

Associação genética entre linhagens de milho.

Narjara Fonseca Cantelmo⁽¹⁾; Luiz Paulo Miranda Pires⁽²⁾; Márcio Balestre⁽³⁾; Renzo Garcia Von Pinho⁽⁴⁾; Rafaela Beiral Campos Borges⁽⁵⁾; Renato Barbosa Camargos⁽⁶⁾.

⁽¹⁾ Doutora em genética e melhoramento de plantas; Universidade Federal de Lavras; Lavras, MG; nacantelmo@hotmail.com; ⁽²⁾ Doutorando; Universidade Federal de Lavras; ⁽³⁾ Professor; Universidade Federal de Lavras; ⁽⁴⁾ Professor; Universidade Federal de Lavras; ⁽⁵⁾ Estudante; Universidade Federal de Lavras; ⁽⁶⁾ Doutorando; Universidade Federal de Lavras.

RESUMO: Objetivou-se a partir deste trabalho a exploração das informações obtidas a partir da genotipagem de um banco de germoplasma proveniente do programa de melhoramento de milho da UFLA para investigar o potencial da coleção como fonte para estudo da arquitetura genética do caráter peso de espigas. Para isto, foi utilizada, como fonte de material genético, uma coleção de linhagens de milho. As amostras para extração de DNA foram coletadas de um experimento instalado na fazenda experimental da UFLA, sediada no município de Lavras - MG. Foi realizado a análise de associação genômica. Para isto, o caráter peso de espigas foi avaliado em 238 linhagens de milho, as mesmas foram avaliadas no ano agrícola de 2012/2013 nos municípios de Lavras e Uberlândia, ambos localizados no estado de Minas Gerais. Para a análise de associação genômica, foram utilizados os modelos Mistos e Stochastic Search Variable. a população utilizada para o estudo de associação não foi adequada para a identificação de marcas de efeitos significativos para o caráter peso de espigas.

Termos de indexação: *Zea Mays*. Melhoramento Vegetal. Associação Genômica. Peso de Espigas.

INTRODUÇÃO

Mais recentemente surgiram os marcadores SNPs e Diversity Arrays Technology (Darts). Devido ao baixo custo por marca, alta abundância no genoma, especificidade de locos, potencial de alta densidade de marcas, baixos níveis de erros (CHAGNE et al., 2007) e facilidade de automação (VAN INGHELANDT et al., 2010) esses marcadores têm emergido como poderosas ferramentas para várias aplicações dentro da genética, incluindo estudos de associação genômica.

Os marcadores Darts apresentam a vantagem de detecção da variação em milhares de

locos gênicos sem a necessidade de sequenciamento prévio (WENZL et al., 2006). O polimorfismo detectado nos Darts incluem SNPs, inserções-deleções (InDels) e modificações de metilação herdáveis (JACCOUD et al., 2001). Características essas que têm feito com que esses marcadores se tornem ferramentas interessantes em estudos de diversidade e também de associação.

Os estudos de associação genômica são metodologias recentes para identificação de marcas correlacionadas a caracteres. Em contraste com o mapeamento baseado em populações biparentais segregantes, que explora a diferença alélica entre apenas dois parentais, a associação genômica utiliza a variação genética entre um vasto número de genótipos. Essencialmente, a associação genômica explora a recombinação histórica e evolutiva em nível populacional (THORNSBERRY et al., 2001). Assim, espera-se que a variação desta característica ocorra entre os diferentes genótipos em contraposição à variação advinda de apenas dois parentais tendo a expectativa que possa ser mais bem mapeada (MATTHIES et al., 2012). Assim, objetivou-se a partir deste estudo investigar o potencial da coleção como fonte para estudo da arquitetura genética do caráter peso de espigas.

