



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA

MARIA VALNICE DE SOUZA SILVEIRA

**MAPEAMENTO DE ASSOCIAÇÃO PARA CARACTERES VIA IMAGENS DO
SISTEMA RADICULAR DE MILHO TROPICAL SOB DÉFICIT HÍDRICO EM
REGIÃO SEMIÁRIDA**

FORTALEZA

2022

MARIA VALNICE DE SOUZA SILVEIRA

MAPEAMENTO DE ASSOCIAÇÃO PARA CARACTERES VIA IMAGENS DO
SISTEMA RADICULAR DE MILHO TROPICAL SOB DÉFICIT HÍDRICO EM REGIÃO
SEMIÁRIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

Orientador: Prof. D.Sc. Júlio César do Vale Silva

Coorientador: Prof. D. Sc. Roberto Fritsche Neto

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S589m Silveira, Maria Valnice de Souza.
Mapeamento de associação para caracteres via imagens do sistema radicular de milho tropical sob déficit hídrico em região semiárida / Maria Valnice de Souza Silveira. – 2022.
38 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Júlio César do Vale Silva.
Coorientação: Prof. Dr. Roberto Fritsche Neto.
1. Zea mays L.. 2. Estresse abiótico. 3. Fenotipagem de alto rendimento. 4. GWAS. I. Título.
CDD 630
-

MARIA VALNICE DE SOUZA SILVEIRA

MAPEAMENTO DE ASSOCIAÇÃO PARA CARACTERES VIA IMAGENS DO
SISTEMA RADICULAR DE MILHO TROPICAL SOB DÉFICIT HÍDRICO EM REGIÃO
SEMIÁRIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

Aprovada em 18/11/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. D. Sc. Júlio César do Vale Silva (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. D. Sc. Roberto Fritsche Neto (Coorientador)
Louisiana State University (LSU)

Prof. D. Sc. Rodrigo Gazaffi
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

A Deus, ofereço!

A minha avó paterna, M^a Suzana (*in memoriam*), aos meus pais, Antonio e Luzanira (*in memoriam*), e a todos meus irmãos e irmãs...

Dedico!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar comigo em todas as circunstâncias e por todas as bênçãos em minha vida.

À minha mãe, M^a Luzanira R. de S. Silveira (*in memoriam*) que me permitiu chegar até aqui, pelo apoio, conselhos, amparo. Maior responsável por essa conquista, fato esse que sempre lhe fez orgulho, mas que infelizmente não conseguiu ver essa vitória até o fim. Mulher guerreira, que em meio a tantas dificuldades criou seus 12 filhos com muito amor e sabedoria. Ao meu Pai, Antonio L. da Silveira, agricultor de fibra, que sempre batalhou para que não nos faltasse o pão; pela inspiração e ensinamentos valiosos que contribuíram muito para a minha formação.

Aos meus 11 irmãos: Claudiana, Fabio, Claudenia, Crelsiana, Claudeilson, Cleilson, Cleovania, Cleonice, Cleony, Valdenia e Suzana, que sempre me apoiaram, deram forças, carinho e atenção. E aos meus cunhados(as), sobrinhos (as).

À Universidade Federal do Ceará, pela valiosa oportunidade e rica formação. Especialmente ao programa de pós-graduação em agronomia/fitotecnia.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao Prof. D.Sc. Júlio César do Vale Silva, obrigada pelos ensinamentos, orientação, apoio, atenção e pelas contribuições com críticas e sugestões no aprimoramento do trabalho.

Aos componentes da banca: coorientador Prof. D. Sc. Roberto Fritsche Neto e ao Prof. D. Sc. Rodrigo Gazaffi pelas contribuições para realização deste estudo e sugestões valiosas.

A todos do grupo: Adriano, Anderson, Fernanda, Ingrid e Lucas que trabalharam empenhados e arduamente para a realização deste trabalho. E a todos os colaboradores que nos ajudaram durante os ensaios experimentais, em especial, ao Tomil, pelas valiosas contribuições.

Aos meus amigos (Jayrla, Lidiane, Raquel, Sinara, Valesca e Wellington) que sempre me deram suporte durante minha trajetória acadêmica.

Aos colegas e amigos que conheci durante a pós-graduação: Angela, Ana Kelly, Lucimara e Priscila e aos demais, que foram fermentos no meu percurso acadêmico.

Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, meu agradecimento.

RESUMO

O déficit hídrico é um dos fatores que mais impactam negativamente a produção agrícola. Caracteres do sistema radicular como comprimento, área superficial, volume e massa são considerados de suma importância em estudos sob condições de restrição hídrica, pois desempenham um papel central no crescimento da planta, na alocação e aquisição de recursos do solo. Portanto, a identificação de regiões genômicas e/ou genes associados a expressão do sistema radicular sob déficit hídrico deve possibilitar programas de melhoramento traçarem estratégias mais eficazes na obtenção de genótipos tolerantes. Neste sentido, objetivou-se no presente estudo, identificar marcas e/ou regiões genômicas em milho tropical associadas às respostas do sistema radicular em condições contrastantes de suprimento hídrico. Sete caracteres de raiz de milho tropical em estágio fenológico V6 (seis folhas completamente expandidas) foram avaliados dentro de um painel público de diversidade composto por 360 linhagens em condições de suprimento de água ideal (WW) e de déficit hídrico (WS). Este painel foi avaliado em dois experimentos ao longo de dois anos (2020 e 2021). O mapeamento associativo (GWAS) foi conduzido para cada caráter sob as condições de WW e WS pelo método da Unificação de Probabilidade Circulante de Modelo Fixo e Aleatório (FarmCPU). Foi realizada anotação de genes candidatos para aqueles caracteres com SNPs significativos por meio do MaizeGDB, com base no genoma de referência B73 RefGen_v4. Foram identificados 23 SNPs em associação a todos os caracteres do sistema radicular de milho tropical, nas duas condições de suprimento de água, sendo 12 destes expressos somente em WW, quatro associados a caracteres em WW e WS e sete exclusivos a WS. Esses genes estão associados a respostas fisiológicas e mecanismos moleculares relacionados à tolerância ao déficit hídrico que podem ser explorados em estudos subsequentes, assim como por programas de melhoramento voltados a obtenção de genótipos para essa condição.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; estresse abiótico; fenotipagem de alto rendimento; GWAS.

ABSTRACT

Water deficit is one of the factors that most negatively impact agricultural production. Root system characters such as length, surface area, volume, and mass are considered of paramount importance in studies under water restriction conditions, as they play a central role in plant growth, allocation, and acquisition of soil resources. Therefore, the identification of genomic regions and/or genes associated with the expression of the root system under water deficit should allow breeding programs to outline more effective strategies for obtaining tolerant genotypes. In this sense, the objective of the present study was to identify marks and/or genomic regions in tropical maize associated with the root system's responses in contrasting water supply conditions. Seven characters of tropical maize root in the V6 phenological stage (six fully expanded leaves) were evaluated within a public diversity panel composed of 360 lines under ideal water supply (WW) and water deficit (WS) conditions. This panel was evaluated in two experiments over two years (2020 and 2021). The associative mapping (GWAS) was conducted for each character under the conditions of WW and WS by the method of the Circulating Probability Unification of Fixed and Random Model (FarmCPU). Candidate genes were annotated for those characters with significant SNPs using MaizeGDB, based on the reference genome B73 RefGen_v4. 23 SNPs were identified in association with all characters of the root system of tropical maize, 12 of these expressed only in WW, four associated with characters in WW and WS, and seven exclusive to WS. These genes are associated with physiological responses and molecular mechanisms related to water deficit tolerance that can be explored in subsequent studies and breeding programs aimed at obtaining genotypes for this condition.

Keywords: *Zea mays* L.; abiotic stress; high-throughput phenotyping; GWAS.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Informações climáticas da área experimental nos períodos em que foram conduzidos os experimentos, 2020, repetição 1 e 2 (a e b, respectivamente) e 2021, repetição 3 e 4 (c e d, respectivamente), no município de Fortaleza, CE 33
- Figura 2 – Correlação entre os caracteres matéria seca das raízes (DMR), comprimento das raízes laterais (LRL) e axiais (ARL), área superficial das raízes laterais (LRS) e axiais (ARS), volume das raízes axiais (ARV) e lateral (LRV), em condições de suprimento ideal de água (a) e de déficit hídrico (b) 34
- Figura 3 – SNPs significativos encontrados via análises de GWAS. Gráficos circular (círculos concêntricos) de Manhattan das análises de associação dos caracteres DMR, ARL, LRL, LRV nas condições de WW (a) e WS (b). As linhas contínuas em vermelho indicam o threshold para seu respectivo caráter. Os SNPs significativos (acima das linhas) foram marcados em vermelho. Gráficos quantil-quantil dos caracteres supramencionados sob condições WW (c, d, e, f) e WS (g, h, i, j), respectivamente 36
- Figura 4 – Diagramas de Venn com o número de SNPs significativos associados aos caracteres do sistema radicular em WW (a), WS (b) e em comum as duas condições (c) 37

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Teste de Wald de efeitos fixos, teste de razão de verossimilhança (LRT) de efeitos aleatórios, componentes de variância, herdabilidade e acurácia para DMR (matéria seca de raízes, g), comprimento de raízes axiais (ARL, cm), comprimento de raízes laterais (LRL, cm) e volume de raízes laterais (LRV, cm) 35
- Tabela 2 – Marcador, cromossomo (Chrm), posição física (posi), p-valor, *minor allele frequency* (MAF), efeito de substituição alélica (ASE), proporção da variância fenotípica explicada pelo SNP (R_{SNP}^2), soma da proporção da variância fenotípica explicada pelos SNPs (R_{TOT}^2) e anotação de genes candidatos detectados pela análise GWAS para caracteres do sistema radicular em WW e WS 38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1	Material genético e condução experimental.....	12
2.2	Caracterização fenotípica do sistema radicular.....	13
2.3	Correlações e modelo genético-estatístico para obtenção dos D-BLUPs.....	13
2.4	Genotipagem e controle de qualidade	15
2.5	Estrutura populacional e decaimento de LD	15
2.6	Análise de associação	16
2.7	Anotação de genes	16
3	RESULTADOS	17
3.1	Análises fenotípicas	17
3.2	Análise de associação	17
3.3	Genes candidatos e anotações funcionais	18
4	DISCUSSÃO	20
4.1	Respostas fenotípicas de caracteres relacionados ao sistema radicular sob condições WW e WS	20
4.2	Análise de associação e genes candidatos do sistema radicular sob condições WW e WS	20
4.3	Considerações finais	24
5	CONCLUSÃO	26
	REFERÊNCIAS	27
	APÊNDICE A – LISTA DE FIGURAS E TABELAS	33

1 INTRODUÇÃO

Em regiões semiáridas, a viabilidade do cultivo de milho (*Zea mays*) é devido, em parte, pelo metabolismo fotossintético C4 da espécie, que proporciona tolerância a níveis elevados de radiação luminosa (Hawkins et al., 2013). No entanto, nessas regiões, a irregularidade hídrica interligada às mudanças climáticas sob temperaturas extremas, ocasiona grandes distúrbios fisiológicos à planta, afetando com isso, a sua produtividade (Contini et al., 2019).

