

Seleção Genômica Ampla Para Caracteres de Raiz em Milho Tropical em Condições de Estresse de Fósforo

Ítalo Stefanine Correia Granato¹, Roberto Fritsche-Neto², Júlio César do Vale Silva³,
Marcos Deon Vilela de Resende⁴ e Carlos S.Sediyama⁵

Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG ¹italo.granato@gmail.com,
²roberto.neto@ufv.br, ⁵csediyama@ufv.br Embrapa Florestas, Colombo-PR.
⁴deon@cnpf.embrapa.br. Universidade Federal do Tocantins, Gurui - TO,
³juliocvale@gmail.com

Resumo - O objetivo foi verificar a eficiência do método de Seleção Genoma Ampla (GWS) no melhoramento de milho tropical para caracteres de raiz em condições de estresse de fósforo. Foram avaliadas em condição de estresse de fósforo 41 combinações híbridas. As plantas foram coletadas em no estádio V6. Os comprimentos lateral (L_{LAT}) e axial (L_{AXI}) de raiz foram obtidos por meio do software WinRhizo. Os dados obtidos foram analisados pela metodologia REML/BLUP. Na genotipagem da população de estimação, foram utilizados 80 marcadores microssatélites (SSR). A predição dos valores genéticos genômicos dos híbridos foi obtida via RR-BLUP/GWS. Para os caracteres em que a GWS apresentou altos valores de acurácia seletiva, ela foi comparada com os métodos de seleção recorrente e seleção recorrente recíproca. Com o método da GWS houve aumentos nos ganhos de seleção para caracteres de raiz em condições de estresse nutricional.

Palavras-Chave – Seleção precoce direta, estresses abióticos, métodos de melhoramento.

Introdução

O fósforo participa de diversos processos metabólicos das plantas, como na geração de energia, no metabolismo do carbono, além de ser constituinte de moléculas como os ácidos nucleicos e proteínas. Entretanto nos solos tropicais é um fator limitante principalmente porque está firmemente ligado aos constituintes do solo, tais como óxidos de Fe e Al ou matéria orgânica recalcitrante, o que o torna não disponível para as plantas (BARBER, 1995).

Assim, a seleção de genótipos que se desenvolvem e produzam de modo satisfatório em condições de estresse por baixa disponibilidade de fósforo no solo se torna crucial. Neste sentido, diversos relatam que há uma forte associação entre caracteres de raiz e os componentes da eficiência no uso nutricional (BONIFAS e LINDQUIST, 2009; ZHU et al, 2005;.. LIU et al, 2004). Entretanto, é importante ressaltar que a avaliação e seleção com base no fenótipo para caracteres de raiz utilizam métodos destrutivos da planta, o qual, dependendo da estrutura genética, não permite a utilização daqueles identificados como sendo superior em hibridações (FRITSCH-

NETO, 2012). Além disso, a avaliação de caracteres como a arquitetura do sistema radicular não é possível em ambientes de campo (DORLOT, 2007), ou ainda, em grandes quantidades de amostras.

Diante destas limitações da seleção fenotípica, a Seleção Gênômica Ampla (GWS) pode ser uma ferramenta útil, pois permite identificar genótipos superiores, sem o uso de métodos destrutivos, em estágios precoces da planta, aumentando o ganho de seleção e diminuindo intervalo de gerações.

Assim, o objetivo foi verificar a eficiência do método GWS no melhoramento de milho tropical para caracteres de raiz em condições de estresse de fósforo.

Material e Métodos

O experimento foi realizado com duas fontes de germoplasma de milho: a primeira composta de sete linhagens com eficiência no uso de fósforo (EUP) e contrastantes para eficiência no uso de nitrogênio (EUN) (Grupo I) e a segunda de sete linhagens homogêneas na EUN e contrastantes para a EUP (Grupo II). Pelo cruzamento entre as linhagens dos dois grupos, foram obtidas 41 combinações híbridas por meio de cruzamentos em esquema fatorial interpopulacional (desbalanceado).

As 41 combinações híbridas obtidas foram avaliadas em condições de baixa disponibilidade de P conforme descrito por Walk et al. (2006) e Chun et al. (2005). Nestes, foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso com duas repetições. As plantas foram coletadas no estágio vegetativo de seis folhas completamente expandidas (V6), aproximadamente 25 dias após a semeadura. O sistema radicular das plantas foi avaliado por análise de imagem obtida através de scanner usando software WinRhizo Pro 2009a (Basic, Reg, Pro & Arabidopsis para Medição Root). Os comprimentos lateral e axial das raízes foram extraídos a partir de todas as classes de diâmetro (d) obtidos pelo WinRhizo e classificados como comprimento da raiz lateral (L_{LAT}) com diâmetro inferior ou igual a 0,5 mm e comprimento da raiz axial (L_{AXI}) com diâmetro superior a 0,5 mm, de acordo com Trachsel et al. (2009).

