

Efeito da Herdabilidade no Mapeamento Genético em Populações F2 simuladas.

Lívia Gracielle Oliveira Tomé¹, Caio César Salgado¹, Rafael Simões Tomaz¹, Eliel Alves Ferreira¹, Rafael Mauri¹, Danielle Silva Pinto¹, Carlos Felipe Barreira Sanchez¹, Cosme Damião Cruz¹

¹Universidade Federal de Viçosa/Departamento de Biologia Geral, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n Campus Universitário 36570-000 Viçosa, MG. liviatome@yahoo.com.br, caiocesio@yahoo.com.br, rafaelst@gmail.com, elielaf2003@yahoo.com.br, cdcruz@ufv.br

Resumo- As características quantitativas são estudadas em nível de populações e são descritas por meio de parâmetros genéticos tais como média, variância, covariância e herdabilidade. A herdabilidade mede o grau de correspondência entre fenótipo e valor genético que é, em última instância, aquilo que influencia a próxima geração. O objetivo deste trabalho foi estimar a interferência da herdabilidade na detecção de QTLs por meio de simulação computacional. Foram testadas 4 características fenotípicas que variaram quanto à estimativa do parâmetro genético herdabilidade (80%, 50%, 20% e 5%). Neste trabalho, com base no estabelecimento de um critério de LOD mínimo igual a 3, para tomada de decisão da exata localização do QTL, possível região genômica que explique o caráter fenotípico, apenas um QTL foi detectado pelo método de Intervalo Simples. Este QTL detectado foi para a característica com herdabilidade de 5%, no intervalo entre os marcadores 123 e 124, a 4 cM. Os principais fatores que influenciaram na detecção do QTL foram o tamanho da população e o número de marcadores moleculares e não a herdabilidade fenotípica.

Palavras-chave: Mapeamento genético, herdabilidade, população F2.

Área do Conhecimento: Genética e Melhoramento de Plantas

Introdução

Os estudos genéticos de caracteres qualitativos são feitos em nível de indivíduos e a interpretação da herança é feita com base na contagem e proporções definidas pelos resultados observados nas descendências dos cruzamentos. Entretanto, as características quantitativas são estudadas em nível de populações e são descritas por meio de parâmetros genéticos tais como média, variância, covariância e herdabilidade.

A herdabilidade mede o grau de correspondência entre fenótipo e valor genético que é, em última instância, aquilo que influencia a próxima geração. Pode, ainda, ser definida de acordo com a variância genética envolvida, sob dois pontos de vista, herdabilidade no sentido amplo e herdabilidade no sentido restrito. A primeira definição envolve uma razão entre variância genética e variância total, $h^2 = s_g^2 / (s_g^2 + s_e^2)$. A segunda é representada pela razão entre a variância genética aditiva e a variância total, $h^2 = s_a^2 / (s_g^2 + s_e^2)$, onde $s_g^2 = s_a^2 + s_d^2$, sendo s_a^2 e s_d^2 as variâncias genética aditiva e de dominância, respectivamente.

O mapeamento de QTL ("Quantitative Trait Loci") é uma estratégia que torna possível a dissecação genética de características quantitativas, complexas.

O termo QTL foi criado por Geldermann (1975) e se baseia no princípio da existência de locos de maior importância relacionados com a expressão de determinada característica métrica. Estratégias utilizadas para detecção e caracterização dos QTLs dependem principalmente: da população avaliada, do número de indivíduos genotipados e da técnica de marcador molecular empregada. Além destas três características, destacam-se também as características do próprio QTL, tais como: seu efeito na expressão da característica, a precisão experimental para a sua avaliação, a herdabilidade da característica avaliada e os efeitos de dominância.

A maioria das características de importância agrônômica é de herança complexa e regulada por vários genes. O mapeamento genético tem fornecido novas oportunidades e estratégias para a dissecação de genes de efeito maior e características controladas por locos quantitativos. Dekkers & Hospital (2002) relatam que o uso da informação molecular para o melhoramento genético será mais efetivo quando o esboço genético da característica quantitativa for completamente claro. Os locos de características quantitativas, em geral, têm baixa herdabilidade e pequeno efeito individual.

