

Seleção e Introgressão da Resistência ao Mosaico-Comum em Milho via Retrocruzamento Assistido por Marcadores Moleculares



Folhas de milho apresentando sintomas foliares da virose mosaico-comum (imagens na parte superior) e pulgões em folha de milho, vetor da virose (imagem na parte inferior)

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
174**

**Seleção e Introgressão da Resistência
ao Mosaico-Comum em Milho via
Retrocruzamento Assistido por
Marcadores Moleculares**

Isabel Regina Prazeres de Souza*
Marcos de Oliveira Pinto
Ana Luíza Soares Pereira de Paula
Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães
Lauro José Moreira Guimarães
Roberto dos Santos Trindade

*Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2018*

Esta publicação está disponível no endereço:
<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicacoes>

Embrapa Milho e Sorgo
Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
www.embrapa.br/fale-conosco/sa

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo
Elena Charlotte Landau

Membros
Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia Maria Borges Damasceno, Maria Lúcia Ferreira Simeone, Roberto dos Santos Trindade e Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto
Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica
Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

Tratamento das ilustrações
Tânia Mara Assunção Barbosa

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto da capa
Isabel Regina Prazeres de Souza

1ª edição
Formato digital (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Nome da unidade catalogadora

Seleção e introgressão da resistência ao mosaico-comum em milho via retrocruzamento assistido por marcadores moleculares / Isabel Regina Prazeres de Souza... [et al.]. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2018.

20 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 174).

1. Melhoramento genético vegetal. 2. Genética vegetal. 3. Genótipo. 4. Vírose. I. Souza, Isabel Regina Prazeres de. II. Pinto, Marcos de Oliveira. III. Paula, Ana Luíza Soares Pereira de. IV. Guimarães, Paulo Evaristo de Oliveira. V. Guimarães, Lauro José Moreira. VI. Trindade, Roberto dos Santos. VII. Série.

CDD 631.52 (21. ed.)

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução.....	6
Material e Métodos	8
Resultados e Discussão	12
Conclusões.....	17
Agradecimentos.....	18
Referências	18

Seleção e Introgessão da Resistência ao Mosaico-Comum em Milho via Retrocruzamento Assistido por Marcadores Moleculares

Isabel Regina Prazeres de Souza*¹

Marcos de Oliveira Pinto²

Ana Lúza Soares Pereira de Paula³

Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães⁴

Lauro José Moreira Guimarães⁵

Roberto dos Santos Trindade⁶

Resumo – O mosaico-comum do milho, causado pela espécie de potyvirus *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), destaca-se entre as viroses mais importantes na cultura do milho. O vetor mais eficiente na transmissão dessa virose é o pulgão-do-milho, *Rhopalosiphum maidis*. O monitoramento dessa virose por meio do controle dos pulgões com uso de inseticidas não é efetivo, sendo o método mais eficiente a utilização de cultivares resistentes. Para este intuito, uma das primeiras etapas é a caracterização de genótipos de milho quanto à resistência ao SCMV. A herança da resistência ao mosaico-comum do milho tem apresentado segregação, sugerindo o tipo monogênica dominante, facilitando a seleção fenotípica e a introgessão da resistência a esta doença em genótipos suscetíveis. O processo de introgessão pode ser acelerado com a utilização de retrocruzamento assistido por marcadores moleculares na recuperação do genoma do parental recorrente e seleção do loco-alvo com base no fenótipo, empregando inoculações artificiais. Os objetivos do presente trabalho foram (i) caracterizar genótipos de milho quanto à resistência a virose mosaico-comum, causada pelo SCMV, e (ii) introgredir a resistência

¹ Eng.-Agrôn., PhD. em Plant Science, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo. Autor correspondente, E-mail: isabel.prazeres@embrapa.br

² Bioquímico, Doutor em Genética e Melhoramento, Analista da Embrapa Milho e Sorgo.

³ Graduanda em Engenharia Química, Centro Universitário de Sete Lagoas, UNIFEMM.

⁴ Eng.-Agrôn., PhD em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo.

⁵ Eng.-Agrôn., Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo.

⁶ Eng.-Agrôn., Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo.

ao mosaico em linhagens-elites suscetíveis empregando retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares e fonte de resistência de mesmo grupo heterótico da linhagem recorrente.

