MAPEAMENTO DE QTLS ASSOCIADOS AO ACAMAMENTO EM MILHO CAUSADO PELO COMPLEXO DE DOENÇA DO COLMO

MAPPING OF QTLS ASSOCIATED WITH LODGING IN CORN CAUSED BY STALK DISEASE COMPLEX

MAPEO DE QTLS ASOCIADOS AL ACAMAMIENTO EN MAÍZ CAUSADO POR EL COMPLEJO DE ENFERMEDADES DEL TALLO

10.56238/IIMultiCientifica-122

Aline Migueis
Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas)
Instituição: Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP)
E-mail: migueisaline@gmail.com
Orcid: https://orcid.org/0000-0001-7877-8056

Vitor Fernandes Oliveira de Miranda
Doutor em Biologia Vegetal
Instituição: Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
E-mail: vitor.miranda@unesp.br
Orcid: https://orcid.org/0000-0003-0574-9865

Ivan Schuster
Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas
Instituição: LongPing High Tech
E-mail: ischuster1@lpht.com
Orcid: https://orcid.org/0000-0002-5781-2339

Helder Medice Jr.
Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas
Instituição: LongPing HighTech
E-mail: heldermedice@gmail.com
Lattes: http://lattes.cnpq.br/3652253765914367

Jorge Missima
Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas
Instituição: LongPing High Tech
E-mail: jomissima@lpht.com
Orcid: https://orcid.org/0000-0002-5119-2343

RESUMO
O complexo de doença do colmo do milho tornou-se um dos principais problemas da cultura. A seleção fenotípica possui limitações como alto custo, demanda de mão de obra especializada, além de apresentar no campo uma grande limitação por depender do fator ambiental para que ocorra a manifestação dos patógenos, fazendo com que a seleção genômica seja uma alternativa melhor para a identificação de germoplasma resistente. No presente trabalho foi utilizado o GWAS para a detecção de marcadores associados a Locos de Características Quantitativas (QTL) baseado em análise de Desequilíbrio de Ligação (DL). Foram utilizadas 1.748 linhagens endogâmicas de milho. Foram avaliados o acamamento e os sintomas da doença entre os 120 dias a 200 dias após o plantio, quantificando as plantas com sintomas como encurtamento de entrenó, alteração da parte interna do colmo, deterioração dos tecidos do colmo e das raízes que causam tombamento das plantas, plantas em forma de anzol, sendo esses os sintomas do complexo da doença do colmo. Na análise de associação genômica ampla seguida por análise de regressão múltipla, foram identificados seis QTLs: dois no cromossomo 9, próximos ao gene LOC103637828 e ao gene LOC100502428, dois no cromossomo 4 próximos aos genes LOC103654305 e LOC100191644, e ainda um QTL no cromossomo 1 e um QTL no cromossomo 10. Os resultados obtidos neste trabalho permitem criar uma estratégia de seleção assistida por marcadores moleculares nos programas de melhoramento de milho, utilizando os QTLs identificados.

Palavras-chave: Desequilíbrio de Ligação. Estudo de Associação Genômica Ampla. Genes de Plantas. Melhoramento Vegetal. *Zea mays*.

ABSTRACT
The maize stalk disease complex has become one of the main crop problems. Phenotypic selection has limitations such as high cost, demand for specialized labor, in addition to presenting a major limitation in the field because it depends on the environmental factor for the manifestation of pathogens to occur, making genomic selection a better alternative for identification. of resistant germplasm. In the present work, GWAS was used for the detection of markers associated with Quantitative Trait Loci (QTL) based on Linkage Disequilibrium (DL) analysis. A total of 1,748 inbred lines of corn were used. Lodging and disease symptoms were evaluated between 120 days and 200 days after planting, quantifying plants with symptoms such as internode shortening, alteration of the inner part of the culm, deterioration of the culm and roots tissues that cause plants to fall. hook-shaped plants, these being the symptoms of the stalk disease complex. In genome-wide association analysis followed by multiple regression analysis, six QTLs were identified: two on chromosome 9, close to gene LOC103637828 and gene LOC100502428, two on chromosome 4 close to genes LOC103654305 and LOC100191644, and one QTL on chromosome 1 and a QTL on chromosome 10. The results obtained in this work allow the creation of a selection strategy assisted by molecular markers in maize breeding programs, using the identified QTLs.

Keywords: Linkage Disequilibrium. Genome-Wide Association Study. Genes Plant. Plant Breeding. *Zea mays*.

