

Grão em Grão



Jornal Eletrônico da Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas-MG)

Ano 04 - Edição 26 - Agosto / Setembro de 2010

Artigo

Avaliação molecular da macho-esterilidade citoplasmática em milho

por [Sílvia Neto Jardim Belicuas](#) e [Lauro José Moreira Guimarães](#)



Pesquisadores do Núcleo de Recursos Genéticos e Desenvolvimento de Cultivares da Embrapa Milho e Sorgo



A reprodução sexual em milho é um processo que envolve a expressão de genes específicos em células do tecido reprodutivo masculino e feminino da planta.

Assim, alterações em qualquer fase desse processo podem levar à falta de fertilidade. A macho-esterilidade ocorre quando não há a produção de gametas masculinos viáveis, apesar de os órgãos florais femininos e as estruturas vegetativas não apresentarem qualquer anomalia.

A macho-esterilidade é uma característica que pode ser empregada como valiosa ferramenta para a produção comercial de sementes e já foi identificada em muitas espécies vegetais, sendo um componente estratégico para a produção comercial de híbridos em muitas culturas como sorgo, arroz, soja e girassol, pois pode ser empregada para evitar que ocorram autofecundações nas linhas onde estão sendo produzidas as sementes (linhas fêmeas). Em geral, um genótipo restaurador homocigoto é empregado como o parental masculino do híbrido. Além disso, a garantia da pureza genética das linhagens parentais e dos próprios híbridos é um pré-requisito fundamental para a expressão de todo o potencial deste tipo de cultivar. Portanto, a utilização da esterilidade masculina na produção de sementes híbridas apresenta importância econômica, além de assegurar a pureza das sementes genéticas.

Em milho, existem dois tipos distintos de macho-esterilidade, a nuclear e a citoplasmática. A macho-esterilidade nuclear ocorre quando existem mutações recessivas em genes nucleares que interrompem a gametogênese masculina. A macho-esterilidade citoplasmática é uma característica que envolve genes mitocondriais, herdados maternalmente, e restauradores da fertilidade de natureza nuclear. Os genes indutores da macho-esterilidade citoplasmática são gerados pelo rearranjo do genoma mitocondrial que resulta em produtos gênicos aberrantes e/ou níveis alterados de produtos gênicos normais.

No caso da macho-esterilidade citoplasmática, a fertilidade pode ser restaurada por genes nucleares denominados *rf*. Esses

genes restauradores (*rf*) são capazes de suprimir o efeito dos genes de macho-esterilidade mitocondriais. Desta forma, o cruzamento entre uma linhagem macho-estéril com uma linhagem restauradora produz híbrido fértil, garantindo polinização e produção de grãos nas lavouras comerciais.

Entretanto, fatores climáticos como temperatura do ar e evapotranspiração também podem provocar restauração parcial da fertilidade de materiais com macho-esterilidade citoplasmática. Essas interações com o ambiente podem ser prejudiciais ao processo de produção de sementes comerciais, uma vez que linhagens fêmeas com macho-esterilidade podem apresentar algum grau de reversão. Neste caso, as linhagens fêmeas podem produzir pólen viável capaz de contaminar o campo de produção de sementes híbridas. Existe variabilidade para a restauração natural de fertilidade e, portanto, é recomendada a utilização de linhagens macho-estéreis com baixa porcentagem de reversão e alta estabilidade para esta característica.

Em milho, esta característica foi primeiramente descrita por Rhoades em 1933. Nesta espécie existem três sistemas distintos de macho-esterilidade citoplasmática: Texas ou T, USDA ou S e Charrua ou C. Estas três categorias são definidas pela capacidade de restauração dos genes nucleares na primeira geração (F1), sendo que os restauradores *rf* são específicos para cada tipo de citoplasma, não promovendo restauração de fertilidade em outros tipos citoplasmáticos.