Termos para Indexação: Potyvirus, virose, *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), *Zea mays* L., linhagens, híbridos simples, SNP (*Single Nucleotide Polimorphism*).

Selection and Introgression of Mosaic Resistance in Maize Using Molecular Markers Assisted Backcross

Abstract – The maize common mosaic disease, caused by the species of Potyvirus Sugarcane mosaic virus (SCMV) stands out among the most important viroses in the maize crop. The most efficient vector in the transmission of this virus is the maize aphid, *Rhopalosiphum maidis*. Monitoring of this virus through the control of aphids using insecticides is not effective, and the most efficient method is the use of resistant cultivars. For this purpose, one of the first steps is the characterization of maize genotypes for resistance to SCMV. The inheritance of resistance to maize common mosaic has presented segregation suggesting the dominant monogenic type, facilitating phenotypic selection and introgression of resistance to this disease in susceptible genotypes. The introgression process can be accelerated with the use of marker-assisted backcrossing in the recovery of the recurrent parent genome associated to selection of the target locus based on the phenotype using artificial inoculations. The objectives of this work were (i) to characterize maize genotypes for common mosaic resistance caused by SCMV, and (ii) to introduce mosaic resistance in susceptible elite inbred lines using marker-assisted backcrossing and resistance source of the same heterotic group of the recurrent line.

Index Terms: Potyvirus, viral disease, Sugarcane mosaic virus (SCMV), *Zea mays* L., inbred lines, single hybrids

Introdução

A virose mosaico-comum, relatada mundialmente afetando o milho, tem como agente causal seis espécies de potyvírus: *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), *Sorghum mosaic virus* (SrMV), *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV), *Johnsongrass mosaic virus* (JGMV) (Shukla et al., 1994), *Zea mosaic virus* (ZeMV) (Sheifers et al., 2000), e *Pennisetum mosaic virus* (PenMV) (Deng et

al., 2008). No Brasil, até o presente, apenas o SCMV tem sido identificado como agente causal do mosaico em milho (Souza et al., 2012). Entretanto, em sorgo, além do SCMV, foi recentemente relatado o JGMV infectando a cultura (Souza et al., 2017)

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 do milho em campo, contribuindo para o aumento na incidência do SCMV. Outro fator importante que contribui para o aumento da incidência do mosaico-comum, no milho e no sorgo, é que o vírus *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), agente causal da doença, infecta também outras gramíneas cultivadas e plantas daninhas (Souza; Oliveira, 2013). Os potyvírus são transmitidos de maneira não persistente por vários afídeos, e o vetor mais eficiente nas culturas do milho e do sorgo é o *Rhopalosiphum maidis* (Shukla et al., 1994). Ao se alimentarem de uma planta infectada, adquirem o vírus e, durante várias horas ou dias, podem transmiti-lo para plantas, de forma não persistente, ou semipersistente.

Em milho, quanto mais cedo se estabelece a infecção maiores são os danos ocasionados pela virose mosaico-comum, sendo que estimativas experimentais mostram reduções na produção da ordem de 50%, em genótipos suscetíveis (Waquil et al., 1996). O controle dessa virose por meio do controle dos pulgões com uso de inseticidas não é efetivo, sendo o método mais eficiente a utilização de cultivares resistentes. E, para o desenvolvimento dessas, uma das primeiras etapas é a caracterização de genótipos de milho quanto à resistência a essa doença (Souza et al., 2008).

Em estudos tradicionais de herança da resistência ao mosaico-comum, os resultados sugerem segregação monogênica dominante (Schuelter et al., 2003), o que facilita a introgessão desta característica em linhagens de milho suscetíveis, por meio da associação das seleções fenotípicas aos retrocruzamentos (RC) assistidos por marcadores moleculares. Outra forma de introgessão da resistência é quando já se tem o QTL de efeito maior mapeado no genótipo fonte. Em milho tropical foi mapeado um QTL de efeito maior no cromossomo 3, explicando 41,85% da variação fenotípica da resistência (Souza et al., 2008). Nesse caso, de posse da linhagem-fonte de resistência e dos marcadores moleculares flanqueando o QTL, ter-se-á em cada ciclo de seleção as informações genômicas das plantas

sem a necessidade de fenotipagem, gerando economia de tempo e recursos financeiros. Além disso, utilizando-se retrocruzamentos (RCs) assistidos por marcadores moleculares, tem-se uma rápida recuperação do parental recorrente.

