

Divergência Genética e Heterose Para a Eficiência no Uso do Fósforo em Milho Tropical

Débora Santos Caixeta¹, Lorena Guimarães Batista², Humberto Fanelli Carvalho³,

Júlio César do Vale Silva⁴ e Roberto Fritsche-Neto⁵

^{1,2,3,5}Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, ¹deborascaixeta@gmail.com,
²loregbatista@gmail.com, ³humberto.carvalho@ufv.br, ⁵roberto.neto@ufv.br e ⁴Universidade
Federal do Tocantins, Gurui – TO, juliocvale@gmail.com

RESUMO - O objetivo foi determinar a relação entre divergência genética e heterose para a eficiência no uso de fósforo (EUP) em milho tropical. Utilizaram-se dois grupos de genitores, composto de sete linhagens cada um, contrastantes entre si para as eficiências no uso de nitrogênio e fósforo. Foram obtidas 41 combinações híbridas entre esses grupos, as quais foram avaliadas em baixo fósforo. Usou-se o delineamento em blocos ao acaso com duas repetições. A obtenção dos componentes de variância e valores genéticos foi realizada via REML/BLUP e para genotipagem das linhagens genitoras foram utilizados 80 marcadores microssatélites. Pela correlação entre a distância genética obtida pelos marcadores e a capacidade específica de combinação, observou-se não ser possível a determinação com acurácia, via marcadores moleculares, dos cruzamentos que produziram os híbridos com as maiores heteroses para EUP. Concluiu-se que não há relação significativa entre divergência genética e heterose para EUP em milho tropical.

Palavras-chave - dissimilaridade; estresse abiótico; marcadores moleculares; capacidade de combinação.

Introdução

A avaliação das linhagens quanto à capacidade de combinação é a etapa mais onerosa em um programa de melhoramento de milho (GUIMARÃES et al., 2007). Neste sentido, estimativas de divergência genética entre linhagens, por meio de marcadores moleculares, podem contribuir para formação de grupos heteróticos e direcionar os cruzamentos na tentativa de se obter híbridos superiores (LABORDA et al., 2005). Isto porque, segundo a teoria da genética quantitativa, em qualquer grau de dominância superior a zero, a heterose é decorrente da diferença da frequência alélica entre os genitores e existe correlação positiva entre divergência genética e heterose (FALCONER e MACKAY, 1996).

Nos últimos anos, com as mudanças climáticas globais e a crescente pressão mundial pelo desenvolvimento de uma agricultura sustentável, a eficiência no uso de fósforo (EUP) tem se tornado importante, principalmente para solos tropicais que apresentam baixa disponibilidade desse nutriente. Entretanto, a avaliação e a seleção baseadas no fenótipo para EUP e seus componentes, às eficiências na absorção (EAP) e na utilização de P (EUtP), utilizam geralmente métodos de alto custo e destrutivos da planta. Isto conduz à redução no

potencial dos ganhos a serem obtidos com a seleção e/ou inviabilizam a avaliação de um grande número de genótipos.

Diante do exposto, objetivou-se determinar a relação entre divergência genética e heterose para a eficiência no uso de fósforo em milho tropical.

Material e Métodos

Foram utilizados dois grupos de linhagens provenientes do banco de germoplasma do Programa Milho® da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Grupo I (GI) - composto de sete linhagens ($p = 1, 2, \dots, 7$) contrastantes para eficiência no uso de fósforo (EUP); Grupo II (GII) - composto de sete linhagens ($p' = 1', 2', \dots, 7'$) contrastantes para eficiência no uso de nitrogênio (EUN). Através da condução de um fatorial interpopulacional desbalanceado, envolvendo os dois grupos de linhagens, obteve-se 41 combinações híbridas experimentais.

Estas 41 combinações híbridas foram avaliadas em condição de baixa disponibilidade de P. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na UFV (20°45'14"S; 42°52'53"W), durante o mês de outubro de 2010. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso com duas repetições.