RESUMEN
El complejo de enfermedades del tallo del maíz se ha convertido en uno de los principales problemas del cultivo. La selección fenotípica tiene limitaciones como alto costo, demanda de mano de obra especializada, además de presentar una limitación importante en el campo ya que depende del factor

ambiental para que ocurra la manifestación de patógenos, haciendo que la selección genómica sea una mejor alternativa para la identificación de germoplasma resistente. En el presente trabajo se utilizó GWAS para la detección de marcadores asociados con Loci de Características Cuantitativas (QTL) basado en análisis de Desequilibrio de Ligamiento (DL). Se utilizaron un total de 1.748 líneas endogámicas de maíz. El acamamiento y los síntomas de la enfermedad se evaluaron entre 120 y 200 días después de la siembra, cuantificando plantas con síntomas como acortamiento de entrenudos, alteración de la parte interna del culmo, deterioro de los tejidos del culmo y raíces que causan la caída de las plantas. plantas en forma de anzuelo, siendo estos los síntomas del complejo de enfermedad del tallo. En el análisis de asociación genómica amplia seguido de análisis de regresión múltiple, se identificaron seis QTLs: dos en el cromosoma 9, cercanos al gen LOC103637828 y al gen LOC100502428, dos en el cromosoma 4 cercanos a los genes LOC103654305 y LOC100191644, y un QTL en el cromosoma 1 y un QTL en el cromosoma 10. Los resultados obtenidos en este trabajo permiten crear una estrategia de selección asistida por marcadores moleculares en programas de mejoramiento de maíz, utilizando los QTLs identificados.

Palabras clave: Desequilibrio de Ligamiento. Estudio de Asociación Genómica Amplia. Genes de Plantas. Mejoramiento de Plantas. *Zea mays*.

1 INTRODUÇÃO

O complexo de doença do colmo do milho tornou-se um dos principais problemas da cultura por abranger vários patógenos como fungos, *Colletotrichum graminicola*, fungos do gênero *Stenocarpella*, *Fusarium spp*, fungo *Macrophomina faseolina*, fungo *Pythium aphanidermatum*, e bactérias do gênero *Pseudomonas spp.* e *Erwinia spp.* Por se tratar de um complexo de patógeno o controle químico se torna difícil (Costa *et al.* 2021)

O principal sintoma desse complexo pode ser caracterizado pela descoloração na base das plantas, sendo evidenciado a partir da maturação fisiológica da espiga. Também ocorre alteração nos tecidos da casca e da medula, resultando na deterioração dos tecidos do colmo e tombamento das plantas. O colmo apresenta também sintomas, como manchas de tamanhos desuniformes e entrenós descoloridos, além de podridão nos colmos (Costa *et al.*, 2017). Outro importante sintoma é o tombamento das plantas de milho, comprometendo a granação das espigas e reduzindo estande final de plantas. Além disso, os patógenos causadores de podridões de colmo podem migrar para a espiga, favorecendo a ocorrência de grãos ardidos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2021)

O uso de híbridos mais tolerantes e o melhoramento de processos de cultivo podem reduzir os danos causados pelas doenças de colmo e possibilitar aos híbridos expressarem seu potencial genético. As práticas desenvolvidas contemplam melhorias no controle de pragas, doenças e plantas daninhas e em equipamentos, tecnologia de plantio e colheita, e melhoramento genético (Garcia *et al.* 2020 e Assefa *et al.* 2017).

Uma das ferramentas utilizadas no melhoramento de plantas é a seleção fenotípica. Porém essa prática no campo apresenta uma grande limitação por depender do fator ambiental para que ocorra a manifestação dos patógenos. Devido a essas limitações da seleção fenotípica, atualmente têm-se empregado a seleção genômica (Faria 2021). Para realizar a seleção genômica é necessária a realização de genotipagem de alta densidade. Uma das metodologias utilizadas é a genotipagem por Sequenciamento de Nova Geração (NGS) que permite a identificação de milhares de marcadores de Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP) a um custo reduzido. (Sousa *et al.* 2018).

Com os avanços da tecnologia de NGS, foi possível avançar nas técnicas de Genotipagem Por Sequenciamento (GBS), o que permitiu explorar mais a diversidade genética entre plantas e identificar marcadores moleculares associados a genes ou Locus de Características Quantitativas (QTLs) de interesse (Poland e Rife 2012 e Elshire *et al.* 2011).

Enquanto a seleção genômica utiliza o conjunto completo de SNPs, através de um modelo de predição, para a seleção das características de interesse, o Estudo de Associação Genômica Ampla (GWAS), é utilizado para o mapeamento de genes ou QTLs baseado em desequilíbrio de ligação. O GWAS é uma abordagem importante na identificação de marcadores moleculares a serem usados na Seleção Assistida por Marcadores Moleculares (SAM). A SAM permite identificar genótipos superiores, aumentando o ganho de seleção e diminuindo o intervalo de gerações (Granato *et al.* 2012). Essa seleção utiliza informações genéticas que permitem alta eficiência seletiva, o que gera rapidez na obtenção de ganhos genéticos com a seleção e baixo custo em comparação a seleção fenotípica (Rezende 2008).

A SAM permite identificar de forma precoce os genótipos superiores, sem métodos destrutivos, e com isso aumentar os ganhos com a seleção e diminuir o intervalo entre gerações. Nesse método, a seleção pode ser realizada em fases iniciais do desenvolvimento das plantas, o que acelera o processo de melhoramento genético. A identificação de marcadores moleculares utilizando-se GWAS tende a ser mais acurada, por considerar o parentesco genético dos indivíduos avaliados, em detrimento do parentesco médio esperado matematicamente (Fritsche-Neto *et al.* 2012). Assim, o GWAS pode ser utilizado no melhoramento genético na detecção de marcadores associados a QTL baseado em análise de Desequilíbrio de Ligação (DL) (Miqueloni *et al.* 2012). Quanto maior o DL, maior o poder de detectar os QTLs (Long e Langley 1999 e Farfan *et al.* 2015).