Os marcadores moleculares, em geral, são sequências de DNA com mutações ou variações que são usadas visando detectar polimorfismos entre alelos de um gene nos diferentes indivíduos de uma população. Tais fragmentos estão localizados em uma posição definida dentro do genoma (Lateef, 2015). Dentre esses tem-se os marcadores microssatélites (SSR), que são sequências de um a seis nucleotídeos repetidos em número variável (Li et al., 2002) e ocorrem em regiões codantes e não codantes do genoma (Morgante et al., 2002), sendo grande vantagens a co-dominância e a alta reprodutibilidade desses marcadores (Decroocq et al., 2003).

Dentre as metodologias mais atuais, tem-se a de PCR competitiva alelo específica (KASP, *Kompetitive Allele Specific PCR*), a qual permite a genotipagem de marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*, Polimorfismos de Nucleotídeo Único), cuja análise apresenta alta especificidade e sensibilidade (Semagn et al., 2014). Essa tecnologia vem sendo empregada no mapeamento de QTLs (Zaidi et al., 2015; Ladejobi et al., 2018).

Os objetivos do presente trabalho foram (i) caracterizar genótipos de milho quanto à resistência a virose mosaico-comum causada pelo SCMV e (ii) introgridir a resistência em linhagens-elites suscetíveis empregando RCs assistidos por marcadores moleculares

Material e Métodos

Seleção de genótipos de milho quanto à resistência ao mosaico-comum

Genótipos e delineamento experimental

Foram avaliados 62 genótipos de milho, linhagens e híbridos simples do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo (Tabela 1)

quanto à resistência ao *Sugarcane mosaic virus* (SCMV). O experimento foi implantado em casa de vegetação com condições controladas de temperatura e umidade, em duas épocas: outubro/2016 e novembro/2017. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com duas repetições, representadas por dois vasos/genótipo. Os vasos continham 25 litros de solo adubado, sendo semeadas 10 sementes/vaso, com posterior desbaste para 5 plantas/vaso. Como controle de suscetibilidade e resistência ao mosaico-comum foram empregadas, respectivamente, as linhagens L19 e L18.

Caracterização das linhagens-elites de milho quanto à resistência ao mosaico-comum

O inóculo foi preparado empregando folhas de plantas sintomáticas para o mosaico-comum, cujo vírus SCMV foi confirmado por meio de análises moleculares empregando metodologia descrita por Souza e Barros (2017). As folhas sintomáticas foram maceradas em tampão fosfato 10 mM resfriado na proporção de 1: 3 (peso/volume) (Souza et al., 2008). Carborundum 600 mesh (Sigma-Aldrich) foi adicionado à solução de inoculação, a qual foi mantida em geladeira. A primeira inoculação foi realizada na parte mediana a basal das folhas, quando as plantas apresentavam de 3 a 4 folhas, empregando fricção mecânica com o lado mais abrasivo de esponja comum (Figura 1). Foram realizadas quatro inoculações com intervalo de uma semana.

As avaliações fenotípicas foram iniciadas sete dias após as inoculações e repetidas semanalmente por um período de 30 dias. Foram consideradas na avaliação a presença (susceptível) ou ausência (resistente) de sintomas.

Foto: Isabel Regina Prazeres de Souza



Figura 1. Plântulas de milho sendo artificialmente inoculadas com solução resfriada de tampão fosfato de potássio 0,01M pH 7,0 contendo o SCMV e Carborundum 600 mesh. Estádio em que as plantas foram submetidas à primeira (esquerda), estágio V3, e segunda (direita), estágio V5, inoculações.

Introgessão da resistência ao mosaico-comum em linhagem-elite empregando fonte de resistência de mesmo grupo heterótico

Genótipos

Linhagens contrastantes quanto à resistência ao mosaico-comum, 541145 (fonte de resistência) e 5100290-11 (suscetível e recorrente) foram utilizadas em cruzamentos e avaliadas as gerações RC_1F_1 e RC_2F_1 .

Fenotipagem

A inoculação das plantas RC_1F_1 e RC_2F_1 foi iniciada no estágio V3-V4, procedendo-se quatro inoculações consecutivas, com periodicidade semanal, seguidas por avaliações fenotípicas, conforme já descrito no item 1.2.

Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído a partir de 8 discos foliares de cada planta das gerações RC1F1 e RC2F1, de acordo com Lana et al. (2010), Figura 2.