A deficiência hídrica é caracterizada pela redução do teor de água e do potencial osmótico, murcha, fechamento estomático, diminuição do alargamento celular e crescimento de parte aérea das plantas, redução do aproveitamento de água e de nutrientes presente no solo (Shao et al., 2008; Bengough et al., 2011). A arquitetura de raiz é um órgão indicador dos sinais de estresse pela deficiência hídrica e absorção de água (Zaidi et al., 2016; Zhang et al., 2019; Guo et al., 2020; Liu & Qin, 2021), sendo este, um dos órgãos em que as plantas usam estrategicamente para tolerar a essas condições.

Com a restrição hídrica, há aumento do comprimento, área superficial e volume de raízes laterais e axiais, número de vasos no xilema e sua massa seca (Abd Allah et al., 2010; Comas et al., 2013; DoVale et al., 2013; Zhan et al., 2015; Gao & Lynch, 2016). Assim, esses caracteres do sistema radicular são considerados de suma importância em estudos sob condições de déficit hídrico, pois desempenham um papel central no crescimento da planta, alocação e aquisição de recursos do solo (Sun et al., 2021). Portanto, compreender como as raízes respondem e suportam as condições de déficit hídrico é crucial para conhecer os mecanismos de tolerância a esse estresse, assim como para a obtenção de genótipos resilientes. Dessa forma, conectar informações genótipo-fenótipo do indivíduo por intermédio do mapeamento de associação (GWAS) tem sido uma excelente estratégia (Xiao et al., 2017).

GWAS permite detectar marcas ou regiões genômicas com efeitos estatisticamente significativos e assim, descobrir genes candidatos envolvidos na variação genotípica de uma população. Para isso, é usado o mapeamento baseado em análise de desequilíbrio de ligação (LD), em que, associações não aleatórias entre marcas polimórficas de nucleotídeo único (SNPs) de alta densidade e fenótipos são buscadas (Miqueloni et al., 2017). Com isso, GWAS objetiva vincular variações no genoma às diferenças correspondentes no fenótipo (Xiao et al., 2017).

GWAS gera conhecimentos sobre a diversidade genética e alélica de caracteres complexos, inclusive auxiliando na identificação de alelos e genótipos superiores dentro de

um programa de melhoramento (Pace et al., 2015). No geral, sob condições de estresse, quanto maior a diversidade existente, maior a probabilidade de identificar genes específicos capazes de conferir tolerância às plantas (Rodriguez et al., 2020). Essa condição é normalmente observada em painéis de diversidade genética.

Para caracteres complexos controlados por muito genes, como os do sistema radicular de milho (DoVale et al., 2013, DoVale & Fritsche-Neto 2013), são usados modelos lineares mistos multilocus (MLMMs), por serem considerados mais apropriados. Esses modelos são modificações do MLM, em que são incorporados vários marcadores simultaneamente como covariáveis passo a passo, para remover parcialmente o confundimento entre efeito de parentesco e efeito de marcador (Liu et al., 2016). Dentre os modelos MLMMs se destaca o método de unificação de probabilidade circulante de modelo fixo e aleatório (FarmCPU), que fornece maior poder estatístico quando o caráter é altamente associado ao parentesco (Segura et al., 2012; Liu et al., 2016). O FarmCPU é eficiente computacionalmente e todos os marcadores que influenciam o fenótipo, seja ele de efeito fixo ou aleatório, está incluído em um só modelo (Cortes et al., 2021).

Entretanto, apesar do custo de genotipagem ter reduzido nos últimos anos, permitindo o sequenciamento de DNA cada vez mais rápido e barato, a fenotipagem tem sido um dos grandes gargalos (Fritsche-Neto & Borém, 2016; Rodriguez et al., 2020). Em contrapartida, a fenômica ou fenotipagem de alto rendimento surge como uma ferramenta capaz de suprir as desvantagens encontradas pela fenotipagem convencional, possibilitando obter maior quantidade de dados e assim reduzir a disparidade de informações em relação a genotipagem. Neste sentido, existem várias abordagens que integram a tecnologia de imagem para a obtenção de dados fenotípicos, que vão desde a utilização de equipamentos portáteis que quantificam a fluorescência da clorofila, á plataformas que avaliam a qualidade de raízes tuberosas (Barbagallo et al., 2003; Caraza-Harter, & Endelman, 2020).

Contudo, a grande maioria dos estudos envolvendo GWAS leva em consideração fenótipos obtidos de forma convencional e, na grande maioria das vezes, da parte aérea da planta, como produção, altura de planta e espiga, dentre outros. Apesar de pouco usual, especialmente para caracteres ligados ao sistema radicular e em condições de estresse abiótico, alguns estudos vêm sendo conduzidos com fenotipagem de alto rendimento para aplicação na GWAS (Morosini et al., 2017; Sun et al., 2021; Yassue et al., 2021). Neste sentido, objetivou-se no presente estudo identificar marcas e/ou regiões genômicas em milho tropical associadas às respostas do sistema radicular obtidos por aquisição e processamento de imagens em condições contrastantes de disponibilidade hídrica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material genético e condução experimental

Utilizou-se um painel público de diversidade genética de milho tropical, constituído por 360 linhagens endogâmicas, proveniente do Laboratório de Melhoramento de Plantas Alógamas do Departamento de Genética da USP/ESALQ, cedidas à UFC. As informações dessas linhagens foram previamente descritas (Yassue et al., 2021).

Por tratar-se de estudo envolvendo condições de suprimento ideal de água (WW) e de déficit hídrico (WS), anteriormente aos experimentos principais, conduziu-se um experimento piloto com cinco linhagens (escolhidas aleatoriamente dentro do painel) com cinco níveis de disponibilidade de água: 100% de água disponível (AD), 80% de AD; 70% de AD; 50% de AD e 40% de AD. Por meio de regressão se estabeleceu uma curva de retenção de água para obtenção da capacidade de campo e delimitou a quantidade de água a ser disponibilizada via irrigação. Com isso, determinaram-se os pontos de WW e WS, sendo as lâminas de 80% de AD e a de 40% de AD, respectivamente.

A caracterização fenotípica dos sistemas radiculares do painel de diversidade foi realizada a partir de dois experimentos cultivados na Área Experimental do Setor de Agricultura da UFC, Campus do Pici, Fortaleza-CE, a 3°44'24.27" de latitude S e 38°34'29.93" de longitude O. A condução experimental consistiu ao longo de dois anos (2020 e 2021), sempre no segundo semestre de cada ano, período em que se assemelha muito a região semiárida. Na Figura 1 estão sumarizadas as principais informações climáticas observadas para os períodos em que foram conduzidos os experimentos.

Os experimentos principais foram conduzidos sob WW e WS no delineamento em blocos aumentados parcialmente repetidos (*augment p-rep designs*), com duas repetições espaçadas no tempo (Williams et al., 2011). Foram considerados cinco tratamentos comuns (*checks*), escolhidos aleatoriamente dentro do painel e distribuídas em cada sub-bloco, somando-se assim, 15 tratamentos *checks* dentro de cada nível de disponibilidade de água.

A semeadura foi realizada em vasos plásticos de 2000 cm³, contendo substrato na proporção 3:1 (arisco: húmus de minhoca). Em cada vaso, foram semeadas duas sementes a 3 cm de profundidade. O desbaste foi efetuado quando no estágio V2 (duas folhas completamente expandidas), deixando apenas uma plântula por vaso, constituindo assim uma parcela. Neste mesmo estágio fenológico, também se iniciou a imposição do déficit hídrico, que permaneceu até o estágio V6, quando se procedeu a colheita. As adubações de plantio e

cobertura foram baseadas na análise química do substrato, conforme recomendações para a cultura, de modo a isolar o estresse nutricional durante a condução experimental.

Por ser conduzido em campo aberto, a irrigação de cada experimento foi realizada de forma manual e diária. Assim, usou-se 15 amostras aleatórias para calcular a média do peso diário dos vasos dentro de cada nível de suprimento de água. Posteriormente, era calculada a diferença entre os pesos atual e total em cada nível para reposição do volume de água respectivo. Para cada estágio vegetativo, foi obtido o peso médio das plantas, a fim de subtrair juntamente com o peso atual e este não interferir no volume de água a ser repostos.

2.2 Caracterização fenotípica do sistema radicular

Por ocasião da colheita, o sistema radicular foi separado da parte aérea, o substrato removido e as raízes lavadas cuidadosamente com água. Posteriormente, foram armazenadas em potes plásticos com capacidade de 1L, contendo uma solução de água e álcool 70% (proporção 3:1, respectivamente) para conservação, até o período de obtenção das imagens. Estas, por sua vez, foram realizadas sobre uma estrutura permanente com formato de cubo, para uniformizar a distância da câmera até as raízes (objeto/alvo). Para melhor distribuição de luzes em seu interior, fixou-se LEDs de 12W, em todas as direções, para evitar a formação de sombras. Após a obtenção das imagens, as raízes foram levadas e mantidas em secadora de circulação forçada de ar, a uma temperatura de 40 °C, por 4 dias, tempo necessário para constância de peso. Após este período, foi determinada a massa seca das raízes (DMR) em balança de precisão com quatro casas decimais.

As imagens capturadas pelo dispositivo, em formato JPEG com 12 pixels por mm, foram processadas no *software* RhizoVision Explorer® e obtidos os caracteres comprimento das raízes laterais (LRL) e axiais (ARL), área superficial das raízes laterais (LRS) e axiais (ARS), volume das raízes axiais (ARV) e laterais (LRV). O nível de limite da imagem foi ajustado uma a uma definido com 5 pixels para todas as imagens. Considerou-se um limiar de diâmetro de raiz de 0,50 mm para distinguir raízes axiais de raízes laterais. Assim, foram considerados raízes laterais fragmentos com diâmetro igual ou inferior a 0,50 mm, e para as raízes axiais, fragmentos com diâmetro maior que 0,50 mm (Trachsel et al., 2009).