MATERIAL E MÉTODOS

O peso de espigas foi avaliado em 238 linhagens de milho e em quatro testemunhas. As linhagens e as testemunhas foram avaliadas no ano agrícola 2012/2013 em dois locais: no município de Lavras (910 m, 21°14'S e 45°00'W) e de Uberlândia (863 m, 18°55'S e 48°16') ambos localizados no estado de Minas Gerais, Brasil. Foi utilizado o delineamento experimental de blocos incompletos com testemunhas comuns. Cada bloco foi formado por dez tratamentos (oito regulares e dois comuns) e três repetições com parcelas experimentais

compostas por uma fileira de três metros de comprimento com espaçamento de 0,7 m entre fileiras.

A metodologia de modelos mistos foi utilizada para ajuste das médias, via máxima verossimilhança restrita (REML), utilizando o algoritmo EM (expectation-maximization) (PATTERSON; THOMPSON, 1971). As médias foram corrigidas considerando os efeitos de repetições, ambientes, interação genótipos x ambientes e resíduo.

O modelo GWAS (YU et al., 2006) foi utilizado para análise de associação genômica. A análise foi realizada com a função GWAS do pacote rrBLUP (ENDELMAN, 2011) do software R. A matriz de parentesco de Vitezica et al., (2013) foi utilizada como estruturadora populacional. O threshold para significância foi dado pela correção de FDR a 5% utilizando o algoritmo de Benjamini e Hochberg (1995).

Modelo Bayesian Stochastic Search Variable (BSSV); Dentre os modelos bayesianos propostos na literatura, o Bayesian Stochastic Search Variable (BSSV) foi empregado neste trabalho devido à sua grande capacidade de selecionar marcas de grande efeito em modelos com múltiplas marcas.

A aceitação de um efeito de marca depende de uma mistura de prioris condicionadas a um conjunto de variáveis latentes ou indicadoras. A distribuição a priori para os efeitos da média populacional foi assumida como constante e para a variância residual.

A integração das distribuições de condicionais posteriores foi realizada utilizando algoritmo Monte Carlo Cadeias de Markov via amostragem de Gibbs (CASELLA; GEORGE, 1992).

Testes de significância dos efeitos dos marcadores foram executados pelo Teste de Wald. A estatística desse teste, em condições de hipótese de nulidade, segue uma distribuição assintótica com um grau de liberdade. O nível de significância mínimo para uma marca apresentar valor diferente de zero foi dado como de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo também foi realizada a associação genômica ampla para o caráter peso de espigas. Foram utilizados dois modelos para a análise de associação genômica: Bayesian Stochastic Search Variable (SSV), que é uma metodologia bayesiana, que considera variâncias individuais por marcas e o RR-BLUP que considera variâncias homogêneas das marcas. Quando se utilizou o modelo RRBLUP nenhuma marca

significativa para o caráter peso de espigas foi identificada. Duas considerações importantes devem ser ressaltadas: a primeira é o efeito de encolhimento que é inerente ao método RRBLUP, visto a adoção de uma única variância para todas as marcas utilizando assim, esta variância comum, para realizar o teste de Wald. Outro fato a ser considerado é a estrutura do caráter estudado. A produtividade é considerada uma característica poligênica infinitesimal com poucos genes de grandes efeitos e muitos genes de pequenos efeitos (LYNCH; WALSH, 1998). O modelo utilizado para a identificação de QTLs foi o aditivo, contudo é sabido que a dominância tem forte impacto na produtividade de espigas. Considerando a estrutura de população utilizada no estudo, o número de marcas e o modelo aditivo, não foi possível a identificação de marcas de grandes efeitos.

Já quando se utilizou o modelo SSV para o estudo de associação genômica, foi possível a identificação de uma marca significativa, localizada no cromossomo 5, na posição 17227941pb. O efeito dessa marca foi de aproximadamente -190g/espiga. A identificação de somente uma marca de efeito significativo de acordo com o teste de Wald pode ter sido devido a várias razões. Uma delas é que o teste utilizado em conjunto com a estrutura da população (linhagens) pode ter tido poder suficiente para a identificação de somente uma marca com grande ligação com o caráter, considerando mais uma vez o efeito poligênico infinitesimal do mesmo. Outro motivo pode ser devido à utilização do teste de Wald para verificar a significância da marca. O teste de Wald é conservativo e, por vezes, dificulta a identificação de marcas significativas. Outra questão é o tamanho da população utilizada para análise, apenas 232 linhagens. Por fim, pode-se também levantar a hipótese da presença de “outlier” que fez com que somente uma marca apresentasse significância.