A construção de mapas genéticos é uma das aplicações de maior impacto da tecnologia de marcadores moleculares na análise genética de

espécies e no melhoramento de plantas. Os mapas genéticos dão a localização de regiões genômicas e a análise completa de genomas que controlam caracteres de importância, a quantificação do efeito destas regiões, na característica estudada (Ferreira & Grattapaglia, 1995; Vinocur & Altman, 2005).

A simulação tem contribuído grandemente para o avanço tanto na Genômica quanto nas demais áreas do melhoramento. Uma dessas contribuições é a possibilidade de serem simulados diferentes tipos de populações, permitindo menor gasto em material e mão-de-obra, além do ganho de tempo. As simulações podem também ser feitas com base em dados reais. Frish, et al. (1999), para verificar a confiabilidade do software utilizado, compararam o mapa de ligação original utilizado em seu trabalho, no qual foi baseado em dados experimentais de F_2 , com um mapa de ligação construído a partir de dados simulados de indivíduos F_2 , pelo programa MAPMAKER (Lander et al., 1987). Pela comparação, foi visto que os mapas estavam em excelente concordância, confirmando que os modelos usados nos dois programas eram similares.

O programa QQMOL foi desenvolvido com o propósito de analisar dados obtidos de estudos moleculares. Pode ser usado em análise de segregação de locos individuais, estimação de porcentagem de recombinação, agrupamento de marcas moleculares e mapeamento, incluindo estudos de QTL com populações controladas, populações exogâmicas, simulação e análise de imagem. Além disso, conta com um módulo de ensino, apresentando vários procedimentos para entendimento de princípios estatísticos e genéticos envolvidos na análise genômica.

O objetivo deste trabalho foi estimar a interferência da herdabilidade na detecção de QTLs por meio de simulação computacional.

Metodologia

Simulação dos dados

Para a geração dos dados utilizaram-se o módulo de simulação do aplicativo computacional QQMOL (CRUZ, 2010), o qual permite gerar informações sobre genomas, genótipos, genitores, indivíduos de diferentes tipos de populações e dados de características quantitativas.

Foram simulados genomas parentais e amostras de populações F_2 . As amostras geradas foram de 200 indivíduos, com 10 grupos de ligação cada. Também foram geradas matrizes de distâncias entre pares de locos.

Simulação do Genoma

Para este estudo foi tomada como referência uma espécie diplóide fictícia com $2n = 2x = 20$ cromossomos, cujo comprimento total do genoma foi estipulado em 1.000 cM. Foram gerados genomas com níveis de saturação de 21 marcas moleculares 5 cM por grupo de ligação. Cada genoma foi composto por 10 grupos de ligação, 100 cM em cada grupo, com um comprimento total de 1.000 cM.

Neste estudo foram usadas nas simulações marcas codominantes, para populações F_2 .

Simulação dos Genitores

Na análise de ligação gênica com dados de populações F_2 para cada grau de saturação do genoma estudado foi simulada a situação em que os pais são homozigotos, sendo um dominante e outro recessivo. Também foi concebido que todos os locos estivessem em aproximação.

Procedimento de simulação dos indivíduos das populações F_2

A estratégia básica de simulação é caminhar ao longo dos cromossomos, realizando permutas em cada intervalo entre marcas adjacentes, de acordo com as distâncias dos marcadores, conforme descrito por Silva (2005).

O processo de simulação das populações F_2 seguiu os seguintes passos:

i) A partir do genoma simulado, foram construídos os genótipos parentais homozigotos e contrastantes para os marcadores, de tal forma que a geração F_1 estivesse em aproximação para todos os marcadores.

ii) A partir do genótipo da geração F_1 , foram gerados os gametas para a formação dos indivíduos das populações F_2 . A produção de gametas foi feita simulando-se o pareamento dos homólogos e realizando-se permutas ao longo dos cromossomos e considerando a não-existência de interferência nas regiões delimitadas por dois marcadores adjacentes. A probabilidade de ocorrência de recombinação numa região entre marcadores adjacentes foi dada de acordo com a distância desses marcadores no genoma simulado. Ressalta-se que maior distância implica maior possibilidade de ocorrência de recombinação (Figura 1).

