

# Seleção Genômica Ampla para os Componentes da Eficiência no Uso de Nitrogênio em Milho

Rodrigo Oliveira DeLima<sup>1</sup>, Roberto Fritsche-Neto<sup>2</sup>, Júlio César DoVale<sup>3</sup>, Felipe Pereira Bermudez<sup>1</sup>, Éder Cristian Malta Lanes<sup>1</sup>, Marcos Deon Vilela de Resende<sup>4</sup>, Carlos Sigueyuki Sedyama<sup>2</sup> e Glauco Vieira Miranda<sup>2</sup>

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia do método da seleção genômica ampla (GWS) no melhoramento demilho para os componentes da eficiência no uso de nitrogênio (EUN). Para isto, foram avaliadas 41 combinações híbridas de milho, em alta e baixa disponibilidade de N, em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em outubro de 2010. As plantas foram coletadas no estádio V6. Foram estimados os dois componentes da EUN, que são as eficiências na absorção e na utilização de N. Os dados obtidos foram submetidos a análises estatísticas via metodologia REML/BLUP. Na genotipagem da população de estimação, foram utilizados 80 marcadores microssatélites (SSR). A predição dos valores genéticos 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 a seleção recorrente intrapopulacional. Com o uso da GWS houve um aumento significativo na acurácia seletiva e nos ganhos estimados por unidade de tempo para os componentes da eficiência no uso de nitrogênio em milho em alto e baixo nitrogênio.

## Introdução

Aproximadamente 50% da área mundial plantada com milho no mundo são cultivadas em condições edafoclimáticas tropicais, nas quais, geralmente, o cultivo é conduzido em baixa disponibilidade de nitrogênio (N) (Monneveux et al., 2005). Assim, a eficiência no uso de N (EUN) pelas plantas é importante, pois permite alcançar produtividades satisfatórias, com menores custos e de modo sustentável (Ahlgren et al., 2008).

Mollet et al. (1982) definiram a EUN como produtividade de grãos ou de parte aérea seca por unidade de N disponível para a planta. A avaliação e a seleção baseadas no fenótipo para EUN utilizam geralmente métodos destrutivos da planta, o que, dependendo da estrutura genética da população, não permite o uso daquelas identificadas como superiores em hibridações. Consequentemente há redução no potencial dos ganhos a serem obtidos com a seleção.

A seleção genômica ampla (GWS) foi proposta visando aumentar a eficiência do melhoramento genético (Meuwissen et al., 2001). Com a GWS, a predição e a seleção podem ser realizadas em fases juvenis das plantas, acelerando assim o processo de melhoramento (Resende, 2008) e, ainda, sem utilizar métodos destrutivos.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi o verificar a eficácia do método da GWS no melhoramento do milho para os componentes da EUN.

## Material e Métodos

Para a condução dos experimentos foram utilizadas duas fontes de germoplasma: a primeira composta de sete linhagens que não diferem para eficiência no uso de fósforo (EUP) e contrastantes para EUN (Grupo I) e a segunda de sete linhagens homogêneas para 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 de fatorial interpopulacional (desbalanceado).

As 41 combinações híbridas obtidas foram avaliadas em alta e baixa disponibilidade de N, utilizando o delineamento de blocos ao acaso com duas repetições, em esquema fatorial simples (híbridos x níveis de N). O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa (20°45'14"S; 42°52'53"W), em outubro de 2010. Para genotipagem da população de estimação, foram utilizados 80 marcadores microssatélites (SSR). As plantas foram coletadas no estádio de seis folhas

<sup>1</sup> Pós-graduando em Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa (UFV). Av. PH Rolfs s/n, CEP 36570-000, Viçosa, MG. [rodrigoodelima@gmail.com](mailto:rodrigoodelima@gmail.com), [feliperamil@gmail.com](mailto:feliperamil@gmail.com), [edercml@gmail.com](mailto:edercml@gmail.com)

<sup>2</sup> Professores do departamento de fitotecnia da UFV. [roberto.neto@ufv.br](mailto:roberto.neto@ufv.br), [glaucovmiranda@ufv.br](mailto:glaucovmiranda@ufv.br), [csedyama@ufv.br](mailto:csedyama@ufv.br)

<sup>3</sup> Pós-graduando em Fitotecnia, UFV. [julio.vale@ufv.br](mailto:julio.vale@ufv.br)

<sup>4</sup> Pesquisador Embrapa Florestas. [deon@cnpf.embrapa.br](mailto:deon@cnpf.embrapa.br)

completamente expandidas (V6), 25 dias após a semeadura. A partir dos dados obtidos foram estimados os dois componentes da EUN (Mollet al., 1982): eficiência na absorção (EAbN = N na planta / N aplicado) e eficiência na utilização de N (EUtN = massa da parte aérea seca / N na planta).