As sementes foram germinadas em bandejas com células individuais e após a emergência, transplantou-se uma plântula de cada combinação híbrida para vasos cilíndricos de PVC com 4 dm³, constituindo assim uma parcela. O substrato utilizado foi preparado pela mistura de 50% de areia lavada em água deionizada, 37,5% de vermiculita e 12,5% de solo (horizonte “B” de Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico).

A solução nutritiva foi fornecida a cada dois dias, a partir do sétimo dia após a emergência das plântulas. O P foi fornecido via superfosfato triplo, adicionando-se 34 mg dm⁻³ de P ao substrato, simulando uma condição de baixa disponibilidade deste nutriente. Os demais nutrientes foram fornecidos via solução nutritiva (PASSOS, 1996), sem adição de P.

As plantas foram colhidas no estágio vegetativo V6, isto é, seis folhas completamente expandidas, 30 dias após a semeadura. A parte aérea das plantas foi separada do sistema radicular e acondicionada em sacos de papel. Posteriormente, procedeu-se a secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60° C por 72 horas, onde se alcançou massa constante da parte aérea.

Para a quantificação do teor de P, extraíram-se amostras de 0,1 g da massa da parte aérea seca (MPS) por planta e foi realizada a digestão nitroperclórica (MALAVOLTA et al., 1989). As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 725 nm. O conteúdo de P foi estimado

a partir do seu teor, extrapolando-o por unidade de MPS e a partir desse, calculada a eficiência no uso de P e seus componentes, a eficiência na absorção (EAP) e a eficiência na utilização de P (EUtP), de acordo com o proposto por Moll et al. (1982):

$$EAP = \frac{P(\text{absorvido})}{P(\text{aplicado})} (\text{mg mg}^{-1}), \quad EUtP = \frac{MPS}{P(\text{absorvido})} (\text{mg mg}^{-1}) \quad \text{e} \quad EUP = EAP \times EUtP (\text{mg mg}^{-1})$$

Para a obtenção dos componentes de variância e os valores genéticos, submeteram-se os dados à análise por meio do método da Máxima Verossimilhança Restrita/ Melhor Preditor Linear Não Viesado (REML/BLUP) (RESENDE, 2002), utilizando o pacote estatístico computacional SELEGEM-REML/BLUP (RESENDE, 2007).

Na genotipagem das 14 linhagens genitoras, as quais apresentavam mais de sete gerações de autofecundação, foram utilizados 80 marcadores microssatélites (SSR), conforme descrito por Laborda et al. (2005). Estes foram escolhidos pelo seu conteúdo informativo, localização nos cromossomos e principalmente por apresentarem associação com caracteres de interesse agrônomo (MAIZEGDB - <http://www.maizegdb.org/ssr.php>).

Para a obtenção da dissimilaridade genética entre as linhagens genitoras foi utilizado o método de Marcadores Co-dominantes/multialélicos (CRUZ, 2008).

A relação entre heterose e divergência genética para EUP e os componentes EAP e EUtP, foi estimada por meio da correlação de *Pearson* entre a capacidade específica de combinação (CEC) para estas características avaliadas e a dissimilaridade genética (via marcadores moleculares) entre as linhagens genitoras. Neste contexto, a CEC foi considerada como parâmetro para estimação da heterose de um determinado cruzamento e a dissimilaridade genética para a estimação da divergência genética entre as linhagens genitoras (CRUZ e VENCOVSKY, 1989).

Resultados e Discussão

Observou-se que os genitores do GI apresentaram diferença significativa para o efeito de capacidade geral de combinação (CGC) quanto aos componentes da EUP (Tabela 1), situação não observada no GII. Essas diferenças indicam a existência de variabilidade genética aditiva e que os genitores contribuem de maneira diferenciada na transmissão de alelos que controlam a expressão dos componentes da EUP.