O citoplasma T foi amplamente empregado para a produção de híbridos até o final da década de 60, principalmente nos EUA. As linhagens estéreis nesse subtipo apresentam ausência de pólen, com alta estabilidade, e linhagens restauradoras eram facilmente encontradas. Entretanto, a macho-esterilidade T foi praticamente extinta da produção de híbridos comerciais em consequência de uma epidemia causada pelo patógeno *Bipolaris maydis* raça T, causador da mancha de *Bipolaris maydis*. Entre 1969 e 1970, a incidência desta doença foi extremamente forte nas cultivares que apresentavam citoplasma T, e afetou drasticamente a produção de milho em função da susceptibilidade deste tipo de genótipo à toxina produzida por este fungo. A partir de então, passou-se a empregar o citoplasma normal ou o do tipo C ou S, mas com ressalvas, pois estes tipos citoplasmáticos não são tão estáveis quanto o T, podendo ocorrer a reversão espontânea da fertilidade.

A esterilidade masculina condicionada pelo citoplasma C em milho mostra-se mais estável que aquela observada pelo citoplasma S e não está associada a doença alguma. Desta forma, atualmente o citoplasma C tem sido o mais utilizado para geração de linhagens macho-estéreis em programas de melhoramento de milho.

Para a produção de sementes básicas no sistema que emprega a macho-esterilidade citoplasmática é necessária a utilização de linhagens mantenedoras, que são férteis por possuírem citoplasma normal, mas sem genes *rf*, para serem as polinizadoras de suas versões macho-estéreis. Como as linhagens macho-estéreis e mantenedoras são isogênicas do ponto de vista nuclear, não é possível distinguir entre elas até a época do florescimento. A pureza dos lotes de sementes das linhagens parentais e dos híbridos comerciais normalmente é avaliada por meio de *grow-out*, em uma amostra representativa. Esse processo envolve o crescimento das plantas até que atinjam a maturidade e a avaliação das características fenotípicas dos materiais sob avaliação. O *grow-out* é caro e o resultado está sujeito à interação genótipo x ambiente.

Marcadores moleculares podem ser empregados para acessar mais rápida e precisamente a pureza genética de híbridos e das linhas parentais, inclusive em um sistema que emprega a macho-esterilidade citoplasmática. Mutações específicas no DNA mitocondrial, associadas com cada tipo de macho-esterilidade citoplasmática, são empregadas para diferenciar entre os citoplasmas C, T ou S, com bastante rapidez por meio de reações em cadeia da polimerase, ou PCR. A utilização de marcadores moleculares para estes genes citoplasmáticos permite, também, diferenciar plantas com citoplasma normal.

Uma análise das linhagens-elite do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo permitiu a confirmação

da macho-esterilidade tipo C em alguns destes materiais. Na figura 1, podem ser visualizados detalhes do florescimento de uma linhagem-elite, nas versões fértil e macho-estéril, plantadas na mesma época. Foi realizado um teste por meio da amplificação com os marcadores CMS T, CMS S e CMS C. Foi obtido um fragmento de 398 pares de bases amplificado com o marcador CMS C, indicando macho-esterilidade citoplasmática do tipo C no material analisado (Figura 2).

A recombinação no genoma mitocondrial das plantas é uma grande força evolucionária responsável pela criação de variação genética. Diferenças na estrutura e na expressão do genoma mitocondrial podem fornecer critérios moleculares para a sua diferenciação por meio de marcadores moleculares. Esta ferramenta possibilita resposta rápida e simples na identificação de citoplasmas macho-estéreis disponíveis para o melhorista e para o controle de qualidade na indústria de sementes.

Figura 1: Detalhes de plantas férteis e macho-estéreis. A: Plantas macho-estéreis em fase de florescimento (pendões fechados, sem pólen). B: Detalhe do pendão de planta macho-estéril (pendão fechado, sem pólen). C: Detalhe do pendão de planta fértil (pendão com anteras liberando pólen).