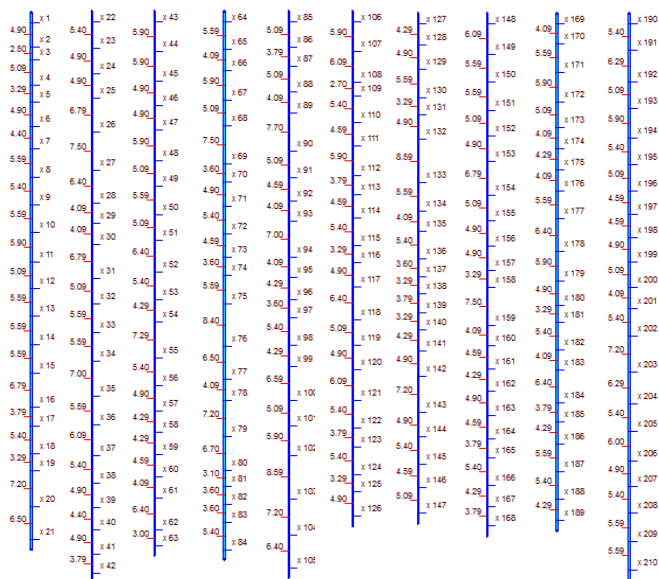


Figura 1. Mapa de ligação com saturação de 21 marcas por grupo de ligação e um total de 10 grupos de ligações.

Resultados

Foram testadas 4 características fenotípicas que variaram quanto à estimativa do parâmetro genético herdabilidade (80%, 50%, 20% e 5%).

Neste trabalho, com base no estabelecimento de um critério de LOD mínimo igual a 3, para tomada de decisão da exata localização do QTL, possível região genômica que explique o caráter fenotípico, apenas um QTL foi detectado pelo método de Intervalo Simples (Lander & Botstein, 1989). Este QTL detectado foi para a característica com herdabilidade de 5%, no intervalo entre os marcadores 123 e 124, a 4 cM (Tabela 1).

Tabela1. Estimativas da posição do QTL, LOD e relações gênicas.

CARACTERÍSTICA $H^2=80\%$				
MARCADOR	POSIÇÃO	LOD	GMD	
12--13	0.04	0.87	-4.73	SD
111-112	0.04	1.92	4.28	SD
54-55	0.06	1.12	0.45	DP
70-71	0.049	1.92	0.45	DP
139-140	0.033	1.03	-0.53	DP
158-159	0.05	2.27	-8.17	SD
178-179	0.059	0.54	5.09	SD
94-95	0.04	1.29	0.92	DP
36-37	0.01	0.69	-0.62	DP
205-206	0.06	0.71	-1.32	DC

CARACTERÍSTICA $H^2=50\%$				
MARCADOR	POSIÇÃO	LOD	GMD	
11--12	0.02	1.37	2	SD
110-111	0.04	2.09	-1.97	DC
48-49	0.02	0.66	-94.26	SD
70-71	0.03	1.27	-1.9	DC
139-140	0.033	1.16	-0.91	DP
151-152	0.04	1.48	0.01	DP
185-186	0	0.59	5.12	SD
89-90	0.077	0.81	-8.04	SD
40-41	0.049	0.75	61.83	SD
200-201	0.02	0.195	0.13	DP

CARACTERÍSTICA $H^2=20\%$				
MARCADOR	POSIÇÃO	LOD	GMD	
8--9	0.02	1.32	2.51	SD
123-124	0.054	2.8	141.66	SD
48-49	0.04	1.53	-3.49	SD
75-76	0	1.64	1.44	DC
139-140	0.01	0.85	-5.99	SD
151-152	0.051	2.36	-0.93	DP
184-185	0.038	1.42	6.02	SD
92-93	0	0.46	0.05	DP
38-39	0.049	2.11	3.03	SD
209-210	0.05	2.05	2.9	SD

CARACTERÍSTICA $H^2=5\%$				
MARCADOR	POSIÇÃO	LOD	GMD	
13--14	0.056	0.93	7.29	SD
123-124	0.04	3.72	-2.91	SD
51-52	0.064	1.83	0.73	DP
65-66	0.04	1.27	1.22	DC
146-147	0.03	1.85	0.22	DP
154-155	0	2.11	1.11	DC
178-179	0.059	2.59	-0.3	DP
86-87	0.038	1.83	-1.87	DC
38-39	0	1.86	-2.32	SD
209-210	0.05	1.99	-0.82	DP

*Relações de SD (sobredominância), DC (dominância completa), DP (dominância parcial) dadas em módulo.