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 das combinações híbridas foi obtida via Regressão Aleatória (RandomRegression) do tipo BLUP (RR-BLUP) aplicado à seleção genômica ampla (RR-BLUP/GWS), sendo esta um tipo especial da regressão de cumeeira (RidgeRegression) (Resende, 2008):

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

em que, **y**: é o vetor de médias fenotípicas de cada combinação híbrida, **b**: é o vetor de efeitos fixos, **h**: é o vetor dos efeitos aleatórios dos alelos marcadores e **e**: refere-se ao vetor de resíduos aleatórios. **X** e **Z** são as matrizes de incidência para **b** e **h**. A matriz de incidência **Z** contém os valores 0, 1 e 2 para o número de alelos. A estrutura de médias e variâncias é definida como:  $h \sim N(0, G)$ ;  $E(y = Xb) = \mathbf{y}$ ;  $\mathbf{e} \sim N(0, R = I\sigma_e^2)$ ;  $\text{Var}(\mathbf{y}) = \mathbf{V} = \mathbf{ZGZ}' + \mathbf{R}$ ;  $G = I\sigma_A^2 / n$ .

$$\text{O valor genético genômico global do indivíduo } j \text{ é dado por } VGG = \hat{y}_j = \sum_i Z_{ij} h_i.$$

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 seqüencial, 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 intrapopulacional (SRI). Para isto, foi considerada a formação de uma população base, originada do livre cruzamento entre diversas linhagens. Desta população, foram obtidas 200 progêñies de meio-irmãos maternos para avaliação e 200 progêñies endogâmicas  $S_I$  para recombinação. Estas progêñies foram 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 progêñies superiores.

No caso da GWS, foram consideradas, na mesma população de 10.000 plantas, a seleção dos 200 melhores indivíduos antes do florescimento e a sua recombinação, ou seja, intensidade de seleção de 2%, em nível de indivíduo, com controle parental em ambos os sexos e coincidência entre as gerações de avaliação e recombinação.

Os ganhos em desvios padrão genéticos aditivos da seleção foram estimados por  $GS = k \cdot r_{gg}$ , em que,  $k=1,76$  para o método da SRI e 2,42 para o da GWS;  $r_{gg}$  é a acurácia seletiva (descrita anteriormente para o método

$$\text{GWS}), \text{ obtida por } \sqrt{1/4h_{Am}^{2*}} \text{ para os métodos da SRI, em que, } h_{Am}^{2*} = \frac{r \cdot (1/2)h_A^2}{1 + (r-1)(1/4)h_A^2}.$$

A partir destas estimativas foi obtida, para cada caráter, a eficiência do método GWS em relação ao da SRI por  $EF_{GWS(\%)} = \frac{GS_{GWS} \cdot t_{SRI}}{GS_{SRI} \cdot t_{GWS}} \cdot 100$ , em que,  $GS$  é o ganho de seleção estimado em desvios-padrão genéticos

aditivos para cada um dos métodos (GWS e SRI); e  $t$  é o tempo médio (em anos) do ciclo de cada um dos métodos, sendo 1,5 para o da SRI 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 SRI, para os caracteres EAbN em baixo N (BN), EAbN, EUtN e a massa de parte aérea seca (MPS) em alto N (AN) de 306,98%, 393,84%, 816,99% e 363,82%, respectivamente (Tabela 1). Na possibilidade de dois ciclos de GWS por ano, estes valores passaram para

990,53%, 1270,80%, 2636,15% e 1173,92%, 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 em milho.

**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 daseleção recorrente intrapopulacional (SRI), para as eficiências de absorção (EAN), eficiência de utilização (EUtN) e massa de parte aérea seca (MPS) em baixo (BN) e alto N(AN) em milho.Viçosa, MG.

Parâmetro	Método	Carácter			
		EAbN (AN)	EAbN (BN)	EUtN (AN)	MPS (AN)
GS	SRI	0,69	0,65	0,31	0,70
	GWS	1,80	1,32	1,67	1,70
ER (%)	GWS 1	393,84	306,98	816,99	363,82
	GWS 2	1270,80	990,53	2636,15	1173,92

Para alcançar aumentos na EUN, é necessário o aumento de seus componentes (Hirelet al., 2007). Segundo Corrales et al. (2007), quando a disponibilidade de um determinado nutriente é limitante, a EAbN é mais importante que a EUtN. Assim, a EAbN tanto em alta disponibilidade de N como em baixa disponibilidade, são de grande interesse no ponto de vista de melhoramento para condições de estresses de N, e milho, pois possibilita a seleção indireta de plantas mais EUN, além de apresentar excelentes ganhos com a seleção por meio da GWS.

Deste modo, conclui-se que com o uso da GWS houve um aumento significativo na acurácia seletiva e nos ganhos estimados por unidade de tempo para os componentes da eficiência no uso de nitrogênio em milho, em alto e baixo nitrogênio.

## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo suporte financeiro para à condução dos experimentos.

## Referências

Ahlgren S, Baky A, Bernesson S, Nordberg A, Norén O and Hansson P (2008) Ammonium nitrate fertiliser production based on biomass – environmental effects from a life cycle perspective. **Bioresource Technology** **99**: 8034-8041.

Corrales I, Amenós M, Poschenrieder C and Barceló J (2007) Phosphorus efficiency and root exudates in two contrasting tropical maize varieties. **Journal of Plant Nutrition** **30**: 887–900.

Heltshe JF and Forrester NE (1983) Estimating species richness using the jackknife procedure. **Biometrics** **39**: 1-11.

Hirel B, Le Gouis J, Ney B and Gallais A (2007) The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. **Journal of Experimental Botany** **58**: 2369–2387.

Meuwissen T, Hayes B and Goddard M (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics** **157**: 1819-1829.

Moll RH, Kamprath EJ and Jackson WA (1982) Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal** **74**: 562-564.

Monneveux P, Zaidi PH and Sanches C (2005) Population density and low nitrogen affects yield – associated traits in tropical maize. **Crop Science** **45**: 535-545.

Resende MDV (2002) **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. EMBRAPA Informação Tecnológica, Brasília. 975p.

Resende MDV (2008) **Genômica quantitativa e seleção no melhoramento de plantas perenes e animais.**  
EMBRAPA Florestas, Colombo. 330p.