Este trabalho teve como objetivo identificar marcadores moleculares associados a QTLs de resistência ao complexo de doenças do colmo do milho, utilizando-se a abordagem de GWAS.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL GENÉTICO E CONDUÇÃO EXPERIMENTAL

Foram avaliadas 1.748 linhagens endogâmicas de milho oriundas do banco germoplasma da empresa LongPing High-Tech. O desenvolvimento das atividades de pesquisa ocorreu na localidade de Poxoréu, no estado do Mato Grosso, em janeiro de 2021. O ensaio foi conduzido na latitude 15°38'58.09"S e longitude 54° 7'10.30"O, com altitude 670 m, clima Aw (Tropical de Savana), de acordo com a classificação de Köppen (Dubreuil *et al.* 2018) e o solo é classificado como Neossolos Quartzarênicos (Santos *et al.* 2018).

As avaliações foram realizadas em parcelas experimentais compostas de 1 linha de 2 metros totalizando 10 sementes semeadas, com espaçamento de 0,5 m entre linhas.

Na época da floração foram feitas avaliações nas parcelas experimentais para verificar se as plantas não estavam acamando antes de serem infectadas pelo complexo de doenças do colmo. Parcelas com acamamento antes da infecção foram descartadas.

Para avaliação do acamamento e dos sintomas do complexo de doenças do colmo, as avaliações foram realizadas entre 120 a 200 dias após o plantio, quantificando as plantas com os colmos danificados ou acamadas. Para confirmar que o acamamento tinha sido causado pelo complexo de doenças do colmo, foram avaliados os sintomas nos colmos e raízes das plantas que apresentavam acamamento, como descoloração e a senescência dos tecidos internos do colmo, presença de cordas de violão e cavidades no interior do colmo, micélios do fungo *Fusarium sp* no colmo na parte externas e tons alaranjados nos entrenós, entrenós curtos e raízes pequenas e bem deterioradas (Costa *et al.* 2015). Parcelas com plantas acamadas que não apresentavam esses sintomas não foram consideradas no estudo.

Foram realizadas as avaliações de número de plantas por parcela, número de plantas acamadas e após contagens foi realizada a conversão dos dados para porcentagem.

2.2 EXTRAÇÃO DO DNA E GENOTIPAGEM

A extração de DNA foi realizada a partir de quatro discos de tecido foliar, obtidos de quatro plantas, coletados no estágio V3 do milho. Foi utilizado o Kit Fast ID Genomic DNA Extraction® (Genetic ID., Fairfield, Iowa, Estados Unidos da América) de acordo com as instruções do fabricante.

A genotipagem por sequenciamento foi realizada utilizando-se a plataforma Ion GeneStudio S5 Prime (Thermo Fisher Scientific., Waltham, Massachusetts, Estados Unidos da América), de acordo com as instruções do fabricante. Para a genotipagem, foi utilizado um painel customizado de 5.077 marcadores SNPs. Após a genotipagem, marcadores com Call Rate (dados válidos) menor do que 90%, e MAF (Frequência do Alelo Menos Frequente) menor do que 5% foram excluídos antes das análises subsequentes.

2.3 ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS)

Os dados genotípicos e fenotípicos obtidos foram usados na análise de Associação Genômica, utilizando-se o Modelo BLINK-R (Bayesian-information and Linkage-disequilibrium Iteratively Nested Keyway) do pacote GAPIT (Genome Association and Prediction Integrated Tool) do software R (Wang e Zhang 2021).

Como controle de parentesco no método BLINK-R foi utilizada a matriz de estrutura de população (Q). A matriz Q foi obtida pelo agrupamento gerado pelo método Bayesiano generalizado, utilizando-se o modelo de máxima verossimilhança e o método de relaxamento em bloco para acelerar a convergência, utilizando-se o software Admixture (Alexander *et al.* 2009).

Marcadores foram considerados significativos quando o valor de significância foi menor do que 0,01, aplicando-se a correção de Bonferroni. Os resultados de -log10(P) foram plotados em gráficos Manhattan Plot para visualização dos resultados.

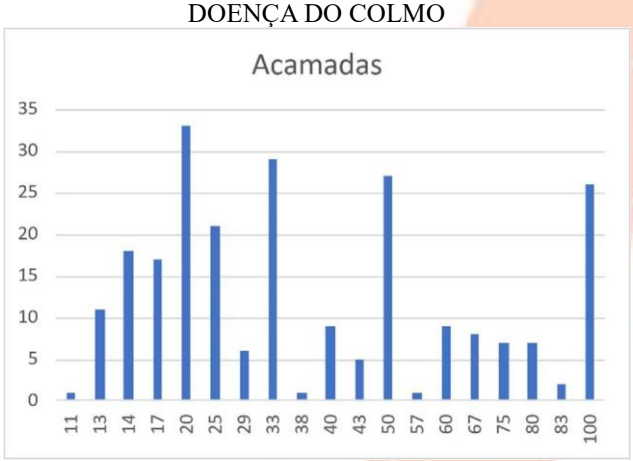
Marcadores significativos na análise GWAS foram utilizados na análise de regressão linear múltipla para estimar o efeito conjunto dos marcadores significativos. Para as análises de regressão múltipla foi utilizado o programa JMP (SAS Institute 1990), com probabilidade de entrada e de saída de 5%, e procedimento Stepwise de seleção do modelo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS

As linhagens foram avaliadas após 150 e 200 dias em que foram avaliadas nas parcelas a quantidade de plantas acamadas. Parcelas com plantas intactas e sem sintomas do complexo de doença do colmo receberam notas 9 enquanto as parcelas com números maiores de 3 plantas acamadas ou com sintomas do complexo receberam nota 1. A Figura 1 apresenta, em porcentagem, a distribuição de frequência do acamamento do milho afetado pelo complexo de doença do colmo:

Figura 1. DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DO ACAMAMENTO DO MILHO DEVIDO AO COMPLEXO DE DOENÇA DO COLMO

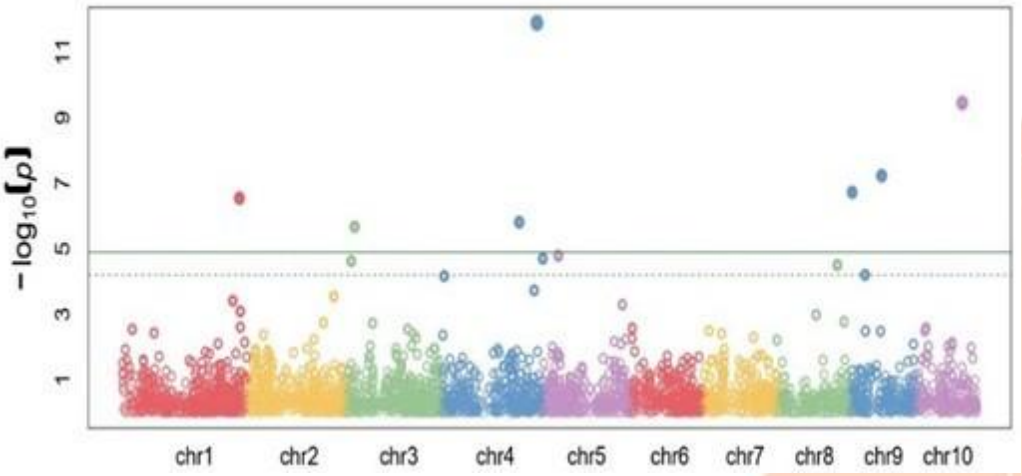


Fonte: Fonte autores

Na Figura 1 observa-se a distribuição fenotípica, em porcentagem, das 1.748 linhagens analisadas no presente trabalho. Dos 5.076 marcadores SNPs utilizados na genotipagem das 1.748 linhagens, 1.160 marcadores foram excluídos antes da análise de GWAS por apresentarem call rate menor do que 90% ou MAF menor do que 5%.

A Figura 2, a seguir, apresenta o *Manhattan Plot* da análise de associação de marcadores SNP e a tolerância ao acamamento em milho:

Figura 2. Manhattan Plot da análise de associação de marcadores SNP e a tolerância ao acamamento em milho



Cada cor representa um cromossomo do milho. O limite de significância indicado pela linha contínua horizontal foi obtido pela correção de Bonferroni para p = 0,001.
Fonte: Fonte autores

Conforme a Figura 1, cada cor representa um cromossomo do milho. O limite de significância indicado pela linha contínua horizontal foi obtido pela correção de *Bonferroni* para p = 0,001.

Na análise GWAS foram identificados sete marcadores significativos sendo um marcador no cromossomo 1, um no cromossomo 3, dois marcadores no cromossomo 4, dois no cromossomo 9 e um marcador no cromossomo 10 (Figura 2). Estes sete marcadores foram utilizados na análise de regressão múltipla. Após a análise de regressão múltipla, o marcador do cromossomo 3 deixou de ser significativo. A análise de regressão múltipla com método Stepwise de seleção de modelo conserva somente marcadores que não sejam redundantes para o mesmo QTL, ou seja, marcadores que contribuam para o efeito conjunto da característica estudada. Assim, cada marcador significativo nesta análise corresponde a um QTL (Schuster e Cruz 2004). O marcador do cromossomo 3 não foi relevante na análise conjunta, pois na presença dos demais QTLs, este não aumenta os níveis de resistência.