2.3 Correlações e modelo genético-estatístico para obtenção dos D-BLUPs

A princípio, coeficientes de correlação fenotípica de *Pearson* foram usados para identificar relações entre os caracteres do sistema radicular dentro de WW e WS. As análises foram realizadas pelo pacote *Hmisc* no R (Harrell, 2022).

De posse dos caracteres menos relacionados, equações de modelos lineares mistos foram usadas para analisar os dados fenotípicos das linhagens do painel. Para isso, realizou-se a eliminação dos *outliers* seguida da normalização dos dados pelo pacote *bestNormalize* e da verificação de pressupostos da distribuição normal via teste de Shapiro e *qqplots* com o auxílio do *software* R (R CORE TEAM, 2018). Em seguida, foi ajustado um modelo misto para obter o melhor preditor linear não-viesado (BLUP) pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) para cada caráter estudado em WW e WS, pelo pacote *sommer* (Covarrubias-Pazarán, 2016). Essas análises foram realizadas usando o seguinte modelo:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}_1\mathbf{t} + \mathbf{X}_2\mathbf{l} + \mathbf{Z}_1\mathbf{b} + \mathbf{Z}_2\mathbf{g} + \mathbf{Z}_3\mathbf{ge} + \boldsymbol{\varepsilon} \quad \text{Eq. 1}$$

em que, \mathbf{y} é o vetor de valores fenotípicos das linhagens e testemunhas; \mathbf{X}_1 e \mathbf{X}_2 são matrizes de incidência para \mathbf{t} e \mathbf{l} de efeito fixo; \mathbf{Z}_1 , \mathbf{Z}_2 e \mathbf{Z}_3 são matrizes de incidência para \mathbf{b} , \mathbf{g} e \mathbf{ge} de efeito aleatório; \mathbf{t} é o vetor de efeito fixo de suprimento de água (WW e WS); \mathbf{l} é o vetor de efeito fixo de repetição dentro de disponibilidade de água; \mathbf{b} é o vetor de efeito aleatório de bloco, em que $b \sim N(0, I\sigma_b^2)$; \mathbf{g} é o vetor de efeito aleatório de genótipo, em que $g \sim N(0, I\sigma_g^2)$; \mathbf{ge} é o vetor de efeito aleatório da interação genótipo por disponibilidade de água, em que $i \sim N(0, I\sigma_{ge}^2)$; $\boldsymbol{\varepsilon}$ é o erro experimental, em que $\boldsymbol{\varepsilon} \sim N(0, \sigma_e^2)$, obtida usando uma matriz diagonal estruturada para possibilitar estimar duas variâncias residuais, uma para cada nível de suprimento de água (σ_{eWW}^2 e σ_{eWS}^2). A significância dos efeitos fixos foi avaliada pelo teste de *Wald* e os efeitos aleatórios via Teste de Razão de Verossimilhança (LRT).

Os componentes de variância foram usados para estimar as herdabilidades (h^2) pelo seguinte estimador:

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \frac{\sigma_{ge}^2}{s} + \frac{(\sigma_{eWW}^2 + \sigma_{eWS}^2)}{rs}} \quad \text{Eq. 2}$$

em que h^2 refere-se à herdabilidade de entrada média; σ_g^2 é a variância genotípica entre as linhagens, σ_{ge}^2 é a variância da interação genótipo-ambiente; σ_{eWW}^2 e σ_{eWS}^2 são os componentes de variância ambiental em WW e WS; s são os níveis WW e WS; e r é o número de repetições em cada experimento.

A confiabilidade de seleção para cada linhagem [$R^2(\hat{\alpha}_l)$], foi obtida pela seguinte expressão (Gorjanc et al., 2015):

$$R^2(\hat{\alpha}_l) = 1 - \frac{\text{Var}(\alpha_i - \hat{\alpha}_i)}{\text{Var}(\alpha_i)} \quad \text{Eq. 3}$$

em que, $Var(\alpha_i - \hat{\alpha}_i)$ é a variância do erro de predição (PEV) da linhagem i e $Var(\alpha_i)$ é a variância genotípica do caráter.

Depois, estimou-se a confiabilidade média envolvendo todas as linhagens e, por meio da raiz quadrada desta, a acurácia (acc). Os BLUPs de-regressados (dBLUPs) foram obtidos pela razão entre os BLUPs de cada linhagem em WW e WS e suas respectivas confiabilidades médias. Após essas análises, restaram 313 linhagens das 360 do painel. Os dBLUPs dessas linhagens em WW e WS foram usados nas análises de associação.

2.4 Genotipagem e controle de qualidade

As linhagens pertencentes ao painel foram genotipadas pela plataforma Affymetrix® Axiom Maize Genotyping Array containing 18.413 SNPs (Unterseer et al., 2014). Primeiro, como controle de qualidade padrão, marcadores com *Call Rate* (CR) < 90% e não bialélico foram removidos. Depois, dados perdidos foram imputados com o algoritmo Beagle 5.0 (Browning et al., 2018). Posteriormente, *loci* heterozigotos em pelo menos um indivíduo, foram removidos do conjunto de dados. Marcadores com *Minor Allele Frequency* (MAF) menor que 5% também foram descartados. Adicionalmente, pares de marcadores em desequilíbrio de ligação (LD) com a correlação das frequências alélicas ao quadrado (r^2) > 0,99 também foram eliminados. Todos esses procedimentos foram realizados com o auxílio do pacote *SNPRelate* (Zheng et al., 2012) e ao final foram retidos 12.704 SNPs para serem usados nas análises de associação.

2.5 Estrutura populacional e decaimento de LD

Com a finalidade de minimizar um possível viés ocasionado pela estrutura populacional, procedeu-se a análise de componentes principais (PCA) com base na matriz de relacionamento genômico aditivo entre as 313 linhagens restantes conforme VanRaden (2008) pelo pacote *SNPRelate* (Zheng et al., 2012). A correção via PCA nas análises de associação foi incorporada automaticamente pelo FarmCPU. Assim, usou-se de 2 a 6 componentes e o melhor ajuste ao modelo foi baseado nas observações dos *qqplots*.

O número mais provável de grupos dentro do painel foi realizado conforme Yassue et al. (2021) por ser tratar do mesmo painel de diversidade. Da mesma forma as estimativas de LD entre cada par de SNP dentro dos cromossomos, foram calculadas por meio do r^2 entre todos os SNP dentro de uma distância inferior a 1 Mbp e os valores foram plotados em relação à distância do par de bases para obter o decaimento de LD por cromossomo. Esse

procedimento foi realizado com todos os SNPs retidos dos procedimentos de controle de qualidade.

2.6 Análises de associação

A GWAS foi conduzida para cada caráter sob as condições de WW e WS pelo método da Unificação de Probabilidade Circulante de Modelo Fixo e Aleatório (FarmCPU) no (Liu et al., 2016). Usou-se a função *FarmCPU.P.Threshold* para obter o *p-threshold*, específico para cada caráter via processo de simulação com 100 permutações. Posteriormente, o ponto de corte foi obtido pela razão entre o *p-threshold* e o número de marcadores usados.

Em seguida, foram obtidos os p-valores (significância), MAF e os efeitos médios de substituição alélica (ASE) para cada SNP significativamente associado, designados a partir de então como potenciais genes candidatos subjacente ao caráter alvo. Foram obtidos ainda o coeficiente de determinação para cada SNP significativo (R_{SNP}^2) baseado em ASE e MAF em equações descritas em Da et al. (2014). Na sequência, foram estabelecidas regressões lineares múltiplas para cada caráter usando os SNPs significativos como variáveis preditoras e assim obtido o quanto que as marcas influenciaram na expressão daquele caráter (R_{TOT}^2). Os gráficos de Manhattan e *qqplots* foram obtidos pelo pacote *CMplot* (Yin, 2020) e os Diagramas de Venn pelo pacote *VennDiagram* (Chenn, 2018), também no *software R*.

2.7 Anotação de genes

Foi realizado um mapeamento de associação de genes candidatos para os caracteres com SNP significativos. Utilizou-se o banco de dados MaizeGDB, bem como suas informações funcionais vinculados a cada SNP com base no genoma de referência B73 RefGen_v4. Após a delimitação da região a ser considerada, foram apontados os possíveis genes candidatos que flanqueiam cada marcador em questão. Os genes candidatos associados a cada caráter, foi determinado por anotação dentro de uma janela deslizante de 50 kb conforme Yassue et al. (2021) ao redor de cada um dos SNPs significativos.

3 RESULTADOS

3.1 Análises fenotípicas

Dentre os sete caracteres fenotípicos avaliados nas condições de WW e WS (Figura 2a e 2b, respectivamente), todos apresentaram coeficientes de correlação significativos, independentemente do nível de suprimento de água, com estimativas de baixa a elevada magnitude.

As correlações de alta magnitude igual ou superior a 0,95 foram detectadas entre os caracteres de raiz LRL \times LRV, LRL \times LRS, LRV \times LRS, ARV \times ARS e ARS \times ARL tanto em WW, como também em WS. Coeficientes de elevada magnitude ($> 0,90$) exprimem quase que associações perfeitas entre alguns caracteres tanto em WW como em WS. Neste sentido, alguns deles foram descartados para as análises seguintes, permanecendo apenas DMR, ARL, LRL e LRV.

As análises conjuntas revelaram efeito significativo para praticamente todas as fontes de variação (Tabela 1), com exceção para o efeito da interação genótipos \times níveis de suprimento de água em dois dos quatro caracteres. Houve variação entre as repetições avaliadas no tempo e também entre os blocos experimentais.

Os componentes de variância apresentaram um padrão semelhante para todos os caracteres, com certa predominância da variância residual para o ambiente de suprimento ideal de água, seguido daquele de baixa disponibilidade. O componente da variância genotípica variou de 0,1 a 0,14 e o da interação genótipos \times ambientes foi próximo a zero para todos os caracteres. Isso resultou em coeficientes de herdabilidade intermediários, variando de 0,46 a 0,52, mas com acurácias de elevada magnitude. As médias revelam que as plantas produziram no geral, mais raízes laterais que axiais.

3.2 Análises de associação

Um total de 12.704 SNPs foram usados para a análise de GWAS para os quatro caracteres de raiz de milho, sob condições de WW e WS. Foram identificados SNPs significativos em praticamente todo o cariótipo do milho, com exceção dos cromossomos 6 e 7 (Figuras 3a e 3b). O limite para associações significativas entre marcador/caráter variou de 5,23 a 10,77 (Tabela 2). Ademais, foram encontrados 23 SNPs significativos, sendo estes, para todos os caracteres avaliados nas duas condições de suprimento hídrico. Destes, 16 SNPs para a condição de WW, 11 para a condição de WS e 4 comuns a ambas condições (Figura 4c).

