter: } \frac{D^2 - 1}{8} \frac{0,5k^2}{g}$$

em que, D = diferença entre o valor máximo e mínimo observados na população F₂; k é o grau médio de dominância.

Pela análise de médias das gerações segregantes e não segregantes, foram estimados os efeitos envolvidos na determinação da resistência genética à mancha por *Phaeosphaeria*, utilizando o método dos mínimos quadrados ponderados (Mather & Jinks, 1982; Cruz & Regazzi, 1994), sendo a significância da hipótese de que cada parâmetro é nulo, isto é: H₀: b_i = 0, pode ser avaliada pelo teste t, dado por:

$$t = \frac{\hat{b}_i}{\sqrt{\hat{V}_{\hat{b}_i}}}, \text{ se } H_0: b_i = 0, \text{ então: } t = \frac{\hat{b}_i}{\sqrt{\hat{V}_{\hat{b}_i}}}.$$

Resultados e Discussão

Na Tabela 1, constata-se que as linhagens parentais L31.2.1.2 (R) e L726 (S) obtiveram, respectivamente, a menor e uma das maiores médias na escala de notas para a severidade da doença.

Esses resultados confirmam as avaliações em anos consecutivos, realizadas por pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo, com o intuito de identificar fontes de resistência à mancha por *Phaeosphaeria*. Os valores elevados de variância da L726 e do híbrido F₁ em relação ao genitor resistente evidenciam a influência ambiental na manifestação da suscetibilidade, visto que a inoculação natural depende das condições meteorológicas e da presença do inóculo em campo (Fantin, 1994). Além disso, Pacheco *et al.* (2000) sugerem que a desuniformidade na distribuição do inóculo contribui para o incremento dos valores de variância. Nesse contexto, a inoculação artificial poderia ser aplicada para solucionar esse problema; entretanto, atualmente ainda não se dispõe de técnicas eficientes de inoculação de plantas para a doença em questão (Sawazaki *et al.*, 1997). Contudo, Paccola-Meirelles *et al.* (2001) detectaram o envolvimento da bactéria *Pantoea ananas* no processo de infecção e no desenvolvimento de sintomas semelhantes aos da mancha por *Phaeosphaeria* em condições naturais. Esses resultados irão auxiliar estudos futuros que venham elucidar a transmissão e a disseminação da doença e o conseqüente desenvolvimento de metodologia para inoculação artificial.

Os valores estimados de variância, apresentados na Tabela 2, permitem concluir que o ambiente influenciou nas notas atribuídas para resistência à mancha por *Phaeosphaeria* embora a constituição genética tenha fornecido a maior contribuição para

a expressão da característica. Consta-se ainda que o componente genético aditivo representa a maior contribuição para a variância genotípica, enquanto que os desvios de dominância representam uma menor importância. Nesse contexto, a ocorrência de variabilidade genética, com elevados valores de herdabilidade, sugere a possibilidade de obtenção de ganhos genéticos mediante a seleção fenotípica de indivíduos resistentes à mancha por *Phaeosphaeria* em gerações segregantes.

O controle genético da resistência à mancha por *Phaeosphaeria* é oligogênico para os genitores empregados no estudo (Tabela 2), sendo que o grau médio de dominância evidencia a existência de dominância parcial.

As estimativas e a significância da hipótese de nulidade de cada parâmetro genético do modelo completo indicam que a média geral (**m**), os efeitos aditivos (**a**), os efeitos devidos aos desvios de dominância (**d**), efeitos epistáticos do tipo aditivo-dominante (**ad**) e efeitos gênicos epistáticos do tipo dominante-dominante (**dd**) contribuem para a determinação da resistência à mancha por *Phaeosphaeria* (Tabela 3). No entanto, pela decomposição não-ortogonal da soma de quadrados de parâmetros (Tabela 4), conclui-se que os efeitos aditivos apresentam maior importância na determinação do caráter, pois **a** explica 87,64% da variabilidade. Este resultado evidencia a possibilidade de obtenção de genótipos homozigóticos superiores, a partir da seleção nas populações provenientes da

TABELA 1. Número de plantas avaliadas fenotipicamente, médias da severidade (sev), variâncias (s^2) e das variâncias médias da severidade V(sev) para resistência à mancha por *Phaeosphaeria*.