A Tabela 1, a seguir, traz os marcadores associados a resistência do milho ao acamamento, após a análise de GWAS e regressão múltipla:

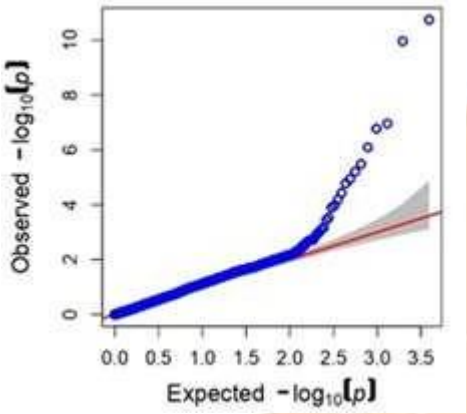
Tabela 1. Marcadores associados a resistência do milho ao acamamento, após análise sequencial de GWAS e regressão múltipla

Marcador	Cromossomo	Posição	Prob	R2 acumulado
10K02203	1	290.000.000	0,0000	0,138
10K04941	4	232.000.000	0,0000	0,189
10K04757	4	189.000.000	0,0000	0,217
10K07527	9	3.878.672	0,0001	0,231
10K07728	9	76.105.284	0,0018	0,239
10K08486	10	115.000.000	0,0102	0,245

Nota-se na Tabela 1 que a análise de GWAS usando o método sequencial de Modelos Mistos e Regressão Múltipla, foram identificados 6 QTLs em 4 cromossomos (1, 4, 9 e 10). Os cromossomos 4 e 9 contém dois QTLs cada. O efeito conjunto destes marcadores (R2) na variação fenotípica foi de 24% (Tabela 1).
Fonte: Fonte autores

A Figura 3 traz a análise Q-Q *plot* de associação de marcadores SNP e a tolerância ao acamamento:

Figura 3. QQ-plot da análise de associação de marcadores SNP e a tolerância ao acamamento em milho



Fonte: Elaborada pelos autores

3.2 GENES CANDIDATOS

A Tabela 2 a seguir traz os genes candidatos, localizados nas regiões que continham os QTLs associados a tolerância ao acamamento em milho causado pelo complexo de doenças de colmo do milho:

Tabela 2. Genes candidatos localizados nas regiões contendo os QTLs associados a tolerância ao acamamento em milho causado pelo complexo de doenças do colmo do milho

SNP	Cromossomo	Posição	P valor	MAF	Código da variação	Modelo de gene associado (NCBI Gene ID)	Anotação Funcional
10K04941	4	232.176.563	1.30E-12	0.065	rs129944531	LOC100191644	polyadenylate-binding protein-interacting protein 9
10K08486	10	115.002.401	3.60E-10	0.072	rs132584092	No Data	No Data
10K07728	9	76.105.284	5.96E-08	0.170	rs131024615	LOC100502428	putative ferroportin-domain family protein
10K07527	9	3.878.672	1.90E-07	0.062	rs131692134	LOC103637828	myosin-11
10K02203	1	289.630.855	2.89E-07	0.075	rs131907116	No Data	No Data
10K04757	4	188.889.928	1.56E-06	0.222	rs129860563	LOC103654305	putative apyrase family protein (probable apyrase 3)

Fonte: Fonte autores

Nota-se, na Tabela 2, que os marcadores significativos na análise de GWAS e regressão múltipla foram utilizados para identificar genes candidatos localizados na mesma região do genoma do milho onde estão localizados estes marcadores. O banco de dados Genetic and Genomics Database (GDB) do milho (http://www.maizegdb.org) foi usado para encontrar genes candidatos vinculados a cada SNP com base no genoma de referência B73 RefGen_V3 do milho. Após a delimitação da região, foram identificados os possíveis genes candidatos relacionados com o marcador em questão. Em seguida, com o ID do gene, a ferramenta NCBI GENBANK (Kinsella et al. 2011 e Faria 2021) foi usada para obter informações dos genes. Dos seis SNPs associados ao acamamento causado pelo complexo de doenças do colmo em milho, quatro estão em regiões que possuem genes já caracterizados (Tabela 2).

O gene LOC103637828 está localizado no cromossomo 9, na posição 3.878.672 até a posição 3.878.900 associado ao SNP 10K04941. De acordo com O´Connell *et al.* (2006), esse gene pertence à família de genes myosin (ATPase superfamily.Myosin family), o sistema actina-miosina faz parte do processo celular de organização e dinâmica do sistema de endomembranas e rede de transporte em células vegetais. Observa-se no milho que há um aumento relativo dos genes de miosina devido aos seus intros mais longos abundantes em elementos transponíveis. (Wang *et al.* 2014). Em *Arabidopsis* foram observados uma família de miosina com 17 genes. O gene Myosina2 (MYA2) se localiza em peroxissomos em células epidérmicas e guarda de folhas de *Arabidopsis* de maneira dependente de actina. Estudos em milho e agrião observou-se o gene Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM1) da miosina localizados em plasmodesmos em células de raízes, sugerindo que a miosina está relacionada a maturação das paredes celulares e ao reestabelecimento da actina na célula. Devido aos estudos que