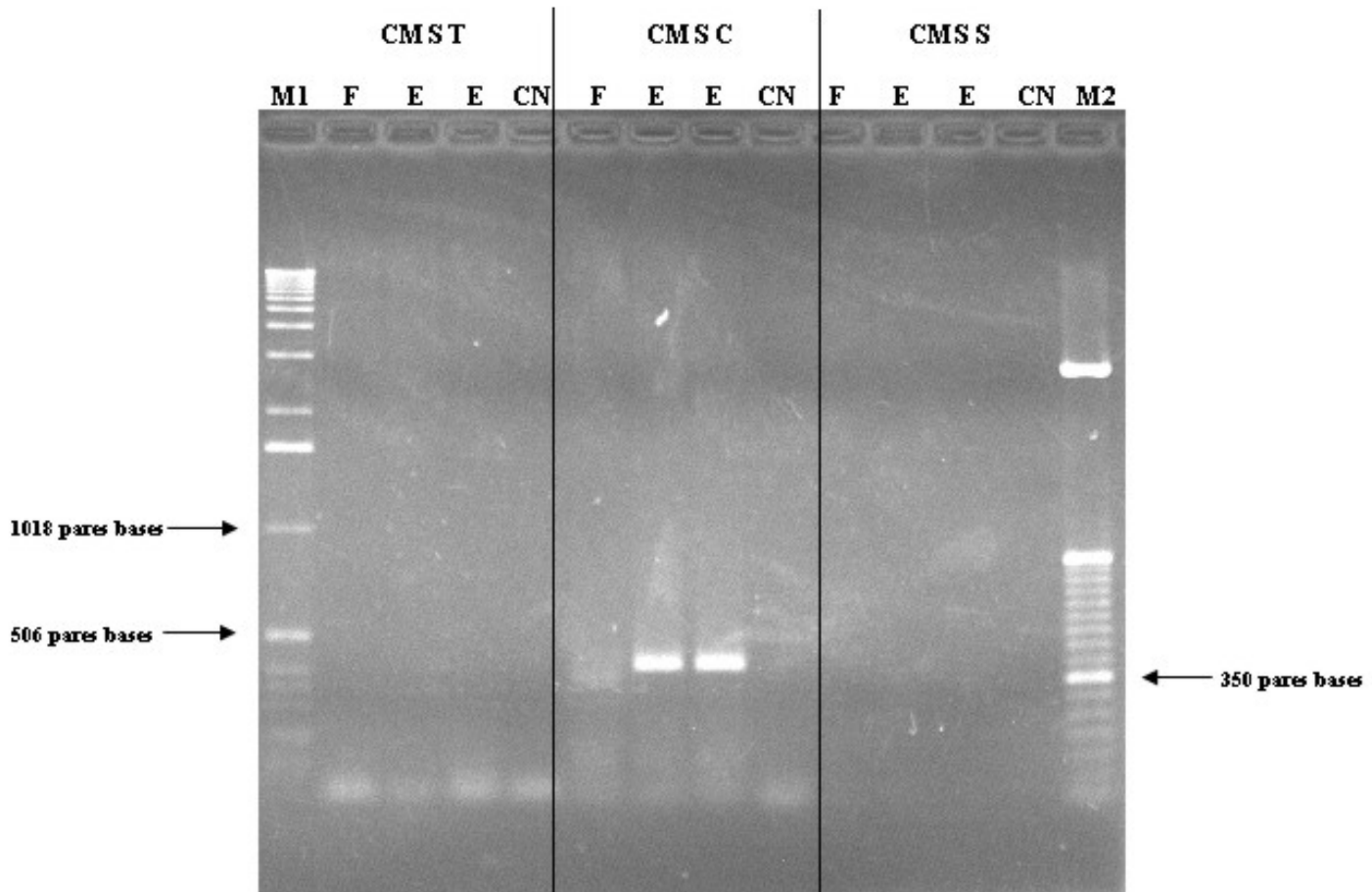


Figura 2: Teste para verificação do tipo de macho-esterilidade citoplasmática em linhagem-elite do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, por meio da amplificação com os marcadores CMS T, CMS S e CMS C, conforme descrito por Liu et al. (2002). Fragmento de 398 pares de bases amplificado com o marcador CMS C nas amostras estéreis indicando macho-esterilidade citoplasmática do tipo C. M1: marcador de peso molecular 1Kb DNA Ladder (Invitrogen, Cat. No. 15615-016). F: amostra de linhagem fértil. E: amostra de linhagem estéril. CN: controle negativo, reação de amplificação sem DNA. M2. Marcador de peso molecular 50 pb DNA Ladder (Invitrogen, Cat. No.: 10416-014).

PÁGINA INICIAL



Milho e Sorgo

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Rod. MG 424 KM 45 - Caixa Postal 151

35702-098 Sete Lagoas, MG

Telefone: (31) 3027-1100 - Fax (31) 3027-1188

www.cnpms.embrapa.br

sac@cnpms.embrapa.br