A conclusão inevitável das últimas duas décadas de estudo de associação são que QTLs de grandes efeitos são raros e que a variação genética dos caracteres quantitativos é devido a muitos locos com efeitos individualizados ou agregados (com QTLs de efeitos opostos) muito pequenos para serem detectados (MACKAY et al., 2009). Os bancos de germoplasma com seus acessos e informações genóticas podem ser melhores explorados, com caracterização mais profunda e utilização da associação genômica ampla para, assim, adquirir melhor entendimento dos genótipos presentes para que eles possam ser mais bem explorados nos programas de melhoramento (ROMAY et al., 2013).

CONCLUSÕES

O conjunto de dados utilizado para o estudo de associação não foi adequado para a identificação de marcas de efeitos significativos para o caráter peso de espigas de milho.

AGRADECIMENTOS

CAPES, FAPEMIG e CNPq.

REFERÊNCIAS

- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. **Journal of the Royal Statistical Society - Series B (Methodological)**, London, v. 57, n. 1, p. 289-300, 1995.
- CASELLA, G.; GEORGE, E. I. Explaining the Gibbs Sampler. **The American Statistician**, Washington, v. 46, n. 3, p. 167-174, Aug. 1992.
- CHAGNE, D. et al. Single nucleotide polymorphisms genotyping in plants. In: ORAGUZIE, N. C. et al. (Ed.). **Association Mapping in Plants**. New York: Springer, 2007. cap. 5, p. 77-94.
- ENDELMAN, J. B. Ridge Regression and Other Kernels for Genomic Selection with R Package rrBLUP. **The Plant Genome**, Madison v. 4, n. 3, p. 250-255, Nov. 2011.
- JACCOUD, D. et al. Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 29, n. 4, p. e25, Feb. 2001.
- LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and Analysis of Quantitative Traits**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998.
- MACKAY, T. F.; STONE, E. A.; AYROLES, J. F. The genetics of quantitative traits: challenges and prospects. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 10, n. 8, p. 565-577, Aug. 2009.
- MATTHIES, I. E. et al. Population structure revealed by different marker types (SSR or DArT) has an impact on the results of genome-wide association mapping in European barley cultivars. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 30, n. 2, p. 951-966, Aug. 2012.
- PATTERSON, H. D.; THOMPSON, R. Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. **Biometrika**, London, v. 58, n. 3, p. 545-554, 1971.
- ROMAY, M. C. et al. Comprehensive genotyping of the USA national maize inbred seed bank. **Genome Biology**, London, v. 14, n. 6, p. 1-18, June 2013.
- THORNSBERRY, J. M. et al. Dwarf polymorphisms associate with variation in flowering time. **Nature Genetics**, New York, v. 28, n. 3, p. 286-289, July 2001.
- VAN INGHELANDT, D. et al. Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 120, n. 7, p. 1289-1299, May 2010.
- VITEZICA, Z. G.; VARONA, L.; LEGARRA, A. On the Additive and Dominant Variance and Covariance of Individuals within the Genomic Selection Scope. **Genetics**, Bethesda, v. 195, n. 4, p. 1223-1230, Dec. 2013.
- YU, J.; BUCKLER, E. S. Genetic association mapping and genome organization of maize. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 17, n. 2, p. 155-160, Apr. 2006.
- WENZL P. et al. A high-density consensus map of barley linking DArT markers to SSR, RFLP and STS loci and agricultural traits. **BMC Genomics**, Chichester, v. 7, p. 206, Aug. 2006.



XXXI CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO

**"Milho e Sorgo: inovações,
mercados e segurança alimentar"**