Wang *et al.* (2014) realizou em relação ao milho e ao gene myosin podemos associa-lo ao acamamento do milho. O gene LOC100502428 está localizado no cromossomo 9, na posição 76105284 até a posição 76105400 e está associado ao SNP 10K07728. De acordo com a literatura esse gene pertence à família de genes de domínio de proteínas (putative ferroportin-domain family protein). O gene LOC100502428, faz parte da família de transportadores de soluto 40 (transportador regulado por ferro), e pode estar envolvido no transporte de ferro e na homeostase do ferro (Ward e Kaplan 2012). Foi observado em *Arabidopsis* que a concentração do elemento ferro induz a expressão do gene associado ao marcador e de acordo com Ward e Kaplan (2012), atuando na produção da Ferroportina (FPN), que atua codificando proteínas com diferentes localizações e funções teciduais e subcelulares. A FPN1 atua na membrana plasmática das células onde se encontram os vasos condutores, possuindo uma maior afinidade pelo elemento ferro. A FPN2 se encontra nas membranas vacuolar da raiz e seus níveis mudam de acordo com a quantidade de ferro no ambiente, e geralmente tem a função do transporte do cobalto para as células (Ward e Kaplan 2012). O ferro em forma reduzida Fe2+ é muito importante para transferência de elétrons em muitas enzimas nas plantas (por exemplo citocromos, peroxidases, catalises). Ele é também requerido para síntese de clorofila (Modenez 2020).

O gene LOC103654305, que está localizado no cromossomo 4, na região 188.889.928 a 18.900.000 associado ao SNP 10K04757, é um modelo genético pertencente à família GDA1/CD39 NTPase (Nucleoside-Triphosphatase) [putative apyrase locali protein (probable apyrase 3)] presentes em organismos procariontes e eucariontes (Day *et al.* 2000). As aspirases NTPDase (Nuclosideo Trifosfato Difosfohidrolase) hidrolisam uma ampla gama de nucleosídeos tri e difosfatos. Nas plantas, principalmente em arroz (*Oryza sativa*) e sicômoro (*Acer pseudoplatanus*) e *Arabidopis thaliana*, observou-se que as funções da aspirase são diversas incluído nodulação, resistência a Xenobioticos, eliminação de fosfato e crescimento da planta. Schiller *et al.* (2012) observaram duas apirases em *Arabidopis thaliana*, presentes no complexo de golgi, que estão envolvidas no crescimento e desenvolvimento de plantas por estar associada a regulação da produção de ATP nas células. Devido a localização do gene e sua função, este pode estar relacionado ao acamamento do milho, uma vez que o complexo de golgi e os polissacarídeos produzidos no complexo ajudam na formação e produção da parede celular e da lamela média da célula vegetal (Moreira 2014).

O gene LOC100191644 está localizado no cromossomo 4, na posição 232.176.563 até 232.176.700 associado ao SNP 10K04941 e pertence à família de genes de produção de poliadenilato (polyadenylate-binding protein-interacting protein 9), se liga a uma proteína de ligação da família

PABP que estimula a tradução de terminação, via interação de seu domínio C-terminal, com fator de liberação da cadeia polipeptídica eucariótica, eRF3. Uma das PABP é uma proteína multifuncional que está relacionada ao metabolismo do Ácido Ribonucleico (RNA), sendo a proteína que interage com o RNA mensageiro (mRNA) (Ivanov *et al.* 2019).

Além dessas regiões encontradas e descritas no presente trabalho, duas regiões genômicas ainda não caracterizadas, localizadas nos cromossomos 1 e 10 nas posições 289.630.855 até 289.630.990 e 115.002.401 até 115.002.800, respectivamente, foram encontradas em associação a resposta ao acamamento do milho nos genótipos avaliados. Estas regiões ainda precisam ser melhor caracterizadas para elucidação do seu papel fisiológico associado ao acamamento do milho.

3.3 DISCUSSÃO

Para o controle do complexo de doenças do milho uma das formas mais viáveis e sustentáveis para diminuir os danos causados pelos patógenos é o uso de cultivares resistentes. Para isso muitos estudos vêm sendo desenvolvidos com marcadores moleculares, e informações de haplótipos ligados a locos de resistências são fundamentais para desenvolver cultivares resistentes (Vinholes *et al.* 2019).

Diversos estudos sobre a podridão do colmo do milho demonstram que a resistência do colmo depende da morfologia e da estrutura do tecido (Zhang *et al.* 2018). Plantas com o colmo com estrutura menos resistentes possuem uma maior facilidade ao acamamento na presença do complexo de doença do colmo do milho no campo. A integridade do colmo do milho é não somente para a sustentação da planta, mas também pela fotossíntese e a translocação de água e nutrientes. O colmo danificado pode causar danos ao enchimento dos grãos na espiga, afetando diretamente a produtividade e qualidade do grão (Gomes, 2010).

O custo reduzido e a alta eficiência baseada na genotipagem incentivam a utilização dessa técnica em várias espécies (Xu *et al.* 2020). O fato da ampla cobertura do genoma também e um fator que torna a abordagem bem atraente para a descobertas de SNPs. Os SPNs são marcadores superiores para serem usados em pesquisas da genética molecular e melhoramento, junto a outras tecnologias como re-sequenciamento de genótipos (Vinholes *et al.* 2019). Essa técnica tornou-se mais eficiente em relação a seleção fenotípicas que além de caras são bem limitadas. Devido a disponibilidade de recursos genômicos e as informações genéticas do milho, há grande oportunidades para identificação cultivares de milho resistentes ao complexo da doença do milho.