Foram identificados 5 e 6 SNPs influenciando o caráter DMR em WW e WS, respectivamente (Figuras 4a e 4b; Tabela 2). Para esse caráter, além de dois marcadores em comum encontrados em associação em ambas as condições (Tabela 2), um mesmo marcador estava presente em outro caráter. Para ARL, 7 SNPs foram constatados, sendo 4 para a condição de WW e 3 para WS, dois deles comuns as duas condições de suprimento hídrico. Para LRL, 3 e 2 SNPs foram identificados em WW e WS, respectivamente, um dos SNPs significativos para esse caráter sob WW foi associado também a outros caracteres, por outro lado, os dois SNPs identificados em WS foram associados também a outros caracteres. Finalmente, para LRV, 5 e 3 SNPs foram identificados em WW e WS, respectivamente, em que dois destes, um em WW e outro em WS foram verificados também em associação com outros caracteres do sistema radicular.

Os *qqplots* revelaram, no geral, bom ajuste dos dados ao modelo usado nas análises de associação em todos os caracteres, tanto em WW como WS (Figuras 3c a 3j). As proporções da variância fenotípica explicadas pelos SNPs significativos variaram de 13 a 23% (Tabela 2) para WW e de 0,09 a 15% para WS. Cerca de 23% dos SNPs favoráveis para DMR foram sob WW.

3.3 Genes candidatos e anotações funcionais

Dentre os genes candidatos identificados via GWAS (Tabela 2), dois destes significativamente associados ao DMR foram simultaneamente detectados em WW e WS: um presente no cromossomo 1 (*Zm00001d029577*), está envolvido na produção de conjugados de ácido indol-3-acético (AIA), a auxina amido sintetase, o outro situado no cromossomo 2 (*Zm00001d007849*) é associado a codificação de uma proteína contendo domínio de homologia de Pleckstrin (PH). Exclusivos a esse caráter sob condições WW, identificou-se o gene *Zm00001d029826* situado no cromossomo 1 envolvido em interações proteína-proteína. No cromossomo 2, o modelo genético *Zm00001d001979* codifica a enzima UDP-arabinopiranos mutases. O gene *Zm00001d024755* no cromossomo 10 codifica tirosina-proteína quinase. Ainda nesse nível de suprimento hídrico, em ARL, identificou-se os genes *Zm00001d006704*, no cromossomo 2 pertencente ao grupo de proteínas de ligação de RNA; *Zm00001d041063* no cromossomo 3 codifica a serina/treonina-proteína quinase; *Zm00001d015515* no cromossomo 5 atua como fator de transcrição WRKY; *Zm00001d044725* no cromossomo 9 é uma proteína hipotética. Já em LRL, os genes identificados, um situado no cromossomo 2 (*Zm00001d007445*) atua com fotorreceptor de luz azul; *Zm00001d049657* no cromossomo 4 codifica uma das enzimas envolvidas no

metabolismo de espécies reativas de oxigênio; *Zm00001d009059* no cromossomo 8 está envolvido em interações proteína-proteína. Por fim, os genes envolvidos em LRV: um (*Zm00001d031420*) no cromossomo 1 contendo P-loop (P-loop NTPase) desencadeia uma resposta por hidrólise, usando a hidrolase de trifosfato nucleosídeo; *Zm00001d006372* no cromossomo 2 codifica o fator de despolimerização da actina (ADF2); *Zm00001d018349* no cromossomo 5 codifica uma proteína chaperona, que é um membro da chaperonina contendo o complexo TCP1 (*Tailless Complex Polypeptide 1*). E o último (*Zm00001d048291*) no cromossomo 9, é um importante fator de edição de RNA organelar múltiplo (MORF8).

Dentre os sete SNPs significativos identificados apenas na condição WS, um no cromossomo 3 (*Zm00001d044307*) é caracterizado como uma proteína associada a glicerofosfolina aciltransferase 1 (GPCAT). Um gene (*Zm00001d051193*), no cromossomo 4, é envolvido no transporte de metal-nicotianamina YSL7. Mais um, no cromossomo 10 (*Zm00001d026293*), codifica a 4-aminobutirato transaminase. Um outro no cromossomo 2 (*Zm00001d004856*), codifica proteínas relacionadas à autofagia (Atg13). Outro situado no cromossomo 8, está dentro do modelo genético *Zm00001d008281* que codifica uma proteína do tipo Bola. Os modelos genéticos *Zm00001d052911* e *Zm00001d018088*, situados nos cromossomos 4 e 5 respectivamente, mediam interações proteína-proteína.

4 DISCUSSÃO

4.1 Respostas fenotípicas de caracteres relacionados ao sistema radicular sob condições WW e WS

Independentemente da disponibilidade de água, houve correlações positivas e de alta magnitude ($> 0,90$) entre os diferentes caracteres de raiz nas duas condições de suprimento de água, indicando que possuem mecanismos de respostas fisiológicas semelhantes entre os diferentes caracteres, conseqüentemente deve haver marcas significativas em associação comum entre esses caracteres (Zaidi et al., 2016). Devido a isso, caracteres menos dependentes foram usados para as análises seguintes.

O efeito significativo para suprimento de água mostra que as lâminas de irrigação utilizadas no presente estudo foram suficientemente contrastantes para todos os caracteres. O efeito significativo das linhagens reflete em variabilidade genética em todos os caracteres avaliados no painel de milho tropical. Esses resultados são semelhantes aos observados por Guo et al. (2020). Contudo, o efeito da interação atesta que houve respostas diferenciadas das linhagens nos níveis de suprimento hídrico para os caracteres LRL e LRV, revelando ter forte plasticidade fenotípica e que o nível de água aplicado teve influência positiva sobre a expressão desses caracteres. As raízes laterais desempenham um papel fundamental na aquisição de nutrientes e água do solo. São mais eficientes na captação desses recursos, pois possuem menor diâmetro e com isso tendem a estabelecer maior superfície de contato com elementos presentes na rizosfera (DoVale et al., 2013).

Herdabilidade intermediárias, como as verificadas nesse estudo, associadas a acurácias elevadas refletem aumento do poder de detecção de SNPs, como pressupõe Brachi et al. (2011) em que, caracteres com maior herdabilidade permitem a identificação de verdadeiras associações entre um marcador e um gene putativo. A alta acurácia nas estimativas de herdabilidade, verificado em todos os caracteres, evidenciam que os valores estimados estão próximos do real e que os fatores como, ambientes e número de repetições contribuíram para o incremento da acurácia.

4.2 Análise de associação e genes candidatos do sistema radicular sob condições WW e WS

O desenvolvimento do sistema radicular é comandado por muitos genes (Pace et al., 2015; Xiao et al., 2017), mas ainda há poucos estudos associativos relacionados a seus caracteres, especialmente, em situações de déficit hídrico. Nesse estudo, foram detectados

SNPs associados ao mesmo caráter em diferentes níveis de suprimento de água. Verificou-se também marcas significativas que coincidiram para dois ou mais caracteres. Gene com efeito pleiotrópico para caracteres do sistema radicular de milho também foram relatados por Wu et al., (2022), co-localizado com número de raízes, largura da arquitetura da raiz, largura máxima e mediana.

O gene candidato *Zm00001d029577*, identificado em ambas as condições suprimento hídrico e associado ao DMR, está envolvido na produção de conjugados de ácido indol-3-acético (AIA). As enzimas de conjugação de auxina GH3, também denominada como ácido indol-3-acético amido sintetase, ajuda a manter a homeostase do AIA (Staswick et al., 2005). Nas plantas, o gradiente de auxina controla o alongamento das células, de modo que concentrações mais baixas, estimulam o crescimento do sistema radicular. Esse gradiente mínimo de auxina na raiz depende da atividade da enzima GH3.17, que atua especificamente no tecido coifa das raízes laterais (Di Mambro et al., 2019). Esse gene pode ter efeito pleiotrópico, pois a síntese de amido está fortemente relacionada ao alongamento das raízes, por consequência, incremento de massa seca.

Outros genes encontrados associados significativamente ao DMR nas condições WW foram: o modelo de gene *Zm00001d029826*, contendo proteínas de domínio do complexo 1, envolvidas em interações proteína:proteína. O gene candidato *Zm00001d001979* que codifica uma enzima pertencente à família de proteínas glicosiladas reversíveis (RGPs), conhecida como UDP-arabinopiranosose mutases, que catalisam a formação de UDP-L-arabinofuranose (UDP-Araf) a partir de UDP-Larabinopiranosose (UDP-Arap). Esta interconversão é essencial para o estabelecimento da parede celular e desenvolvimento da planta (Rautengarten et al., 2011). O gene *Zm00001d007849*, identificado também em condições WS, codifica proteínas contendo domínio de homologia de Pleckstrin (PH), que atuam dentro de redes de sinalização de proteínas, interagindo com membranas para regular os processos de tráfego celular, como transporte de metal, respostas de defesa, tráfego pós-Golgi e formação de placa celular. As células vegetais dependem de domínios como este, que interagem com lipídios para garantir o tráfego e transporte celular adequado, respostas de defesa e localização de proteínas (Agorio et al., 2017; Allen et al., 2022). E o gene *Zm00001d024755*, que é associado à função de transdução de sinal, a tirosina-proteína quinase (PTK), que catalisa a fosforilação da proteína tirosina em plantas. Elangovan et al. (2020) também verificaram expressão de PTK em sistemas radiculares. Neste último estudo, a maioria das PTKs mostraram alto nível de expressão em tecidos radiculares durante o

desenvolvimento normal e apenas algumas (PTK11, PTK14 e PTK16) regulados positivamente sob estresse hídrico em raízes.