Foto: Isabel Regina Prazeres de Souza



Figura 2. Coleta de tecido foliar de plantas de milho da geração RC1F1 para extração de DNA, empregando furador de papel.

Retrocruzamentos assistidos por marcadores SNPs (Single Nucleotide Polimorphism) e microssatélites (SSR)

A genotipagem foi realizada nas plantas das gerações de RC1F1 e RC2F2, empregando marcadores SNPs e SSR. Inicialmente foi realizada a genotipagem dos parentais 541145 e 5100290-11 com 99 marcadores SNPs distribuídos ao longo do genoma do milho, para detecção dos marcadores polimórficos. A reação de amplificação foi realizada com 3 μ L de KASP Master Mix 2X, 3 μ L de DNA a 10 ng/ μ Le 0,084 μ L de KASP Assay Mix 54X. Os ciclos de amplificação foram de uma desnaturação inicial a 94 °C durante 15 min, seguida por 10 ciclos a 94 °C durante 20 s, 61 °C a 55 °C durante 1 min e um adicional de 26 ciclos de amplificação a 94 °C durante 20 s e 55 °C durante 1 min. A intensidade da fluorescência das amostras foi quantificada por meio do leitor de microplacas FLUOstar Omega (BMG Labtech, Hanns-Martin-Schleyer Germany) utilizando ROX na normalização

do sinal. A genotipagem foi realizada empregando o software KlusterCaller 1.1 (LGC Genomics Ltd, Hoddesdon, Herts, UK). Para os marcadores SSR, as reações de amplificação foram realizadas utilizando 50 ng de DNA, 0,2 µM de cada iniciador e Taq DNA polimerase (KAPABIOSYSTEMS, WOBURN, MA, EUA), conforme recomendações do fabricante. As reações de PCR foram realizadas em *touchdown*: desnaturação inicial a 95 °C por 3 min; 7 ciclos de 95 °C por 20 s, 60 °C (com redução de 1 °C por ciclo até 53 °C) por 1 min e 72 °C por 1 min, 35 ciclos de 95 °C por 20 s, 53 °C por 1 min e 72 °C por 1 min; extensão final de 72 °C por 5 min. Os fragmentos gerados foram analisados em gel de poliacrilamida e corados com nitrato de prata. Nas gerações de RC₁F₁ e RC₂F₁ os indivíduos foram genotipados utilizando 16 e 31 marcadores moleculares, respectivamente.

Análises dos dados

A porcentagem de recuperação do genoma do parental recorrente (%RG) foi calculada por meio da fórmula:

$$\% \text{ RG} = (N^{\circ} \text{A} + 1/2 N^{\circ} \text{H}) / N^{\circ} \text{A} + N^{\circ} \text{H} \times 100$$

Onde: N° A = número de locus igual ao genoma recorrente 5100290-11;

N° H = número de locus em heterozigose.

Resultados e Discussão

Seleção de genótipos de milho quanto à resistência à virose mosaico-comum do milho causado pelo *Sugarcane mosaic virus*

Verificou-se que os genótipos de milho oriundos do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo apresentam variabilidade genética quanto à resistência ao SCMV. Dos 67 genótipos avaliados quanto à resistência ao SCMV, 38 foram resistentes, 21 foram suscetíveis e 8 segregaram (Tabela 1). A segregação foi resultante do grau de endogamia, pois algumas linhagens encontravam-se em estágio S4, mantendo níveis razoáveis de heterozigose residual.

Tabela 1. Caracterização de linhagens e híbridos simples de milho quanto à resistência ao mosaico-comum, causado pelo *Sugarcane mosaic virus* (SCMV).