Em relação aos efeitos de capacidade específica de combinação (CEC), foram observadas diferenças significativas para a EUP e seu componente EAP, indicando que as combinações híbridas apresentaram desvios significativos em relação ao comportamento médio dos genitores. Adicionalmente foram constatadas diferenças de grande magnitude entre

as estimativas de herdabilidades no sentido amplo e restrito. Assim, pode-se verificar que a variância genotípica é explicada, principalmente, pela variância dos desvios de dominância, comprovado pelos altos valores da razão $\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$.

De modo semelhante ao observado neste estudo, Whang et al. (2010) constataram que a variabilidade genética detectada para EUP em milho, em baixa disponibilidade de P, é principalmente em função da EAP. Deste modo, processaram-se as demais análises utilizando somente a EUP e o componente EAP.

O efeito significativo das estimativas de CEC evidencia a importância dos genes com efeitos não-aditivos, o que comprova a importância da heterose (Tabela 1). Nestas, observou-se grande variação e estimativas positivas e negativas para os caracteres EAP e EUP (Tabela 2).

Pela análise de correlação envolvendo a distância genética obtida pelos marcadores e a CEC, pôde-se observar que para EUP existe uma relação positiva e significativa entre heterose e divergência genética (0,32**). Apesar de a correlação ser significativa para EUP, é importante ressaltar a sua baixa magnitude, o que conduz a um coeficiente de determinação muito baixo (0,10). Esses resultados indicam não ser possível a determinação com acurácia, via marcadores moleculares, dos cruzamentos que produziram os híbridos com as maiores heteroses para EUP e EAP. Resultados semelhantes foram observados por Guimarães et al. (2007) em milho e Aguiar et al. (2007) em eucalipto.

Segundo Falconer e Mackay (1996) a heterose é composta por: i) desvios de dominância diferente de zero; ii) divergência genética e; iii) complementariedade. Assim, esta ausência de relação pode ser atribuída, principalmente, a baixa capacidade preditiva dos marcadores quanto à complementariedade dos genitores em cruzamentos. Isto fica evidenciado no caso da combinação 5x5', que apresenta a maior medida de dissimilaridade entre seus genitores, mas apenas a 25^a maior CEC, dentre todas as 41 combinações híbridas avaliadas para EUP, dentre outras.

Conclusões

Não há relação entre divergência genética e heterose para eficiência no uso do fósforo e seus componentes em milho tropical.

Agradecimentos

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

Literatura Citada

AGUIAR, M. S.; FERREIRA, D. F.; AGUIAR, A. M.; BISON, O.; REZENDE, G. D. S. P.; GRATTAPAGLIA, D. Potencial de híbridos entre clones-élite de eucalipto por meio de marcadores microssatélites. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.42, p.1007-1012, 2007.

CRUZ, C. D. Programa Genes Diversidade Genética: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2008.

CRUZ, C. D.; VENCOVSKY, R. Comparação de alguns métodos de análise dialélica. *Revista Brasileira de Genética*, v.12, p.425-438, 1989.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. *Introduction to quantitative genetics*. 4th ed. Edinburgh: Longman, 1996. 462p.

GUIMARÃES, P. S.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; LÜDERS, R. R.; SOUZA, A. P.; LABORDA, P. R.; OLIVEIRA, K. M. Correlação da heterose de híbridos de milho com divergência genética entre linhagens. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.42, p.811-816, 2007.

LABORDA, P. R.; OLIVEIRA, K. M.; GARCIA A. A. F.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; SOUZA, A. P. Tropical maize germoplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? *Theoretical and Applied Genetics*, v.111, p.1288- 1299, 2005.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. *Avaliação do estado nutricional de plantas*. Piracicaba: Potafos, 1989. 201p.

MOLL, R. H.; KAMPRATH, E. J.; JACKSON, W. A. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. *Agronomy Journal*, v.74, p.562-564, 1982.

PASSOS, L. P. *Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal*. Coronel Pacheco: Embrapa/CNPGL, 1996. 223p.

RESENDE, M. D. V. *Selegen-Reml/Blup: Sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos*. EMBRAPA Florestas, 2007. 361p.