O *Zm00001d006704* associado ao caráter ARL em WW, foi também verificado em WS em associação para o mesmo caráter e a outros dois (LRL e LRV). Esse modelo de gene pertence à família de motivos de reconhecimento de RNA/domínio de ligação de RNA/domínio de ribonucleoproteína (RRM/RBD/RNP), que é o maior grupo de proteínas de ligação de RNA (Jacobs & Kück, 2011). Mais três genes associados ao ARL sob condições WW foram encontrados: o *Zm00001d041063* que codifica a proteína Serina/treonina-proteína quinase, esse modelo de gene foi relatado em Schneider et al., (2022) é responsável por controlar a angulação das raízes em milho. O gene *Zm00001d015515*, identificado também sob condições de WS para esse mesmo caráter e em DMR, atua como fator de transcrição WRKY, uma das mais importantes superfamílias envolvidas na resposta ao estresse biótico e abióticos, e em processos de desenvolvimento em plantas (Eulgem et al., 2000). Em milho, as proteínas WRKY foram expressas como fatores de transcrição responsivos ao estresse e condicionando tolerância à seca (Zhang, et al., 2017). Essas proteínas, ligam-se à sequência de consenso de nucleotídeos conservada (C/T)TGAC(T/C) de genes alvo para regular a expressão gênica (Eulgem et al., 2000). Já o gene *Zm00001d044725*, é caracterizado como uma proteína hipotética.

O gene *Zm00001d007445* associado ao caráter LRL, como também em LRV sob WW, atua com fotorreceptor de luz azul (FKF1-flavin-binding kelch repeat f-box1), e são cruciais para a regulação do relógio circadiano e tempo de floração (Liu et al., 2018). Provavelmente, o estágio fenológico em que as plantas foram avaliadas favoreceram a expressão de genes como este, que controlam o florescimento. Isto porque, no estágio fenológico V6, há o alongamento da parte aérea a uma velocidade muito rápida e o pendão inicia seu processo de formação. Em contrapartida, o desenvolvimento do sistema radicular tende a se estabilizar (Fancelli & Dourado Neto, 2004).

Dentre os outros dois genes associados ao caráter LRL em WW, um modelo de gene (*Zm00001d049657*) codifica enzimas envolvidas no metabolismo de espécies reativas de oxigênio (glutathione S-transferase-GST26) (Li et al., 2020). E outro modelo genético *Zm00001d009059*, codifica proteínas da família ARM. Em *Arabidopsis* as proteínas pertencentes a essa família promovem o crescimento lateral das raízes, (Sharma & Pandey, 2016), corroborando ao encontrado neste estudo, em que sob condições ideais de suprimento hídrico, essa proteína pode ter relação ao aumento de LRL em milho. Visto que, o maior

comprimento de raízes laterais e axiais gera maior eficiência na captação de nutrientes do solo (DoVale et al., 2013) em função da absorção de água.

Para o LRV em WW foi identificado cinco SNPs significativos. O gene *Zm00001d031420*, que desencadeia resposta por hidrólise usando a hidrolase de trifosfato nucleosídeo contendo P-loop (P-loop NTPase), que atua como geradora de sinal e interruptor regulador em sistemas de defesa de plantas (Ferruz; Noske & Höcker, 2021). O gene *Zm00001d006372*, codifica o fator de despolimerização da actina (ADF2), proteína com expressão no pendão, antera e pólen de milho (Huang et al., 2020). O gene *Zm00001d007445* já mencionado anteriormente em LRL. O gene *Zm00001d018349* codifica uma proteína chaperona que é um membro da chaperonina contendo o complexo TCP1 (*Tailless Complex Polypeptide 1*) (CCT), também conhecido como o complexo TCP1 (TRiC). Em *Arabidopsis thaliana*, o complexo prefoldin (PFDc), que é uma chaperona, identificado em humanos como PFDc-TRiC/CCT, é necessário para a germinação das sementes, para retardar a floração ou para responder ao alto estresse salino ou à baixa temperatura (Blanco-Touriñán et al., 2021). O gene *Zm00001d048291*, importante fator de edição de RNA organelar múltiplo (MORF8), proteína localizada nas mitocôndrias, é necessária para a edição de RNA nos sítios mitocondriais e plastidiais em plantas (Takenaka et al., 2012).

Dentre os SNPs significativos identificados no presente estudo, alguns estão relacionados com funções exclusivamente pertinentes à resposta de tolerância ao déficit hídrico. Genes expressos em WS foram detectados em todos os caracteres de raízes de milho. Dentre os seis associados ao DMR, dois deles (*Zm00001d029577* e *Zm00001d007849*) também estavam envolvidos em WW para o mesmo caráter e um outro (*Zm00001d015515*) foi identificado tanto em WW, como também em WS para ARL. Já os outros sob WS para o caráter DMR, um (*Zm00001d044307*) é caracterizado como uma proteína associada a glicerofosfolina aciltransferase 1 (GPCAT), que contribui para a manutenção da homeostase da fosfatidilcolina (PC) e pode ter funções na transferência de grupos acil modificados na posição *sn* - 2 de PC para a posição *sn* - 1 desta molécula em células vegetais (Glab et al., 2016). Em *Arabidopsis* a atividade da enzima GPCAT foi constatada em preparações microssomais de tecidos vegetais, como em raízes e brotos (Lager et al., 2015). Outro (*Zm00001d051193*) é envolvido no transporte de metal-nicotianamina YSL7, gene conhecido na versão 3 do genoma de referência B73 (RefGen_v3) como *GRMZM2G368398*, foi identificado em mapeamento de loci de caracteres quantitativos (QTL) para eficiência no uso de nitrogênio (NUE) em milho (Liu et al., 2012; Silva et al., 2018). A expressão de genes em associação ao metabolismo de nitrogênio está relacionada também a absorção de água

(Pestsova et al., 2016). Esses autores relataram sobre a importância de as plantas possuírem plasticidade de desenvolvimento em resposta ao nitrato, que é a fonte mais importante de nitrogênio para as plantas. Isso é explicado pelo fato de o nitrato ser altamente solúvel em água e movimentar-se no solo, principalmente, por fluxo de massa. O último gene (*Zm00001d026293*) codifica a 4-aminobutirato transaminase e participa da conversão do 4-aminobutnoato em succinato semialdeído na via de degradação do glutamato. Essa enzima está associada a vias ativadas por estresse e fotorrespiração (Simpson, 2009).

Em relação ao ARL, os três genes (*Zm00001d004856*, *Zm00001d006704*, *Zm00001d015515*) identificados sob condições de WS, apenas o primeiro estava em associação exclusiva a este caráter. Esse modelo de gene codifica proteína 13 relacionada à autofagia (ATG13). A ATG desempenha um papel essencial na detecção de sinais do estado nutricional, desenvolvimento da planta e estresses ambientais (Wang & Hou, 2022).

Para LRL em WS, os dois genes encontrados (*Zm00001d006704* e *Zm00001d008281*), apenas o segundo expressou-se exclusivamente a esse caráter. Esse gene codifica uma proteína do tipo Bola, originalmente identificada em *Escherichia coli* como uma proteína que é induzida durante o período de estresse em estádios iniciais do crescimento e pode ter um papel geral na resposta ao estresse (Aldea et al., 1988).

Por fim, para o caráter LRV em WS, dentre os genes encontrados (*Zm00001d006704*, *Zm00001d052911* e *Zm00001d018088*), o primeiro já relatado anteriormente em associação a outros caracteres e nos diferentes níveis de AD, já os dois últimos genes mediam interações proteína-proteína. O modelo genético *Zm00001d052911* contém domínio RWD, encontrado em dedo de zinco do tipo RING, proteínas contendo repetição WD, como EIF-2 quinase 4 (proteína semelhante a GCN2) e helicases semelhantes a DEAD (DEXD) de levedura (Nameki et al., 2004). Já *Zm00001d018088* codifica uma proteína da superfamília semelhante à repetição do tetratricopeptídeo (TPR), que mediam tanto interações proteína-proteína por meio da ligação peptídicos específicos, como também de montagem de complexos multiproteicos. Essas proteínas contendo o domínio TPR fazem parte de complexos proteicos de múltiplas subunidades que funcionam na regulação da transcrição, no transporte, na biossíntese do aparato fotossintético e no enovelamento de proteínas, além de desempenhar diversas funções durante o desenvolvimento da planta e o estresse hídrico (Wei & Han, 2017). Em tomates, por exemplo, os genes da família TPR foram relatados por responder a vários estresses bióticos e abióticos (Zhou et al., 2021).

4.3 Considerações finais

Vários SNPs apresentaram associações significativas para os caracteres relacionados ao sistema radicular de milho tropical, tanto em WW como em WS. Aqueles SNPs em comum associação para mais de um caráter, reforça a hipótese de efeito pleiotrópico, como é o caso do modelo de gene pertencente à família de motivos de reconhecimento de RNA/domínio de ligação de RNA/domínio de ribonucleoproteína (RRM/RBD/RNP), que está envolvido na síntese proteica. Assim, esse gene deve atuar direta ou indiretamente na formação de tecido, o que lhe garante interferir tanto na expressão do comprimento, quanto no volume de raízes, inclusive de diferentes classes de diâmetros.

Outro ponto, é que as regiões ou modelos genéticos detectados reiteram, mesmo sob condições de estresse hídrico, a presença de múltiplos genes de pequenos efeitos, típico de caracteres complexos, responsáveis pela expressão de caracteres do sistema radicular (Yassue et al., 2021). Informações acerca da arquitetura dos caracteres de raiz e a identificação de genes-chave em condições de déficit hídrico é muito valiosa aos programas de melhoramento, pois possibilitam traçar estratégias mais específicas e eficientes de seleção para tal condição, inclusive com SNP-chips de baixa densidade (Cerioli et al., 2021) e personalizados, visando com isso o desenvolvimento de genótipos resilientes (Liu & Qin, 2021).

Estes resultados podem subsidiar ainda programas de melhoramento voltados a obtenção de cultivares tolerantes ao déficit hídrico que objetivam implementar seleção genômica, pesquisas relacionadas a edição genômica (CRISPR), ou ainda dá suporte ao desenvolvimento de tecnologias de genotipagem como KASPTM (*Kompetitive allele specific PCR*), que desempenham um papel importante ao fornecer aos melhoristas dados potenciais para aumentar a produção de grãos em ambientes desafiadores como aqueles encontrados em regiões semiáridas. Assim será possível selecionar indivíduos com base apenas em marcas significativas obtidas a partir desse estudo em condições experimentais ótimas, sem necessidade de imposição de déficit hídrico com avaliações destrutivas e, com isso, dobrar o controle parental visando aumentar as chances de identificar genótipos potenciais.

5 CONCLUSÃO

Foram identificados 23 SNPs em associação a todos os caracteres do sistema radicular de milho tropical, nas duas condições de suprimento de água, sendo 12 destes expressos somente sob condição de suprimento ideal de água, sete exclusivos a condição de déficit hídrico e quatro associados a caracteres em comuns condições de suprimento hídrico. Esses genes revelam respostas fisiológicas e mecanismos moleculares relacionados à tolerância ao déficit hídrico que podem ser explorados em estudos subsequentes assim como por programas de melhoramento voltados a obtenção de genótipos para essa condição.