Linhagem	Caracterização	Linhagem	Caracterização	Híbrido Simples	Caracterização
L-18	Resistente	L 51200058-8	Suscetível	1N1975	Segregou
L-19	Suscetível	L 51200003-5	Suscetível	1M1764	Resistente
L 3	Resistente	L 51200052-16	Resistente	1M1807	Resistente
L520	Resistente	L 313-0345-5	Resistente	1M1752	Resistente
L 541145	Resistente	L 313-0364-1	Suscetível	1M1804	Resistente
L 521236	Resistente	L 5110153-4	Resistente	1L1411	Resistente
L 202841-1-3-1S4	Resistente	L 5110198-2	Suscetível	1L1421	Resistente
L 202841-1-1-2 S8	Suscetível	L 313-0365-1	Suscetível	1M1760	Resistente
L 5702955	Suscetível	L 313-0406-4	Suscetível	1M1824	Resistente
L 228-3	Resistente	L 313-0431-7	Segregou	1M1819	Resistente
L 521237	Segregou	L 5100303-13	Resistente	1M1731	Segregou
L 580025-1	Resistente	L 51200287-4	Segregou	1M1810	Resistente
L 5110365-5	Resistente	L 5110290-4	Segregou	1K1301	Resistente
L 5110411-2	Resistente	L 313-0208-3	Segregou		
L 5100290-11	Suscetível	L 5110355-2	Resistente		
L 5110303-6	Suscetível,	L 51200112-16	Resistente		
L 5110382-5	Resistente	L 313-0165-4	Suscetível		
L 5110404-5	Suscetível	L 410542-3-1	Resistente		
L 311-0771-7	Resistente	L 313-0513-8	Suscetível		
L 311-0781-5	Resistente	L 313-0529-7	Suscetível		
L 310-0071-7	Resistente	L 51200384-8	Suscetível		
L 590435-1	Suscetível	L.531542	Resistente		
L 5702374	Suscetível	L 51200058-8	Suscetível		
L 419440-43-1	Segregou	L 51200003-5	Suscetível		
L 419083-1-2 2B710	Resistente	L 51200052-16	Resistente		
L 482041-30	Resistente	L 313-0345-5	Resistente		
L 313-0387-2	Resistente	L 313-0364-1	Suscetível		

Introgressão da resistência ao mosaico-comum do milho empregando seleção fenotípica, fonte de resistência de mesmo grupo heterótico e retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares, SSR e SNPs

A seleção do genoma do parental recorrente foi realizada com base em marcadores moleculares e o loco-alvo (gene de resistência ao mosaico-comum) foi selecionado com base no fenótipo empregando inoculações artificiais.

Dos 73 indivíduos da população RC_1F_1 (5100290-11x541145), 27 foram resistentes ao SCMV e genotipados com 16 marcadores moleculares. A Figura 3 exemplifica a genotipagem por KASP, realizada a partir do marcador PZA01292_1. A porcentagem de recuperação do genoma variou de 66,7% a 87,5% com média de 78,3% (Figura 4). O genótipo com 87,5% de recuperação do genoma do parental recorrente (5100290-11) foi selecionado para a realização do segundo retrocruzamento, obtendo-se a população RC_2F_1 . Com a seleção desse indivíduo RC_1F_1 tem-se um ganho considerável em relação ao que seria obtido por meio do RC convencional, 75%.

Na população RC_2F_1 , 20 indivíduos foram resistentes ao SCMV e genotipados com 31 marcadores moleculares. A porcentagem de recuperação do genoma variou de 88,7% a 96,8% com média de 93,2% (Figura 5), sendo selecionado o indivíduo com 96,8%. Essa elevada porcentagem de recuperação verificada no RC_1F_1 , assistido por marcadores, corresponde ao que seria obtido no RC_4F_1 convencional. Isto perfaz um ganho de dois ciclos, com considerável redução de custos e tempo, demonstrando a eficiência da técnica e marcadores moleculares empregados.

O indivíduo R_2F_1 selecionado com 96,8% de recuperação do genoma do parental recorrente (5100290-11) foi autofecundado para obtenção da população segregante, a qual foi submetida à avaliação fenotípica quanto à resistência ao mosaico-comum nos ciclos subsequentes de autofecundação. No segundo ciclo de autofecundação, a linhagem isogênica, cuja descendência não segregou para resistência ao mosaico-comum, foi a selecionada como a versão resistente de L5100290-11.