80 marcadores microssatélites (SSR) foram utilizados na genotipagem das 14 linhagens genitoras, ou seja, da população de estimação. Estes marcadores foram escolhidos por sua associação com características agronômicas e tolerância a estresses abióticos (MAIZEGDB - <http://www.maizegdb.org/ssr.php>).

Para a obtenção das estimativas dos parâmetros genéticos, os dados obtidos foram submetidos a análises estatísticas por meio do método da Máxima Verossimilhança Restrita/Melhor Preditor Linear Não Viesado (REML/BLUP) (RESENDE, 2002).

A predição dos valores genéticos genômicos foi obtida via Regressão Aleatória (Random Regression) do tipo BLUP (RR-BLUP) aplicado à seleção genômica ampla (RR-BLUP/GWS) como descrito por Guo et al. (2012):

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Zh} + \mathbf{e}$$

em que, \mathbf{y} : é o vetor de médias fenotípicas de cada combinação híbrida, \mathbf{b} : é o vetor de efeitos fixos, \mathbf{h} : é o vetor dos efeitos aleatórios dos marcadores e \mathbf{e} : refere-se ao vetor de resíduos aleatórios. \mathbf{X} e \mathbf{Z} são as matrizes de incidência para \mathbf{b} e \mathbf{h} . A matriz de incidência \mathbf{Z} contém os valores 0, 1 e 2 para o número de alelos. A estrutura de médias e variâncias é definida como:

$$h \sim N(0, G); E(y = Xb); e \sim N(0, R = I\sigma_e^2); \text{Var}(\mathbf{y}) = \mathbf{V} = \mathbf{ZGZ}' + \mathbf{R}; G = I\sigma_A^2 / n.$$

O valor genético genômico global do indivíduo j é dado por $VGG = \hat{y}_j = \sum_i Z_i \hat{h}_i$.

Primeiramente, foi analisado todo o conjunto de marcadores moleculares em todos os indivíduos fenotipados (população de estimação completa). A partir destes resultados, foram gerados nove subgrupos de alelos marcadores, formados por 214 (todos os alelos), 150, 100, 50, 25, 10, 5, 2 e 1. A formação destes subgrupos foi realizada baseada no efeito (em módulo) dos alelos marcadores obtidos na análise inicial, ou seja, considerando todos os 214. A partir destes valores, de modo sequencial, foram retirados da análise os de menor efeito, até atingir o extremo de apenas um alelo marcador (o de maior efeito) formando o subgrupo. A validação cruzada foi realizada pela reamostragem de um grupo de indivíduos via procedimento *Jackknife* (HELTSHE e FORRESTER 1983).

Para os caracteres em que a GWS apresentou valores de acurácia seletiva superior a fenotípica, ela foi comparada com o método da seleção recorrente recíproca (SRR). Para a SRR, foi considerada a formação de duas populações base (Grupos heteróticos – GH), originadas do livre cruzamento entre diversas linhagens. Entre estas populações, seriam obtidas 200 progênies de meio-irmãos maternos interpopulacionais para avaliação e 200 progênies endogâmicas S_I intrapopulacional para recombinação dentro de cada população. Estas progênies seriam então avaliadas em um experimento com duas repetições, sendo a parcela constituída de 25 plantas, totalizando 10.000 plantas avaliadas. Além disso, foi considerada a seleção de 10% das progênies superiores.

No caso da GWS Interpopulacional, foi considerada, na mesma população de 10.000 plantas da SRR, em dois GH de 5.000 plantas, em que, foi simulada a seleção dos 100 melhores indivíduos antes do florescimento e a sua recombinação dentro de

cada GH, ou seja, intensidade de seleção de 2%, em nível de indivíduo, com coincidência entre as gerações de avaliação e recombinação.

Os ganhos em desvios padrão genéticos aditivos da seleção foram estimados por $GS = k.r_{g\hat{g}}$, em que, $k=1,76$ para o método da SRR e $2,42$ para o da GWS; $r_{g\hat{g}}$ é a acurácia seletiva (descrita anteriormente para o método GWS), obtida por $\sqrt{1/4h_{Am}^{2*}}$ para o método da SRR, em que, $h_{Am}^{2*} = \frac{r.(1/2)h_A^2}{1+(r-1)(1/4)h_A^2}$.