REFERÊNCIAS

- ABD ALLAH, A., BADAWEY, S. A., ZAYED, B. A., EL-GOHARY, A. A. The role of root system traits in the drought tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Production**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 621-631, 2010.
- ALDEA, M.; HERNANDEZ-CHICO, C.; DE LA CAMPA, A. G.; KUSHNER, S. R.; AND VICENTE, M. Identification, cloning, and expression of bolA, an ftsZ-dependent morphogene of *Escherichia coli*. **Journal of bacteriology**, [s. l.], v. 170, n. 11, p. 5169-5176, 1988.
- ALLEN, J. R.; WILKINSON, E. G.; STRADER, L. C. Creativity comes from interactions: modules of protein interactions in plants. **The FEBS Journal**, v. 289, n. 6, p. 1492-1514, 2022.
- AGORIO, A.; GIRAUDAT, J.; BIANCHI, M. W.; MARION, J.; ESPAGNE, C.; CASTAINGS, L.; LELIÈVRE, F.; CURIE, C.; THOMINE, S.; MERLOT, S. Phosphatidylinositol 3-phosphate-binding protein AtPH1 controls the localization of the metal transporter NRAMP1 in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 16, p. E3354-E3363, 2017.
- BARBAGALLO, R. P.; OXBOROUGH, K.; PALLETT, K. E.; BAKER, N. R. Rapid, noninvasive screening for perturbations of metabolism and plant growth using chlorophyll fluorescence imaging. **Plant physiology**, v. 132, n. 2, p. 485-493, 2003.
- BENGOUGH, A. G.; MCKENZIE, B. M.; HALLETT, P. D.; VALENTINE, T. A. Root elongation, water stress, and mechanical impedance: A review of limiting stresses and beneficial root tip traits. **Journal of Experimental Botany**, p. 59-68, 2011.
- BLANCO-TOURÍNÁN, N.; ESTEVE-BRUNA, D.; SERRANO-MISLATA, A.; ESQUINAS-ARIZA, R. M.; RESENTINI, F.; FORMENT, J.; CARRASCO-LÓPEZ, C.; NOVELLA-RAUSELL, C.; PALACIOS-ABELLA, A.; CARRASCO, P.; SALINAS, J.; BLÁZQUEZ, M. Á.; ALABADÍ, D. A genetic approach reveals different modes of action of prefoldins. **Plant physiology**, v. 187, n. 3, p. 1534-1550, 2021.
- BRACHI, B.; MORRIS, G. P.; BOREVITZ, Justin O. Genome-wide association studies in plants: the missing heritability is in the field. **Genome biology**, v. 12, n. 10, p. 1-8, 2011.
- CARAZA-HARTER, M. V.; ENDELMAN, J. B. Image-based phenotyping and genetic analysis of potato skin set and color. **Crop Science**, v. 60, n. 1, p. 202-210, 2020.
- CERIOLI, T.; HERNANDEZ, C. O.; ANGIRA, B.; MCCOUCH, S. R.; ROBBINS, K. R.; FAMOSO, A. N. Development and validation of an optimized marker set for genomic selection in southern US rice breeding programs. **The Plant Genome**, p. e20219, 2022.
- COVARRUBIAS-PAZARAN, Giovanni. Genome-assisted prediction of quantitative traits using the R package sommer. **PloS one**, v. 11, n. 6, p. e0156744, 2016.
- COMAS, L. H.; BECKER, S. R.; CRUZ, V. M. V.; BYRNE, P. F.; DIERIG, D. A. Root traits contributing to plant productivity under drought. **Frontiers in Plant Science**, p. 1-16, 2013.

CHENN, H. Generate high-resolution Venn and Euler plots. **VennDiagram package. R Packag**, v. 33, 2018.

DA, Y.; WANG, C.; WANG, S.; HU, G. Mixed model methods for genomic prediction and variance component estimation of additive and dominance effects using SNP markers. **PloS one**, v. 9, n. 1, p. e87666, 2014.

DI MAMBRO, R.; SVOLACCHIA, N.; IOIO, R. D.; PIERDONATI, E.; SALVI, E.; PEDRAZZINI, E.; VITALE, A.; PERILLI, S.; SOZZANI, R.; BENFEY, P. N.; BUSCH, W.; COSTANTINO, P.; SABATINI, S. The lateral root cap acts as an auxin sink that controls meristem size. **Current Biology**, v. 29, n. 7, p. 1199-1205. e4, 2019.

DOVALE, J. C.; MAIA, C.; FRITSCHÉ-NETO, R.; MIRANDA, G. V.; CAVATTE, P. C. Genetic responses of traits relationship to components of nitrogen and phosphorus use efficiency in maize. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, p. 31-38, 2013.

DOVALE, J. C.; FRITSCHÉ-NETO, R. Genetic control of traits associated with phosphorus use efficiency in maize by REML/BLUP. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 554-563, 2013.

EULGEM, T.; RUSHTON, P. J.; ROBATZEK, S.; SOMSSICH, I. E. The WRKY superfamily of plant transcription factors. **Trends in plant science**, v. 5, n. 5, p. 199-206, 2000.

ELANGOVAN, A.; DALAL, M.; KRISHNA, G. K.; DEVIKA, S., KUMAR, R. R.; SATHEE, L.; CHINNUSAMY, V. Characterization of atypical protein tyrosine kinase (PTK) genes and their role in abiotic stress response in rice. **Plants**, v. 9, n. 5, p. 664, 2020.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. (Org.). **Produção de milho**. 2. ed. Guaíba., 2004. v. 1. 360p.

FERRUZ, N.; NOSKE, J.; HÖCKER, B. Protlego: A Python package for the analysis and design of chimeric proteins. **Bioinformatics**, v. 37, n. 19, p. 3182-3189, 2021.

FRITSCHÉ-NETO, R.; DO VALE, J. C.; LANES, É. C. M. D.; RESENDE, M. D. V. D.; MIRANDA, G. V. Genome-wide selection for tropical maize root traits under conditions of nitrogen and phosphorus stress. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 34, p. 389-395, 2012.

FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. **Fenômica**: como a fenotipagem de próxima geração está revolucionando o melhoramento de plantas. Editora UFV, Viçosa-MG, 2016, 216 p.

GAO, Y.; LYNCH, J. P. Reduced crown root number improves water acquisition under water deficit stress in maize (*Zea mays* L.). **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 15, p. 4545-4557, 2016.

GORJANC, G.; BIJMA, P.; HICKEY, J. M. Reliability of pedigree-based and genomic evaluations in selected populations. **Genetics Selection Evolution**, v. 47, n. 1, p. 1-15, 2015.

GUO, J., LI, C., ZHANG, X., LI, Y., ZHANG, D., SHI, Y.; SONG, Y.; LI, Y.; YANG, D.; WANG, T. Transcriptome and GWAS analyses reveal candidate gene for seminal root length of maize seedlings under drought stress. **Plant Science**, v. 292, p. 110380, 2020.

GLAB, B.; BEGANOVIC, M.; ANAOKAR, S.; HAO, M. S.; RASMUSSEN, A. G.; PATTON-VOGT, J.; BANAS, A.; STYMNE, S.; LAGER, I. Cloning of glycerophosphocholine acyltransferase (GPCAT) from fungi and plants: a novel enzyme in phosphatidylcholine synthesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 48, p. 25066-25076, 2016.

HAWKINS, E.; FRICKER, T. E.; CHALLINOR, A. J.; FERRO, C. A.; HO, C. K., OSBORNE, T. M. Increasing influence of heat stress on French maize yields from the 1960s to the 2030s. **Global change biology**, p. 937-947, 2013.

HARRELL, J.R, F. E. Package 'hmisc'. **CRAN2018**, v. 2022, p. 1-455, 2022. Disponível em: <https://hbiostat.org/R/Hmisc/>.

HUANG, J.; SUN, W.; REN, J.; YANG, R.; FAN, J.; LI, Y.; WANG, X.; JOSEPH, S.; DENG, W.; ZHAI, L. Genome-wide identification and characterization of actin-depolymerizing factor (ADF) family genes and expression analysis of responses to various stresses in *Zea mays* L. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 5, p. 1751, 2020.

JACOBS, J.; KÜCK, U. Function of chloroplast RNA-binding proteins. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 68, n. 5, p. 735-748, 2011.

LAGER, I.; GLAB, B.; ERIKSSON, L.; CHEN, G.; BANAS, A.; STYMNE, S. Novel reactions in acyl editing of phosphatidylcholine by lysophosphatidylcholine transacylase (LPCT) and acyl-CoA: glycerophosphocholine acyltransferase (GPCAT) activities in microsomal preparations of plant tissues. **Planta**, v. 241, n. 2, p. 347-358, 2015.

LI, Y., WANG, X., LI, Y., ZHANG, Y., GOU, Z., QI, X., & ZHANG, J. Transcriptomic analysis revealed the common and divergent responses of maize seedling leaves to cold and heat stresses. **Genes**, v. 11, n. 8, p. 881, 2020.

LIU, R.; ZHANG, H.; ZHAO, P.; ZHANG, Z.; LIANG, W.; TIAN, Z.; ZHENG, Y. Mining of candidate maize genes for nitrogen use efficiency by integrating gene expression and QTL data. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 30, n. 2, p. 297-308, 2012.

LIU, X.; HUANG, M.; FAN, B.; BUCKLER, E. S.; ZHANG, Z. Iterative usage of fixed and random effect models for powerful and efficient genome-wide association studies. **PLoS genetics**, v. 12, n. 2, p. e1005767, 2016.

LIU, L.; WU, Y.; LIAO, Z.; XIONG, J.; WU, F.; XU, J.; LAN, H.; TANG, Q.; ZHOU, S.; LIU, Y.; LU, Y. Evolutionary conservation and functional divergence of the LFK gene family play important roles in the photoperiodic flowering pathway of land plants. **Heredity**, v. 120, n. 4, p. 310-328, 2018.

LIU, S.; QIN, F. Genetic dissection of maize drought tolerance for trait improvement. **Molecular Breeding**, v. 41, n. 2, p. 1-13, 2021.

MIQUELONI, D. P.; RESENDE, R. M. S.; DE ASSIS, G. M. L. Seleção genômica ampla (GWS) e associação genômica ampla (GWAS) no melhoramento de forrageiras: abordagem conceitual, genética quantitativa e aplicações. **Embrapa Gado de Corte**, 2019.