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

WHANG, X.; SHEN, J.; LIAO, H. Acquisition or utilization, which is more critical for enhancing phosphorus efficiency in modern crops? *Plant Science*, v.179, p.302-306, 2010.

Tabela 1 - Valores do teste de razão de verossimilhança (LRT) para os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) dos grupos I (GI) e II (GII) de genitores e dos efeitos de capacidade específica de combinação (CEC) entre estes, estimativas das herdabilidades nos sentidos restrito (h_a^2) e amplo (h_g^2), razão entre a variância dos desvios de dominância e a variância aditiva ($\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$), médias e coeficientes de variação (CV), para as eficiências na absorção (EAP), utilização (EUtP) e uso de fósforo (EUP), em baixa disponibilidade de P, em 41 combinações híbridas de milho.

Efeitos	EAP	EUtP	EUP
CGC (GI) ¹	2,72*	3,24*	1,22
CGC (GII) ¹	0,00	0,82	0,00
CEC GI x GII ¹	3,14*	0,51	2,99*
h_a^2	0,06	0,34	0,04
h_g^2	0,15	0,42	0,32
$\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$	1,29	0,25	6,95
Média	0,02	517,29	8,11
CV (%)	43,78	12,94	28,61

¹ Valores obtidos pelo teste da razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio Test* - LRT). Significativo a *** P = 0,01, ** P = 0,05, * P = 0,10 e ^{NS} não-significativo pelo teste •² com 1 grau de liberdade.

Tabela 2 - Estimativas de capacidade específica de combinação e medidas de dissimilaridade genética para as eficiências na absorção (EAP) e no uso de fósforo (EUP), em 41 combinações híbridas de milho provenientes de 14 linhagens genitoras.

Combinação Híbrida	Dissimilaridade	EAP	EUP
CH 1x1'	0,786	0,0001	0,119
CH 1x2'	0,783	-0,0012	-0,787
CH 1x3'	0,674	0,0001	0,425
CH 1x5'	0,735	0,0004	0,595
CH 1x6'	0,790	0,0014	1,059
CH 1x7'	0,759	0,0001	-0,888
CH 2x1'	0,685	0,0001	0,194
CH 2x4'	0,763	0,0002	0,245
CH 2x5'	0,797	0,0003	0,943
CH 2x6'	0,725	-0,0013	-1,036
CH 3x1'	0,641	0,0003	-0,563
CH 3x2'	0,783	0,0003	-0,427
CH 3x4'	0,705	0,0002	-0,028
CH 3x5'	0,817	0,0001	0,274
CH 3x6'	0,685	-0,0014	-2,296
CH 3x7'	0,786	0,0004	0,047
CH 4x1'	0,749	0,0002	0,697
CH 4x2'	0,688	0,0023	0,911
CH 4x4'	0,702	0,0001	-0,633
CH 4x5'	0,746	0,0004	-1,388
CH 4x6'	0,773	0,0002	-0,121
CH 4x7'	0,756	-0,0013	-1,387
CH 5x1'	0,688	0,0003	-0,697
CH 5x2'	0,739	0,0001	0,138
CH 5x3'	0,708	0,0004	0,327
CH 5x4'	0,759	0,0002	-0,032
CH 5x5'	0,851	0,0004	-0,153
CH 5x6'	0,803	0,0014	1,660
CH 5x7'	0,783	0,0002	-0,573
CH 6x1'	0,644	0,0003	-1,359
CH 6x2'	0,803	0,0002	-0,003
CH 6x3'	0,732	0,0004	-0,502
CH 6x4'	0,807	0,0022	1,645
CH 6x5'	0,749	0,0014	2,110
CH 6x6'	0,790	0,0001	0,894
CH 7x2'	0,707	0,0004	0,083
CH 7x3'	0,776	0,0002	-0,293
CH 7x4'	0,722	0,0003	0,899
CH 7x5'	0,742	0,0004	-1,213
CH 7x6'	0,783	0,0011	1,820
CH 7x7'	0,769	0,0003	-0,704