Geração	Nº de plantas	Severidade (sev)	Variância (σ^2)	V (sev)
P ₁ (L31.2.1.2 -R)	15	1,0	0,00	0,000
P ₂ (L726 - S)	15	4,3	0,171	0,011
F ₁	15	4,4	0,187	0,012
F ₂	159	2,19	1,122	0,007
RC _{1.1}	145	1,22	0,432	0,003
RC _{1.2}	150	3,32	0,897	0,006

TABELA 2. Estimativa das variâncias fenotípica, genotípica, aditiva, decorrentes de dominância e de ambiente, da herdabilidade no sentido amplo e restrito, do grau médio de dominância e da estimativa do número de genes para a característica resistência à mancha por *Phaeosphaeria*.

Parâmetro	Resistência à mancha por <i>Phaeosphaeria</i>
Variância fenotípica ($\hat{\sigma}_f^2$)	1,122
Variância genotípica ($\hat{\sigma}_g^2$)	0,987
Variância aditiva ($\hat{\sigma}_a^2$)	0,915
Variância por dominância ($\hat{\sigma}_D^2$)	0,071
Variância de ambiente ($\hat{\sigma}_e^2$)	0,136
Herdabilidade no sentido amplo (h_a^2)	0,88
Herdabilidade no sentido restrito (h_r^2)	0,81
Grau médio da dominância (baseado em variâncias)	0,38
Número de genes	1,84

TABELA 3. Estimativas da média geral (m) e de efeitos gênicos aditivos (a), devidos aos desvios de dominância (d), epistáticos do tipo aditivo-dominante (ad) e epistáticos do tipo dominante-dominante (dd), obtidos pela análise das médias de seis gerações (P₁, P₂, F₁, F₂, RC_{1,1}, RC_{1,2}) avaliadas quanto a resistência à mancha por *Phaeosphaeria*.

Parâmetro	Estimativa	Variância	t
m	2,332	0,152	5,98*
a	1,648	0,003	30,82*
d	-2,640	0,812	-2,93*
aa	0,319	0,149	0,83 ^{ns}
ad	-0,895	0,047	4,12*
dd	4,709	0,270	9,07*

*Significativo a 5% de probabilidade.

geração F₂, e que os ganhos em ciclos de seleção serão possíveis, uma vez que o componente de natureza aditiva é de elevada magnitude em relação aos efeitos de dominância e de epistasia, que são perturbadores no processo de seleção.

Segundo Ferreira *et al.* (1995), o modelo completo apresenta importância, uma vez que fornece informações sobre as causas e magnitudes dos componentes genéticos que controlam o caráter,

TABELA 4. Decomposição não-ortogonal da soma de quadrados de parâmetros (m, a, d, aa, ad, dd), pelo método de eliminação de Gauss da característica resistência à mancha por *Phaeosphaeria*.

Fonte de Variação	SQ	R ² (%)
m/ a, d, aa, ad, dd	0,222	3,58
a/ m, d, aa, ad, dd	5,434	87,64
d/ m, a, aa, ad, dd	0,049	0,79
aa/ m, a, d, ad, dd	0,004	0,07
ad/ m, a, d, aa, dd	0,080	1,29
dd/ m, a, d, aa, ad	0,411	6,62
Total	6,200	100,00

devendo-se, no entanto, avaliar o modelo aditivo-dominante, que, além de mais simples, tem sido rotineiramente utilizado no melhoramento para disponibilizar informações indispensáveis na avaliação da eficiência de métodos empregados e do êxito dos mesmos. Pela análise do modelo aditivo-dominante (Tabela 5), constatou-se que os parâmetros da média, dos efeitos aditivos e de dominância foram significativos pelo teste t, com m e a apresentando as estimativas de maior magnitude (Tabela 6). Além disso, a avaliação da adequação do modelo aditivo-dominante indica que as médias preditas se

correlacionam com as médias observadas em magnitude de 0,79, o que equivale a uma determinação (R^2) de 63%. Assim, tanto a análise de médias como das variâncias sugerem que a variabilidade genética aditiva presente na geração F_2 é relativamente superior à atribuída aos desvios de dominância.

TABELA 5. Teste de significância da nulidade de modelos menos parametrizados dos parâmetros genéticos média geral (m), efeitos gênicos (a) e de dominância (d) obtidos das médias de seis gerações (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , $RC_{1,1}$, $RC_{1,2}$) para a característica resistência à mancha por *Phaeosphaeria*.

Parâmetro	Estimativa	Variância	t
m	2,604	0,002	58,60**
a	1,602	0,002	36,08**
d	-0,234	0,007	-2,81**

*Significativo a 5% de probabilidade

A variabilidade genética da resistência à mancha por *Phaeosphaeria* é conferida em maior magnitude pelos efeitos aditivos, o que permite a seleção de genótipos resistentes por meio de estratégias simples de melhoramento. Entretanto, enquanto a seleção for dependente do inóculo natural do campo, esta deverá ser realizada em épocas propícias e em locais com elevada incidência da doença.