MOROSINI, J. S.; MENDONÇA, L. F.; LYRA, D. H.; GALLI, G.; VIDOTTI, M. S. GUO, R. Association mapping for traits related to nitrogen use efficiency in tropical maize lines under field conditions. **Plant and Soil**, v. 421, n. 1, p. 453-463, 2017.

NAMEKI, N., YONEYAMA, M., KOSHIBA, S., TOCHIO, N., INOUE, M., SEKI, E., ... & YOKOYAMA, S. Solution structure of the RWD domain of the mouse GCN2 protein. **Protein Science**, v. 13, n. 8, p. 2089-2100, 2004.

PACE, J.; GARDNER, C.; ROMAY, C.; GANAPATHYSUBRAMANIAN, B.; LÜBBERSTEDT, T. Genome-wide association analysis of seedling root development in maize (*Zea mays* L.). **BMC genomics**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2015.

PESTSOVA, E.; LICHTBLAU, D.; WEVER, C.; PRESTERL, T.; BOLDUAN, T.; OUZUNOVA, M.; WESTHOFF, P. QTL mapping of seedling root traits associated with nitrogen and water use efficiency in maize. **Euphytica**, v. 209, n. 3, p. 585-602, 2016.

RAUTENGARTEN, C.; EBERT, B.; HERTER, T.; PETZOLD, C.J.; ISHII, T.; MUKHOPADHYAY, A.; USADEL, B.; SCHELLER, H. V. The interconversion of UDP-arabinopyranose and UDP-arabinofuranose is indispensable for plant development in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 23, n. 4, p. 1373-1390, 2011.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing Vienna. R Foundation for Statistical Computing Vienna, 2018.

RODRIGUEZ, M.; SCINTU, A.; POSADINU, C. M.; XU, Y.; NGUYEN, C. V.; SUN, H.; BITOCCHI, E.; BELLUCCI, E.; PAPA, R.; FEI, Z.; GIOVANNONI, J.J.; RAU, D.; ATTENE, G. GWAS Based on RNA-Seq SNPs and High-Throughput Phenotyping Combined with Climatic Data Highlights the Reservoir of Valuable Genetic Diversity in Regional Tomato Landraces. **Genes**, v. 11, n. 11, p. 1387, 2020.

SILVA, I. T.; ABBARAJU, H. K. R.; FALLIS, L. P.; LIU, H.; LEE, M.; DHUGGA, K. S. Biochemical and genetic analyses of N metabolism in maize testcross seedlings: 2. Roots. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 131, n. 6, p. 1191-1205, 2018.

SIMPSON, J. P. **Overexpression and role of gamma-aminobutyrate transaminase and glyoxylate reductase1 in Arabidopsis**. 2009. Tese de Doutorado. University of Guelph.

SUN, X.; REN, W.; WANG, P.; CHEN, F.; YUAN, L.; PAN, Q.; MI, G. Evaluation of maize root growth and genome-wide association studies of root traits in response to low nitrogen supply at seedling emergence. **The Crop Journal**, v. 9, n. 4, p. 794-804, 2021.

SCHNEIDER, H. M.; LOR, V. S. N.; HANLON, M. T.; PERKINS, A.; KAEPLER, S. M.; BORKAR, A. N.; BHOSALE, R.; ZHANG, X.; RODRIGUEZ, J.; BUCKSCH, A.; BENNETT, M. J.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Root angle in maize influences nitrogen capture and is regulated by calcineurin B-like protein (CBL)-interacting serine/threonine-protein kinase 15 (ZmCIPK15). **Plant, Cell & Environment**, v. 45, n. 3, p. 837-853, 2022.

STASWICK, P. E.; SERBAN, B.; ROWE, M.; TIRYAKI, I.; MALDONADO, M. T.; MALDONADO, M.C.; SUZA, W. Characterization of an *Arabidopsis* enzyme family that conjugates amino acids to indole-3-acetic acid. **The Plant Cell**, v. 17, n. 2, p. 616-627, 2005.

SHAO, H. B.; CHU, L. Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C. X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes rendus biologiques**, v. 331, n. 3, p. 215-225, 2008.

SHARMA, M.; PANDEY, G. K. Expansion and function of repeat domain proteins during stress and development in plants. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 1218, 2016.

TAKENAKA, M.; ZEHRMANN, A.; VERBITSKIY, D.; KUGELMANN, M.; HÄRTEL, B.; BRENNICKE, A. Multiple organellar RNA editing factor (MORF) family proteins are required for RNA editing in mitochondria and plastids of plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 13, p. 5104-5109, 2012.

TRACHSEL, S.; KAEPLER, S.M.; BROWN, K.M.; LYNCH, J.P. Maize root growth angles become steeper under low N conditions. **F. Crop. Res.** 140: 18–31, 2013.

UNTERSEER, S.; BAUER, E.; HABERER, G.; SEIDEL, M.; KNAAK, C.; OUZUNOVA, M.; Meitinger, T.; Strom, T. M.; Fritas, R.; Pausch, H.; Bertani, C.; Davassi, A.; Mayer, K. F.; SCHÖN, C. C. A powerful tool for genome analysis in maize: development and evaluation of the high density 600 k SNP genotyping array. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2014.

VANRADEN, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of dairy science**, v. 91, n. 11, p. 4414-4423, 2008.

WANG, Q.; HOU, S. The emerging roles of ATG1/ATG13 kinase complex in plants. **Journal of Plant Physiology**, p. 153653, 2022.

WEI, K.; HAN, P. Comparative functional genomics of the TPR gene family in Arabidopsis, rice and maize. **Molecular breeding**, v. 37, n. 12, p. 1-18, 2017.

WU, B.; REN, W.; ZHAO, L.; LI, Q.; SUN, J.; CHEN, F.; PAN, Q. Genome-Wide Association Study of Root System Architecture in Maize. **Genes**, v. 13, n. 2, p. 181, 2022.

WILLIAMS, E.; PIEPHO, H. P.; WHITAKER, D. Augmented p-rep designs. **Biometrical Journal**, v. 53, n. 1, p. 19-27, 2011.

XIAO, Y.; LIU, H.; WU, L.; WARBURTON, M.; YAN, J. Genome-wide Association Studies in Maize: Praise and Stargaze. **Molecular Plant**, v. 10, n. 3, p. 359-374, 2017.

YASSUE, R. M.; CARVALHO, H. F.; GEVARTOSKY, R.; SABADIN, F.; SOUZA, P. H.; BONATELLI, M. L.; AZEVEDO, J. L.; QUECINE, M. C.; FRITSCHÉ-NETO, R. On the genetic architecture in a public tropical maize panel of the symbiosis between corn and plant growth-promoting bacteria aiming to improve plant resilience. **Molecular Breeding**, v. 41, n. 10, p. 1-16, 2021.

YIN, L. CMplot: circle manhattan plot. **CMplot: Circle Manhattan Plot**, 2020.

ZAIDI, P. H.; SEETHARAM, K.; KRISHNA, G.; KRISHNAMURTHY, L.; GAJANAN, S.; BABU, R.; ZERKA, M.; VINAYAN, M. T.; VIVEK, B. S. Genomic regions associated with root traits under drought stress in tropical maize (*Zea mays* L.). **PloS one**, v. 11, n. 10, p. e0164340, 2016.

ZHANG, T.; TAN, D.; ZHANG, L.; ZHANG, X.; HAN, Z. Phylogenetic analysis and drought-responsive expression profiles of the WRKY transcription factor family in maize. **Agri Gene**, v. 3, p. 99-108, 2017.

ZHANG, X.; MI, Y.; MAO, H.; LIU, S.; CHEN, L.; QIN, F. Genetic variation in ZmTIP1 contributes to root hair elongation and drought tolerance in maize. **Plant biotechnology journal**, v. 18, n. 5, p. 1271-1283, 2019.

ZHAN, A.; SCHNEIDER, H.; LYNCH, J. P. Reduced lateral root branching density improves drought tolerance in maize. **Plant physiology**, v. 168, n. 4, p. 1603-1615, 2015.

ZHENG, X.; LEVINE, D.; SHEN, J.; GOGARTEN, S. M.; LAURIE, C.; WEIR, B. S. A high-performance computing toolset for relatedness and principal component analysis of SNP data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 24, p. 3326-3328, 2012.

ZHOU, X.; ZHENG, Y.; CAI, Z.; WANG, X.; LIU, Y.; YU, A.; CHEN, X.; LIU, J.; ZHANG, Y.; WANG, A. Identification and Functional Analysis of Tomato TPR Gene Family. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 2, p. 758, 2021.