Ao nosso conhecimento, ainda não há relato na literatura científica de genes associados a tolerância do milho ao acamamento causado pelo complexo de doenças do colmo. Neste estudo, quatro genes foram identificados nas regiões associadas aos marcadores significativamente associados a tolerância ao acamamento causado pelo complexo de doenças radiculares em milho. No cromossomo 9, o gene LOC103637828 da família de genes myosin (ATPase superfamily.Myosin family) e o gene LOC100502428 da família de genes de domínio de proteínas (putative ferroportin-domain family protein). No cromossomo 4 o gene LOC103654305, da família GDA1/CD39 NTPase [putative apyrase locali protein (probable apyrase 3)] e o gene LOC100191644 da família de genes de produção de poliadenilato (polyadenylate-binding protein-interacting protein 9). Novos estudos ainda são necessários para identificar o possível papel desses genes no acamamento do milho.

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se criar estratégias de seleção assistida por marcadores moleculares para o complexo de doenças do milho, visando selecionar cultivares resistente, como já observado em milheto e sorgo (Cenci, 2021).

4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram identificados seis QTLs associados à tolerância ao acamamento em milho. Dois QTLs no cromossomo 9, próximos ao gene LOC103637828 e ao gene LOC100502428, dois no cromossomo 4 próximos aos genes LOC103654305 e LOC100191644, um QTL no cromossomo 1 e um QTL no cromossomo 10.

Após validação destes QTLs em populações independentes, é possível elaborar estratégias de SAM para auxiliar no desenvolvimento de linhagens e híbridos de milho com maior tolerância ao acamamento.

REFERÊNCIAS

ALEXANDER DH, NOVEMBRE J, LANGE K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals Genome Res. 2009, 19 (9), Sep, pp. 1655-1664. doi: 10.1101/gr.094052.109

ASSEFA Y, et al. A new insight into corn yield: trends from 1987 through 2015. Crop Science. 2017, 57 (5), pp. 2799-2811. doi: 10.2135/cropsci2017.01.0066

BURGHARDT TP, et al. Auxotonic to isometric contraction transitioning in a beating heart causes myosin step-size to down shift. PLoS One. 2017, 12(4), April, pp. 1-23. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174690

CENCI AM. Relatório de estágio supervisionado realizado na estão de pesquisa Corteva AgriscienceTM. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2021. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/30663 /1/2021_ AndrineDeMariCenci_tcc.pdf. Trabalho de Conclusão de Curso.

COSTA RV, et al. Manejo de doenças na cultura do milho. In: KAPPES, C (Ed.). Boletim de pesquisa 2017/2018: soja, algodão, milho. 18. ed. Rondonópolis: Fundação MT, 2017. p. 274-309.

COSTA RV, et al. Levantamento de fungos causadores de podridões de colmo em milho na região Centro Oeste do Brasil. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. 2015, 133. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/ bitstream/item/145936/1/bol-133.pdf.

COSTA RV, CASELA CR, COTA LV. Podridões do colmo e das raízes. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Árvore do conhecimento do milho. Brasília, 2021. Disponível em: https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao /pragas-e-doencas/doencas/podridoes-do-colmo-e-das-raizes.

DAY RB, et al. Differential expression of two soybean apyrases, one of which is an early nodulin. Mol Plant Microbe Interact. 2000, 13 (10), Oct, pp. 1053-1070. doi: 10.1094/MPMI.2000.13.10.1053

DUBREUIL V, et al. Os tipos de climas anuais no Brasil : uma aplicação da classificação de Köppen de 1961 a 2015. Confins, 37, 2018. doi: https://doi.org/10.4000/confins.15738.

ELSHIRE RJ, et al. Uma abordagem robusta e simples de genotipagem por sequenciamento (GBS) para alta diversidade espécies. PLoS ONE. 2011, 6 (5), doi: 10.1371 / journal.pone.00 19379.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Árvore do conhecimento do milho. Brasília, 2021. Disponível em: https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao /pragas-e-doencas/doencas/podridoes-do-colmo-e-das-raizes.

FARFAN IDB, et al. Genome Wide Association Study for Drought, Aflatoxin Resistance, and Important Agronomic Traits of Maize Hybrids in the Sub-Tropics. PLoS ONE. 2015, 10 (2) doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117737

FARIA SV. Caracterização fenotípica e molecular e análise de GWAS e GWS para caracteres de raiz em um conjunto de linhagens endogâmicas de milho tropical. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, 2021. Disponível em: https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789 /28160/1/ texto%20 completo.pdf. Tese de doutorado.

FRITSCHE-NETO R, et al. Seleção genômica ampla e novos métodos de melhoramento do milho. Rev. Ceres, 2012, 59 (6), nov/dez, pp. 794-802. doi: https://doi.org/10.1590/S0034-737X2012000600009.

GARCIA, PHM. Valor nutricional da silagem de genótipos de milho e sorgo cultivados em duas densidades de semeadura. In: OELKE, CA (Org.). Nutrição e Produção Animal. Guarujá: Científica Digital. 2020. p. 335-359.