TABELA 6. Decomposição não-ortogonal da soma de quadrados de parâmetros (m, a, d), pelo método de eliminação de Gauss da característica resistência à mancha por *Phaeosphaeria*.

Fonte de Variação	SQ	R^2 (%)
m/ a, d	3434,536	72,39
a/ m, d	1301,901	27,44
d/ m, a	7,889	0,17
Total	4.744,326	100,00

Conclusões

O controle genético da resistência à mancha por *Phaeosphaeria* é oligogênico para os genitores empregados no estudo, sendo os efeitos aditivos mais importantes na determinação do caráter.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Pronex/Finep e ao Prodetab (processo 162-01/98) o suporte financeiro parcial e à Fapemig, a concessão de uma bolsa (processo GAG 0001/00), modalidade recém-doutor, ao primeiro autor.

Literatura Citada

- BALMER, E.; PEREIRA, O.A.P. Moléstias no milho. In: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G.P. (Ed.) **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.597-634.
- CARSON, M.L.; STUBER, C.W.; SENIOR, M.L. Identification of quantitative trait loci (QTLs) for resistance to foliar diseases in a mapping population of recombinant inbred (RI) lines of maize. **Phytopathology**, Saint Paul, v.86, p.89, 1996 Supplement.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1994. 390p.
- DAS, S.N.; PRODHAN, H.S.; KAISER, S.A.K.M. Further studies on the inheritance of resistance to *Phaeosphaeria* leaf spot of maize. **Indian Journal of Mycological Resource**, Calcutta, v.27, p. 127-130, 1989a.
- DAS, S.N.; SINHAMAHAPATRA, S.P.; BASAK, S.L. Inheritance of resistance to *Phaeosphaeria* leaf spot of maize. **Annual Agricultural Resource**, Nadia, v.10, p.182-184, 1989b.
- DE LEON, C. **Moléstias do milho**: guia para sua identificação no campo. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 119p.
- FANTIN, G.M. Mancha de *Phaeosphaeria*, moléstia do milho que vem aumentando a sua importância. **Biológico**, São Paulo, v.56, p.39, 1994.

- FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. de. **Principais doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997. 80p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 26)
- FERREIRA, R.P. Herança da tolerância à toxidez de alumínio em arroz baseada em análises de médias e variâncias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, p.509-515, 1997.
- LIMA, M.; DUDIENAS, C.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z. Cruzamentos dialélicos parciais entre linhagens de milho com diferentes níveis de resistência a moléstias foliares. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22, 1998, Recife. **Anais...** Recife: ABMS, 1998. CD.
- MACHADO, J.A.; MOREIRA FILHO, C.A. METIDIERI, F.T. **Doenças em milho**: situação atual, estratégias e recomendações. Piracicaba: Centro de Biotecnologia/USP, EMBRAPA/CNPMS, APPS, 1993. 20p.
- MATHER, S.K.; JINKS, J.L. **Biometrical genetics**. Cambridge: Cambridge University Press, 1982. 396p.
- PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; FERREIRA, A.S.; MEIRELLES, W.F.; MARRIEL, I.E.; CASELA, C.R. Detection of bacterium associated with a leaf spot disease of maize in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.149, p.275-279, 2001.
- PACHECO, C.A.P.; GUIMARÃES, P.E.O.; PARENTONI, S.N.; SANTOS, M.X.; MEIRELLES, W.F.; GAMA, E.E.G.; VASCONCELOS, M.J.V. Herança da resistência à mancha foliar de *Phaeosphaeria* em milho: análise de gerações. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23, 2000, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: ABMS, 2000.
- PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; SAWAZAKI, E.; DUDIENAS, C.; DUARTE, A.P.; GALLO, P.B. Diallel crosses among maize lines with emphasis of resistance to foliar diseases. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, p.381-385, 2000.
- PEGORARO, D.G.; BARBOSANETO, J.F.; DAL SOGLIO, F.K.; VACARO, E.; NUSS, C.N.; CONCEIÇÃO, L.D.H. Herança da resistência à mancha-foliar de feosféria em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, p.329-336, 2002.
- SAWAZAKI, E.; DUDIENAS, C.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; GALVÃO, J.C.C.; CASTRO, J.L.; PEREIRA, J. Reação de cultivares de milho à mancha de *Phaeosphaeria* no estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, p.585-589, 1997.
- SHURTLEFF, M.C. (Ed.) **A compedium of corn diseases**. 2. ed. Saint Paul: APS, 1980. 105p.