

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

Roberto Fritsche-Neto¹, Ítalo Stefanine Correia Granato¹, Júlio César DoVale² e Marcos Deon Vilela de Resende³

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

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 nitrogênio. Foram avaliadas em condição de estresse de nitrogênio 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. Estes dados foram analisados utilizando a 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 a seleção recorrente recíproca. Com o método da GWS houve aumento significativo nos ganhos com a seleção para caracteres de raiz em milho tropical, em condições de estresse por baixo nitrogênio no solo.

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

Introdução

Aproximadamente 50% da área mundial cultivada com milho são feitas em condições edafoclimáticas tropicais, nas quais, geralmente, o cultivo é conduzido em baixa disponibilidade de nitrogênio (N). Isto se deve à baixa fertilidade natural destes solos, a pouca aplicação de fertilizantes nitrogenados e à ocorrência de seca. Entretanto, sabe-se que o N está entre os principais nutrientes responsáveis pelo aumento da produtividade do milho (RICHARDSON et al., 2009).

Assim, a seleção de genótipos que se desenvolvem e produzem de modo satisfatório em condições de estresse por baixa disponibilidade de nitrogênio no solo se torna crucial. Neste sentido, diversos trabalhos relatam que há forte associação entre caracteres de raiz e os componentes da eficiência no uso nutricional (BONIFAS e LINDQUIST, 2009; TRACHSEL et al., 2009; WALK et al., 2006; CHUN et al., 2005). Todavia, 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 (FRITSCHÉ-NETO, 2012). Além disso, a avaliação de caracteres como a arquitetura do sistema radicular não é possível em ambientes de cultivo a campo (DORLODOT et al., 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 nitrogênio.

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 baixa disponibilidade de N no solo, conforme descrito por Walk et al. (2006) e Chun et al. (2005). Neste, 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 por meio de scanner usando o software WinRhizo Pro 2009a (Basic, Reg, Pro & Arabidopsis para Medição Root). Assim, os comprimentos lateral e axial das raízes foram obtidos a partir de todas as classes de diâmetro (d) 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, conforme 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 agrônômicas 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), conforme 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 $GS = k.r_{gg}$, em que, $k=1,76$ para os métodos da SRR e $2,42$ para o da GWS; r_{gg} é a acurácia seletiva (descrita anteriormente para o método GWS), obtida por $\sqrt{1/4h_{Am}^{2*}}$ para os métodos 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 $EF_{GWS(\%)} = \frac{GS_{GWS} \cdot t_{SRR}}{GS_{SRR} \cdot t_{GWS}} \cdot 100$, em que, GS é o ganho de seleção estimado em desvios padrão genético aditivos para cada um dos métodos (GWS e 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 N no solo de 927% e 599% , respectivamente (Tabela 1). Quando foi considerada a possibilidade de dois ciclos de GWS por ano, estes valores passaram para 2992% e 1934% , 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 (FRITSCHÉ-NETO, 2012). Deste modo, há um aumento da acurácia seletiva, no ganho por unidade de tempo, e consequentemente, na eficiência dos programas de melhoramento.

Conclusões

O método da Seleção Genômica Ampla apresenta eficiência relativa superior aos métodos tradicional de Seleção Recorrente Recíproca para caracteres de raiz em milho tropical em condições de baixo nitrogênio.

Agradecimentos

À FAPEMIG, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.

Literatura Citada

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, 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.

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*, v.12, p.474-481, 2007.

FRITSCHÉ-NETO, R.; RESENDE, M. D. V.; DOVALE, J. C. Genome wide selection for root traits in topical maize under stress conditions of nitrogen and phosphorus. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.34, (first online), 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, p.1-11, 1983.

RESENDE, M. D. V. *Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes*. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002. 975p.

RICHARDSON, A. E.; BAREA, J. M.; McNEILL, A. M.; COMBARET, C.P. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, v.321, p.305-339, 2009.

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, p.1413-1424, 2009.

WALK, T. C.; JARAMILLO R.; LYNCH, J.P. Architectural tradeoffs between adventitious and basal roots for phosphorus acquisition. *Plant Soil*, v.279, p.347-366, 2006.

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 nitrogênio (BN), em milho, Viçosa, MG

Estimativa	Método	Caráter	
		L_{LAT}	L_{AXI}
GS	SR/SRR	0,32	0,42
	GWS	2,00	1,67
ER (%)	GWS 1	927	599
	GWS 2	2992	1934