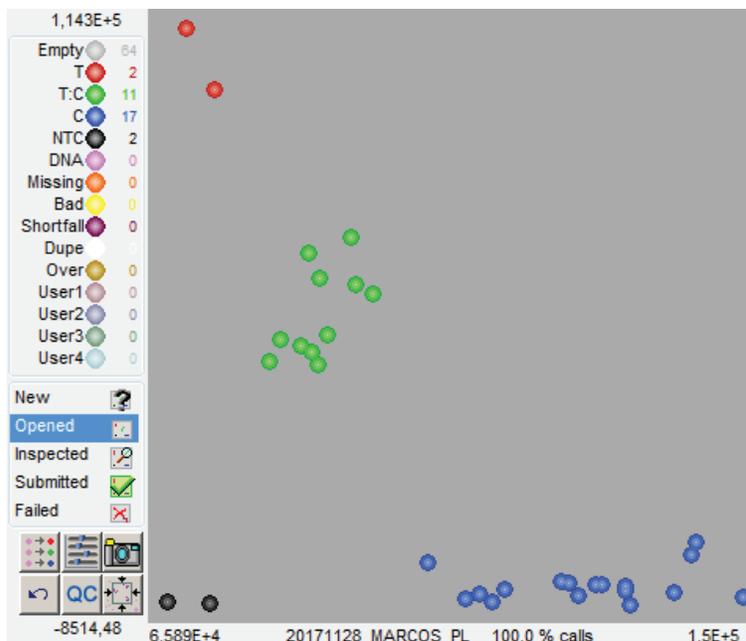


Figura 3. Genotipagem dos indivíduos RC_1F_1 (5100290-11x541145) com o marcador KASP PZA01292_1. Em azul estão representados os indivíduos homocigotos com alelos C, derivado do parental 5100290-11 (A); em verde estão representados os indivíduos heterocigotos com alelos T:C (H); em vermelho está representado o parental 541145 utilizado como controle homocigoto com alelos T (B) e em preto está representado o controle negativo (mix de reação adicionado de água).

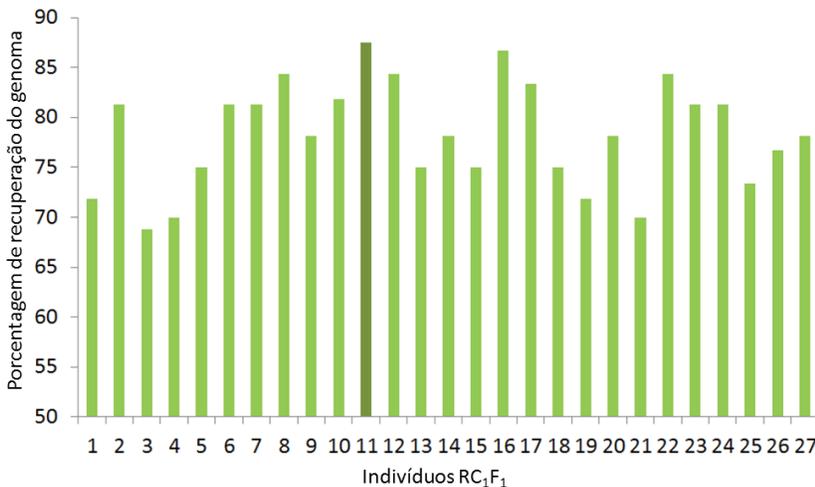


Figura 4. Porcentagem de recuperação do genoma na população RC_1F_1 (5100290-11x541145). Em destaque o indivíduo 11 com 87,50% de recuperação do genoma do parental recorrente.

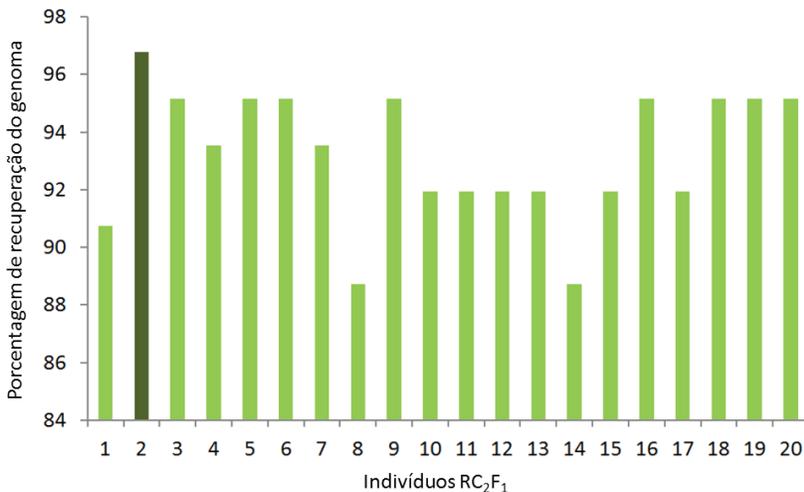


Figura 5. Porcentagem de recuperação do genoma na população RC_2F_1 (5100290-11x541145). Em destaque, o indivíduo 2 com 96,8% de recuperação do genoma do parental recorrente.