GRANATO ISC, et al. Seleção Genômica Ampla Para Caracteres de Raiz em Milho Tropical em Condições de Estresse de Nitrogênio. 2012. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br /digital/bitstream/item/72841/1/Deon-CNMS-SelecaoNitrogenio.pdf

GOMES LS, et al. Resistência ao acamamento de plantas e ao quebramento do colmo em milho tropical. Pesq. Agropec. Bras. 2010, 45, (2), fev, pp. 140-145. doi: https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000200004.

IVANOV A, et al. Polyadenylate-binding protein-interacting proteins PAIP1 and PAIP2 affect translation termination. J Biol Chem. 2019, 294 (21), May, pp. 8630-8639. doi: 10.1074/jbc.RA118.006856

KINSELLA RJ, et al. Ensembl BioMarts: a hub for dataretrieval across taxonomic space. Database, 2011. doi: 10.1093/banco de dados/bar030

LONG A, LANGLEY CH. The Power of Association Studies to Detect the Contribution of Candidate Genetic Loci to Variation in Complex Traits. Genome Res. 1999, 9 (8), Aug, pp. 720-731. doi: 10.1101/gr.9.8.720

MIQUELONI D, SIMEÃO RM, ASSIS G. Seleção Genômica Ampla (GWS) e Associação Genômica Ampla (GWAS) no melhoramento de forrageiras: abordagem conceitual, genética quantitativa e aplicações. Enciclopédia Biosfera, 2019, 16 (30), pp. 556-582. doi: 10.18677/EnciBio_2019B52

MODENEZ, IA. Transferência de elétrons entre citocromo c e nanopartículas de óxidos de ferro como biomimético da cadeia respiratória. São Carlos: Universidade de São Paulo,2020. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/ disponiveis /75/75134/tde-23102020-122703/pt-br.php. doi: https://doi.org/10.11606/ D.75.2020.tde-23102020-122703

MOREIRA C. Ciclo Celular. Rev. Ciência Elem. 2014, 2(4), Dez. doi:org/10.24927/rce2014.249

O'CONNELL CB, TYSKA MJ, MOOSEKER MS. Myosin at work: Motor adaptations for a variety of cellular functions. Elsevier Biochimica et Biophysica Acta. 2006, 1773 (5), May, pp. 615-630. doi: 10.1016/j.bbamcr.2006.06.012

POLAND JA, RIFE TW. Genotyping-by-Sequencing for Plant Breeding and Genetics. The Plant Genome, 2012, 5 (3), Nov, pp. 92-102. doi: https://doi.org/10.3835/plantgenome 2012.05.0 0 05

RESENDE, M. D. V. Genômica quantitativa e seleção no melhoramento de plantas perenes e animais. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 330 p.

SCHILLER M, et al. The Arabidopsis apyrase AtAPY1 is localized in the Golgi instead of the extracellular space. BMC Plant Biology, 2012, 12 (123), July, pp.1-16. doi: https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-123

SANTOS HG, et al. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 5. ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa, 2018. 356 p. Disponível em: file:///C:/Users/Usuario/Downloads/SiBCS-2018-ISBN-9788570358004.pdf.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT user's guide: version 6. 4th ed. Cary: SAS Institute Incorporated, 1990. ISBN: 978-15-55443-76-4.

SCHUSTER I, CRUZ CD. Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados. Viçosa: UFV, 2004. 568 p.

SOUSA LL, FERREIRA MFS, MACIEL TEF. Marcadores moleculares baseados em sequênciamento de nova geração. In: MIRANDA FD, et al. (Orgs.). Tópicos especiais em genética e melhoramento II. Alegre: CCA-UFES, 2018, pp. 144-173. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Pedro-Santos-13/ publication/327695694 _Filogeografia_molecular_e_o_melhoramento_genetico_de_plantas/links/5b9f9efd92851c a9ed112d47/Filogeografia-molecular-e-o-melhoramento-genetico-de-plantas. pdf.

VINHOLES P, et al. Single Nucleotide Polymorphism-Based Haplotypes Associated with Charcoal Rot Resistance in Brazilian Soybean Germplasm. Agronomy Journal, 2019, 3 (111), pp. 182-192. doi: https://doi.org/10.2134/agronj 2018.07.0429

WANG J, ZHANG Z. GAPIT Version 3: Boostingxvx Power and Accuracy for Genomic Association and Prediction. Genomics. Proteomics & Bioinformatics. 2021, 19 (4), August, pp. 629-640. doi: https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.08.005.

WANG G, et al. Genome-wide identification, splicing, and expression analysis of the myosin gene family in maize (Zea mays). J Exp Bot. 2014, 65 (4), Mar, pp. 923-938. doi: 10.1093/jxb/ert437

WARD DM, KAPLAN J. Ferroportin-mediated iron transport: expression and regulation. Biochim Biophys Acta, 2012, 1823 (9), Sep, pp. 1426-1433. doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.03.004

XU Y, et al. Enhancing genetic gain through genomic selection: from livestock to plants. Plant Communications. 2020, 1 (1), January, pp. 1-21. doi: https://doi.org/10.1016/j.xplc.2019.100005

ZHANG Y, et al. Multi-Locus Genome-Wide Association Study Reveals the Genetic Architecture of Stalk Lodging Resistance-Related Traits in Maize. Frontiers in Plant Science, 2018, 9 (611), May. doi: https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00611