A partir destas estimativas foi obtida, para cada carácter, a eficiência do método GWS em relação ao SRR por $EF_{GWS(\%)} = \frac{GS_{GWS}.t_{SRI}}{GS_{SRI}.t_{GWS}}.100$, em que, GS é o ganho de seleção estimado em desvios padrão genético aditivos para cada um dos métodos (GWS, SRR); e t é o tempo médio (em anos) do ciclo de cada um dos métodos, sendo $1,5$ para o da SRR e $1,0$ e $0,5$ para o da GWS, considerando a possibilidade de um ou dois ciclos por ano, respectivamente.

Resultados e Discussão

Considerando os resultados dos ganhos preditos obtidos com um ciclo de GWS por ano, é possível obter aumento na eficiência de seleção em relação ao método da SRR, para os caracteres L_{LAT} e L_{AXI} em baixo fósforo no solo de 608% e 419% , respectivamente (Tabela 1). Quando foi considerada a possibilidade de dois ciclos de GWS por ano, estes valores passaram para 1960% e 1350% , respectivamente. Com isto, é possível observar que com a GWS há um aumento significativo na acurácia seletiva, nos ganhos por unidade de tempo e no processo de melhoramento genético.

O aumento no ganho de seleção com a GWS é devido a vários fatores, dentre eles pode ser mencionado: i) a coincidência entre as unidades e gerações de seleção e recombinação em apenas um ciclo de seleção recorrente. Além disso, a seleção é executada nos próprio indivíduo e não baseada em progênies. Além disso, não precisa ser feita no ambiente ideal de avaliação. Deste modo, há um aumento da acurácia seletiva, no ganho por unidade de tempo, e conseqüentemente, na eficiência dos programas de melhoramento.

Conclusões

O método da Seleção Genômica Ampla apresenta eficiência relativa superior aos métodos tradicionais de seleção recorrente para caracteres de raiz em milho tropical em condições de baixo fósforo no solo.

Agradecimentos

À FAPEMIG, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e a Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pelos recursos genéticos e humanos concedidos.

Literatura Citada

BARBER S.A. Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach. Wiley, New York 1995.

BONIFAS, K. D., LINDQUIST, J. L. Effects of Nitrogen Supply on the Root Morphology of Corn and Velvet leaf. *Journal of Plant Nutrition*, v. 32, n. 8, p. 1371–1382, 2009.

CHUN, L.; MI, G. H.; LI, J.S.; CHEN, F.J.; ZHANG, F.S. Genetic analysis of maize root characteristics in response to low nitrogen stress. *Plant Soil*, v.276, p.369-382, 2005.

DE DORLODOT, S., FORSTER, B., PAGÈS, L., PRICE, A., TUBEROSA, R., DRAYE, X. Root system architecture: opportunities and constraints for genetic improvement of crops. *Trends in Plant Science*, 12 (10), p. 474-481, 2007.

FRITSCHÉ-NETO, R. Genome wide selection for root traits in topical maize under stress conditions of nitrogen and phosphorus, 2012.

GUO, Z., TUCKER, D. M., LU, J., KISHORE, V., GAY, G. Evaluation of genome-wide selection efficiency in maize nested association mapping populations. *Theoretical and Applied Genetics*, v.122, p.261-275, 2012.

HELTSHE, J. F.; FORRESTER, N. E. Estimating species richness using the jackknife procedure. *Biometrics*, v. 39, n. 1, p. 1-11, 1983.

LIU, Y.; MI, G. H.; CHEN, F. J.; ZHANG, J. H.; ZHANG, F. S. Rhizosphere effect and root growth of two maize (*Zea mays* L.) genotypes with contrasting P efficiency at low P availability. *Plant Science*, v. 167, n. 2, p. 217-223, 2004.

RESENDE, M. D. V. Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002.

TRACHSEL, S.; MESSMER, R.; STAMP, P.; HUND, A. Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 119, n. 8, p. 1413-1424, 2009.

ZHU, J. M.; KAEPLER, S. M.; LYNCH, J. P. Mapping of QTLs for lateral root branching and length in maize (*Zea mays* L.) under differential phosphorus supply. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 111, n. 4, p. 688-695, 2005.

Tabela 1 - Estimativas de ganhos com a seleção (GS) em desvios padrão genético aditivos em cada método considerado e a eficiência relativa (ER) da seleção genômica ampla (GWS), com um (GWS 1) ou dois (GWS 2) ciclos por ano, em relação ao método da seleção recorrente (SR) e seleção recorrente recíproca (SRR), para comprimento lateral (L_{LAT}) e axial (L_{AXI}) em baixo fósforo (BP), em milho, Viçosa, MG

Estimativa	Método	Caráter	
		L_{LAT}	L_{AXI}
GS	SR/SRR	0.42	0.31
	GWS	1.70	0.87
ER (%)	GWS 1	608	419
	GWS 2	1960	1350