Discussão

Características fenotípicas que apresentem alta herdabilidade genética (H^2) é o que os melhoristas esperam para trabalhar em determinado programa de melhoramento genético.

A seleção de genótipos que apresentam bons desempenhos em vários ambientes, por exemplo, podendo ser estes em condições de estresse ou em condições favoráveis é prática dos programas de melhoramento. Para que uma característica possa ser utilizada na seleção indireta e se obter ganho em condições subótimas ou adversas, é necessário que os programas de melhoramento assegurem de alta correlação genética entre a característica de interesse agrônomo e o ambiente de seleção e alta herdabilidade da característica.

Embora o esperado fosse detectar maior quantidade de QTLs nas características de maiores herdabilidade genética (80 e 50%), aqui ocorre exatamente o contrário. Com base na escolha do critério de LOD mínimo igual a 3 e frequência de recombinação máxima igual a 30, pelo método do Intervalo Simples, utilizando o cálculo da máxima verossimilhança, a característica fenotípica de menor herdabilidade, 5%, foi a que expressou um possível QTL.

Provavelmente, o que esteja influenciando de fato a detecção de QTLs não seja em primeira instância a herdabilidade da característica fenotípica, mas sim o tamanho da população e pelo efeito do QTL ou ainda pelo o número de marcas moleculares. Estas observações já foram relatadas em estudos como os citados por Lynch & Walsh (1998). Segundo estes autores, o tamanho da população de mapeamento compromete a detecção de QTLs de efeito menor, pelo reduzido número de famílias avaliadas.

Características quantitativas, geralmente, apresentam muitos QTLs segregando, cada um com pequenos efeitos individuais. O resultado é que os efeitos, das regiões individuais, não são facilmente identificados. Portanto, múltiplas regiões genômicas devem ser manipuladas ao mesmo tempo para se ter um impacto significativo (Fasoula, 2004).

Conclusão

Um QTL foi detectado para a característica fenotípica com 5% de herdabilidade.

Os principais fatores que influenciaram na detecção do QTL foram o tamanho da população e o número de marcadores moleculares e não a herdabilidade fenotípica.

Agradecimentos

Às fontes financiadoras da pesquisa Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG e Cnpq.

À Universidade Federal de Viçosa- Bioagro.

Referências

DEKKERS, J.C.M.; HOSPITAL, F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, New York, v. 3, n. 1, p. 43-52, 2002.

FASOULA, V.A.; HARRIS, D.K.; BOERMA, R.H. Validation and designation of quantitative trait loci for seed protein, seed oil and seed weight from two soybean populations. **Crop Science**, Madison, v. 44, p. 1218-1225, 2004.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220p.

FRISH, M.; BOHN, M.; MELCHINGER, A. E. Comparison of selection strategies for marker-assisted backcrossing of a gene. **Crop Sci.**, v. 39, p. 1295-1301, 1999.

GELDERMANN, H. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers. I. Methodes. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 46, p. 319-330, 1975.

GQMOL, <http://www.ufv.br/dbg/gqmol/gqmol.htm>

LANDER, E.S.; BOTSTEIN, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, Baltimore, v.121, p. 185-199, 1989.

LANDER, E. S.; GREEN, P.; ABRAHAMSON, J.; BARLOW, A.; DALY, M. J.; LINCOLN, S. E.; NEWBURG, L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. **Genomics**, v. 1, n. 2, p. 174-81, Oct. 1987.

LYNCH, M. & WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland, USA: Inc. Ed., Sinauer: Canada. 980p., 1998.

SILVA, L. da C. e. **Simulação do tamanho da população e da saturação do genoma para mapeamento genético de RILs**. Viçosa, MG: UFV, 2005. 120 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

VINOCUR, B.; ALTMAN, A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16, p. 123-132, 2005.