O retrocruzamento está a muito estabelecido em esquemas de melhoramento, em que a característica de um parental doador é introgridida no genoma de um parental recorrente. Pelo retrocruzamento convencional, não há um número absoluto, entretanto, Hasan et al. (2015) mencionam que geralmente são necessários entre seis e oito ciclos para introgressão da característica de interesse. Entretanto, quando se emprega o retrocruzamento assistido por marcadores moleculares, além da redução em ciclos de RC, a possibilidade de *linkage drag* é menor, o que é mais difícil de ser contornado com o retrocruzamento convencional (Hospital, 2001).

Após a segunda geração de retrocruzamentos, as plantas individuais resistentes, com maior percentagem de recuperação do genoma recorrente foram autofecundadas. A descendência dessas plantas autofecundadas foi submetida à seleção dos resistentes ao mosaico-comum. Em seguida, os genótipos considerados resistentes passaram por um segundo ciclo de autofecundação, e foram selecionadas aquelas plantas cuja descendência não segregou para a resistência ao mosaico, isto é, linhagens consideradas como homozigotas para a característica de interesse.

Conclusões

(i) Seleção de genótipos de milho quanto à resistência ao mosaico-comum. Por meio do processo de inoculação artificial empregado, foi possível selecionar genótipos de milho do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo quanto à resistência à virose mosaico-comum causada pelo *Sugarcane mosaic virus*.

(ii) Introgessão da resistência ao mosaico-comum em linhagem-elite de milho empregando fonte de resistência de mesmo grupo heterótico. Os ciclos de retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares, seguidos de inoculações artificiais e seleções fenotípicas para resistência ao mosaico-comum, permitiram o uso de linhagens-elites de mesmo grupo heterótico, como fonte de resistência ao mosaico-comum para as linhagens recorrentes. Os retrocruzamentos assistidos por marcadores moleculares aceleraram o processo em relação aos ganhos em tempo e eficiência na identificação dos indivíduos com maior percentagem de recuperação do parental recorrente.

Agradecimentos

Agradecemos ao assistente Célio Ramos das Neves pelo apoio nos trabalhos em casa de vegetação e de laboratório.

Referências

APOLINÁRIO, L. C.; BARROS, B. A.; PINTO, M. O.; MAGALHÃES, J. V.; GUIMARÃES, L. J. M.; GUIMARÃES, F. F. M.; GUIMARÃES, C. T. Aumento da tolerância ao alumínio em linhagens elites de milho conferido pela introgressão do alelo superior do gene ZmMATE1. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 32., 2018, Lavras. **Soluções integradas para os sistemas de produção de milho e sorgo no Brasil**: resumos. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2018.

DECROOCQ, V.; FAVÉ, M.; HAGEN, L.; BORDENAVE, L.; DECROOCQ, S. Development and transferability of apricot and grape EST microsatellite markers across taxa. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, p. 912-922, 2003.

DENG, C. L.; WANG, W. J.; WANG, Z. Y.; JIANG, X.; CAO, Y.; ZHOU, T.; WANG, F. R.; LI, H. F.; FAN, Z. F. The genomic sequence and biological properties of Pennisetum mosaic virus, a novel monocot-infecting potyvirus. **Archives of Virology**, v. 153, n. 5, p. 921-927, 2008.

HASAN, M. M.; RAFII, M. Y.; ISMAIL, M. R.; MAHMOOD, M.; RAHIM, H. A.; ALAM, M. A.; ASHKANI, S.; MALEK, M. A.; LATIF, M. A. Marker-assisted backcrossing: a useful method for rice improvement. **Biotechnology, Biotechnological Equipment**, v. 29, n. 2, p. 237-254, 2015.

HOSPITAL, F. Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. **Genetics**, v. 158, n. 3, p. 1363-1379, 2001.

LADEJOBI, O.; SALAUDEEN, M. T.; KUMAR, P. L.; MENKIR, A.; ADESOYE, A.; ATIRI, G.; GEDIL, M. Mapping of QTLs associated with recovery resistance to streak virus disease in maize. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 63, p. 115-121, 2018.

LANA, U. G. P.; GOMES, P. C.; TINOCO, C. F. S.; SILVA, B. C. F.; GUIMARÃES, C. T.; MAGALHÃES, J. V. **Procedimento da Embrapa Milho e Sorgo para extração de DNA de tecido vegetal em larga escala**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 104).

LATEEF, D. D. DNA marker technologies in plants and applications for crop improvements. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 3, p. 7-18, 2015.

LI, C. Y.; KOROL, A. B.; FAHIMA, T.; BEILES, A.; NEVO, E. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. **Molecular Ecology**, v.11, p. 2453-2465, 2002.

MA, H.; ZHANG, J.; ZHANG, J.; ZHOU, S.; HAN, H.; LIU, W.; YANG, X.; LI, X.; LI, L. Development of P genome-specific SNPs and their application intracing *Agropyron cristatum* introgressions in common wheat. **The Crop Journal**, Aug. 2018.

MORGANTE, M.; HANAFEY, M.; POWELL, W. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. **Nature Genetics**, v. 30, p. 194-200, 2002.

SCHUELTER, A. R.; SOUZA, I. R. P. de; OLIVEIRA, E. de; GUIMARÃES, C. T. Controle genético da resistência ao mosaico comum em linhagens de milho tropical. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 2, n. 3, p. 103-110, set./dez. 2003.

SEMAGN, K.; BABU, R.; HEARNE, S.; OLSEN, M. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. **Molecular Breeding**, v. 33, p. 1-4, 2014.

SHEIFERS, D. L.; SALOMON, R.; MARIE-JEANNE, V.; ALLIOT, B.; SIGNORET, P.; HABER, S.; LOBODA, A.; ENS, W.; SHE, Y. M.; STANDING, K. G. Characterization of a novel potyvirus isolated from maize in Israel. **Phytopathology**, v. 90, p. 505-513, 2000.

SHUKLA, D. D.; WARD, C. W.; BRUNT, A. A. **The Potyviridae**. Cambridge: CAB, 1994.

SOUZA, I. R. P. de; BARROS, B. de A. Detecção molecular e identificação de espécies de potyvírus do mosaico-comum em milho e sorgo. In: OLIVEIRA,

C. M. de; SABATO, E. de O. (Ed.). **Doenças em milho**: insetos-vetores, mollicutes e vírus. Brasília, DF: Embrapa, 2017. cap. 15, p. 225-232.

SOUZA, I. R. P. de; BARROS, B. de A.; XAVIER, A. da S.; CARVALHO, S. G. M.; SABATO, E. de O.; GONÇALVES, I. A. M.; NODA, R. W.; RODRIGUES, J. A. S. Johnsongrass mosaic virus infecting sorghum in Brazil. **International Journal of Current Research**, v. 9, n. 12, p. 63415-63422, Dec. 2017.

SOUZA, I. R. P. de; GIOLITTI, F.; CARNEIRO, N. P.; LENARDON, S. L.; OLIVEIRA, E. de; GOMES, E. A.; NODA, R. W.; SOUZA, F. A. de. Sequence diversity in coat protein of SCMV infecting maize and sorghum in Brazil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 11, n. 2, p. 120-136, 2012.

SOUZA, I. R. P.; OLIVEIRA, E. O. S. Virose mosaico no milho e no sorgo. **Jornal Eletrônico da Embrapa Milho e Sorgo**, ano 7, n. 50, dez. 2013.

SOUZA, I. R. P.; SCHUELTER, A. R.; GUIMARÃES, C. T.; SCHUSTER, I.; OLIVEIRA, E.; REDINBAUGH, M. Mapping QTL contributing to SCMV resistance in tropical maize. **Hereditas**, v. 145, n. 4, p. 167-173, 2008.

WAQUIL, J. M.; OLIVEIRA, E.; PINTO, N. F. J. A.; FERNANDES, F. T.; CORREA, L. A. Efeito na produção e incidência de viroses em híbridos comerciais de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 460-463, 1996.

ZAIDI, P. H.; RASHID, Z.; VINAYAN, M. T.; ALMEIDA, G. D.; PHAGNA, R. K.; BABU, R. QTL Mapping of agronomic waterlogging tolerance using recombinant inbred lines derived from tropical maize (*Zea mays* L) germplasm **Plos One**, v. 10, n. 4, e0124350, 2015.

Embrapa

Milho e Sorgo



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