APÊNDICE A – LISTA DE FIGURAS E TABELAS

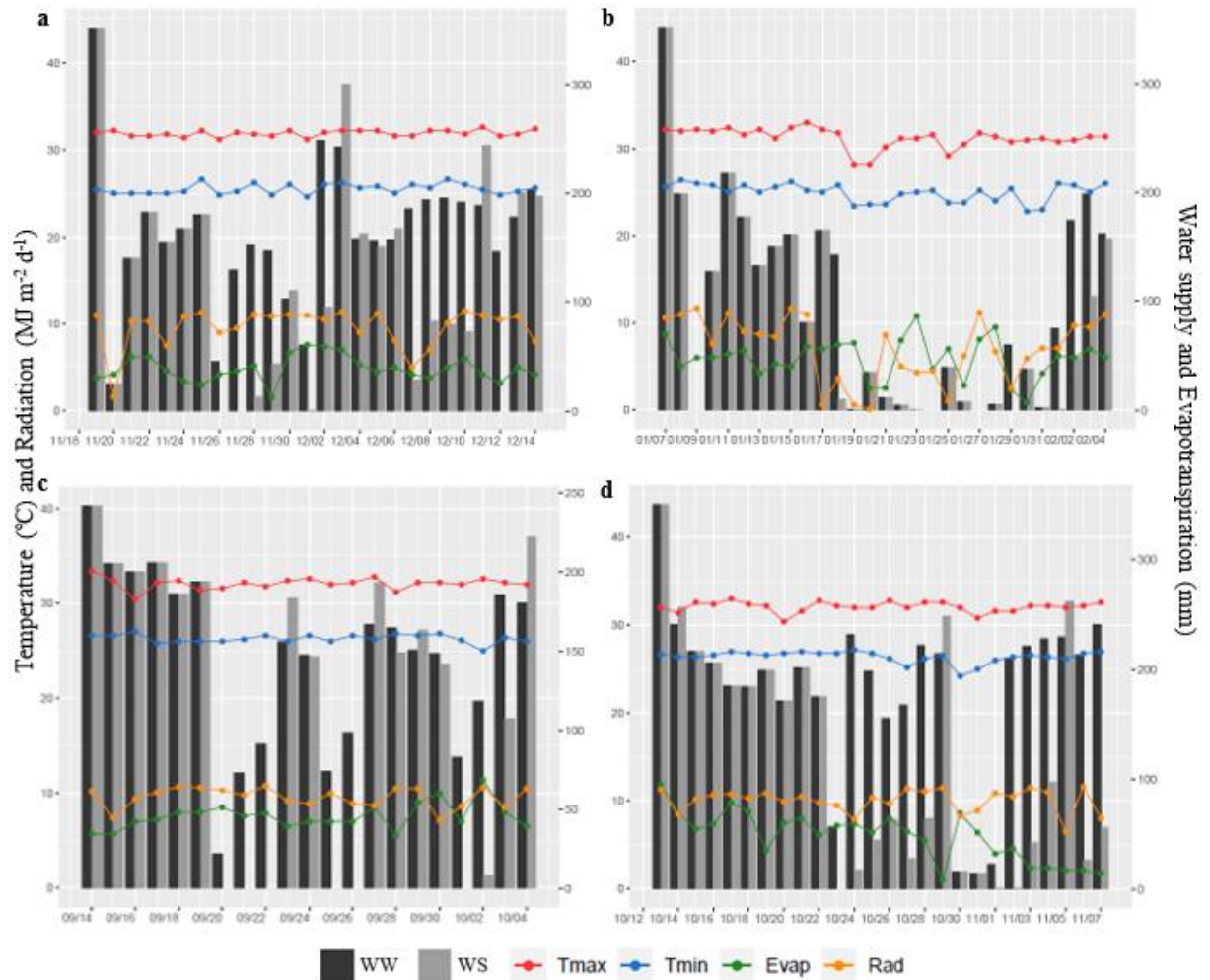


Figura 1. Informações climáticas da área experimental nos períodos em que foram conduzidos os experimentos, 2020, repetição 1 e 2 (a e b, respectivamente) e 2021, repetição 3 e 4 (c e d, respectivamente), no município de Fortaleza, CE.

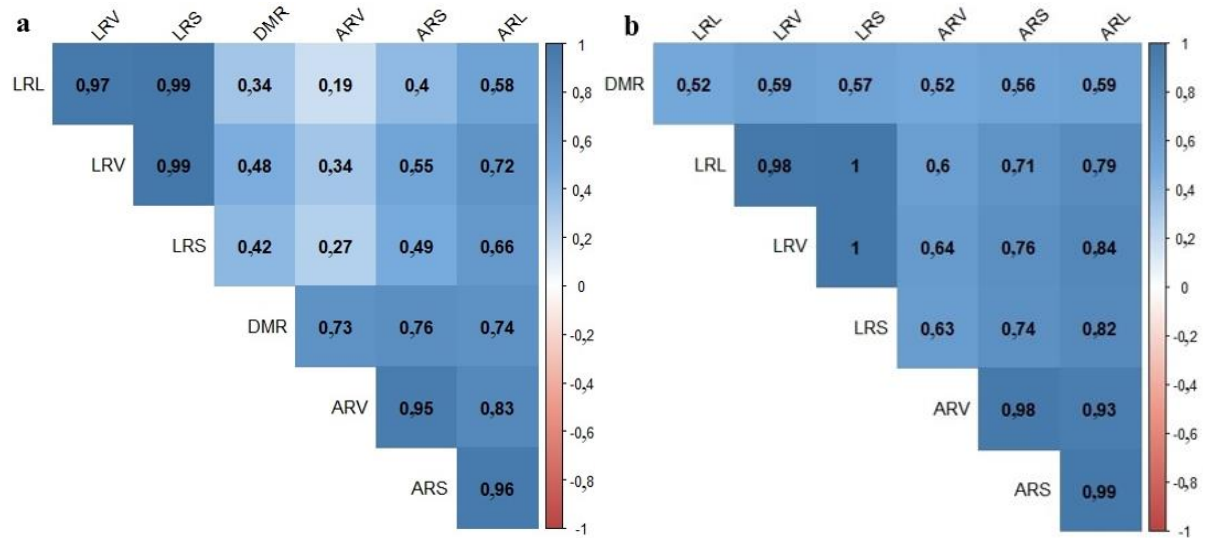


Figura 2. Correlação entre os caracteres matéria seca das raízes (DMR), comprimento das raízes laterais (LRL) e axiais (ARL), área superficial das raízes laterais (LRS) e axiais (ARS), volume das raízes axiais (ARV) e lateral (LRV), em condições de suprimento ideal de água (a) e de déficit hídrico (b).

Tabela 1. Teste de Wald de efeitos fixos, teste de razão de verossimilhança (LRT) de efeitos aleatórios, componentes de variância, herdabilidade e acurácia para DMR (matéria seca de raízes, g), comprimento de raízes axiais (ARL, cm), comprimento de raízes laterais (LRL, cm) e volume de raízes laterais (LRV, cm).

Fonte de variação	DMR	ARL	LRL	LRV
	Teste de Wald			
Nível de água	2525,78***	2527,34***	1511,91***	1319,96***
Nível de água/repetição	561,47***	787,81***	1274,82***	975,95***
	Teste da razão da verossimilhança (LRT)			
Bloco	263,18***	43,59***	191,30***	166,94***
Linhagens	56,17***	79,27***	57,50***	68,14***
Linhagens x Nível de água	2,38 ^{NS}	0,27 ^{NS}	7,46**	5,53*
	Componentes de variância			
σ_g^2	0,10	0,13	0,12	0,14
$\sigma_{g \times e}^2$	0,02	0,01	0,03	0,03
σ_{eLW}^2	0,58	0,53	0,40	0,46
σ_{eLW}^2	0,31	0,35	0,49	0,49
	Herdabilidade e acurácia			
h^2	0,46	0,53	0,49	0,52
acc	0,99	0,99	0,99	0,99
	Médias ajustadas			
	0,92	3630,51	4560,88	5794,61

*, **, ***: significativo ao nível de probabilidade 0,05, 0,01 e 0,001 (pelo teste de Wald ou LRT), respectivamente. ^{NS} não-significativo.

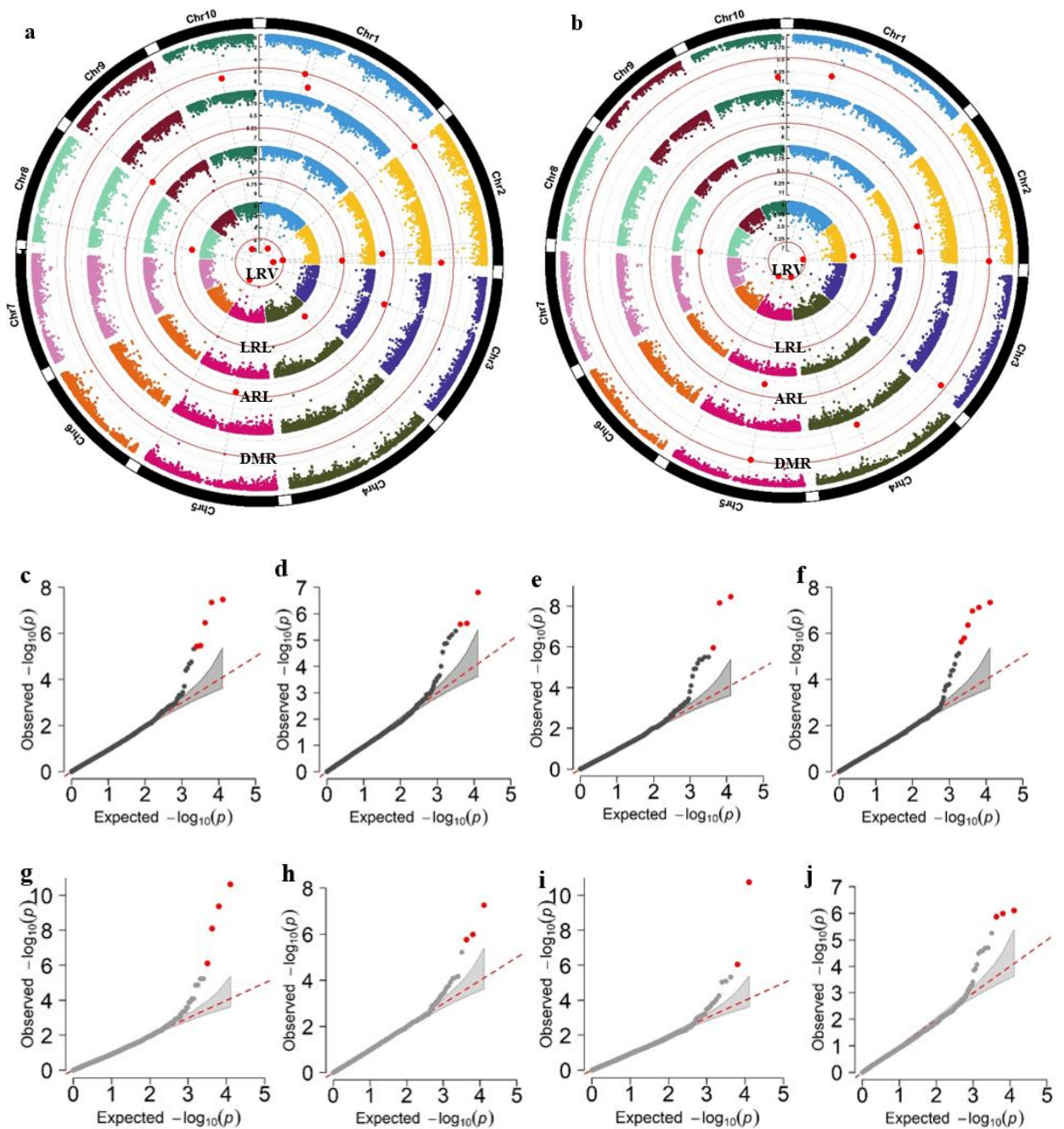


Figura 3. SNPs significativos encontrados via análises de GWAS. Gráficos circular (círculos concêntricos) de Manhattan das análises de associação dos caracteres DMR, ARL, LRL, LRV nas condições de WW (a) e WS (b). As linhas contínuas em vermelho indicam o *threshold* para seu respectivo caráter. Os SNPs significativos (acima das linhas) foram marcados em vermelho. Gráficos quantil-quantil dos caracteres supramencionados sob condições WW (c, d, e, f) e WS (g, h, i, j), respectivamente.

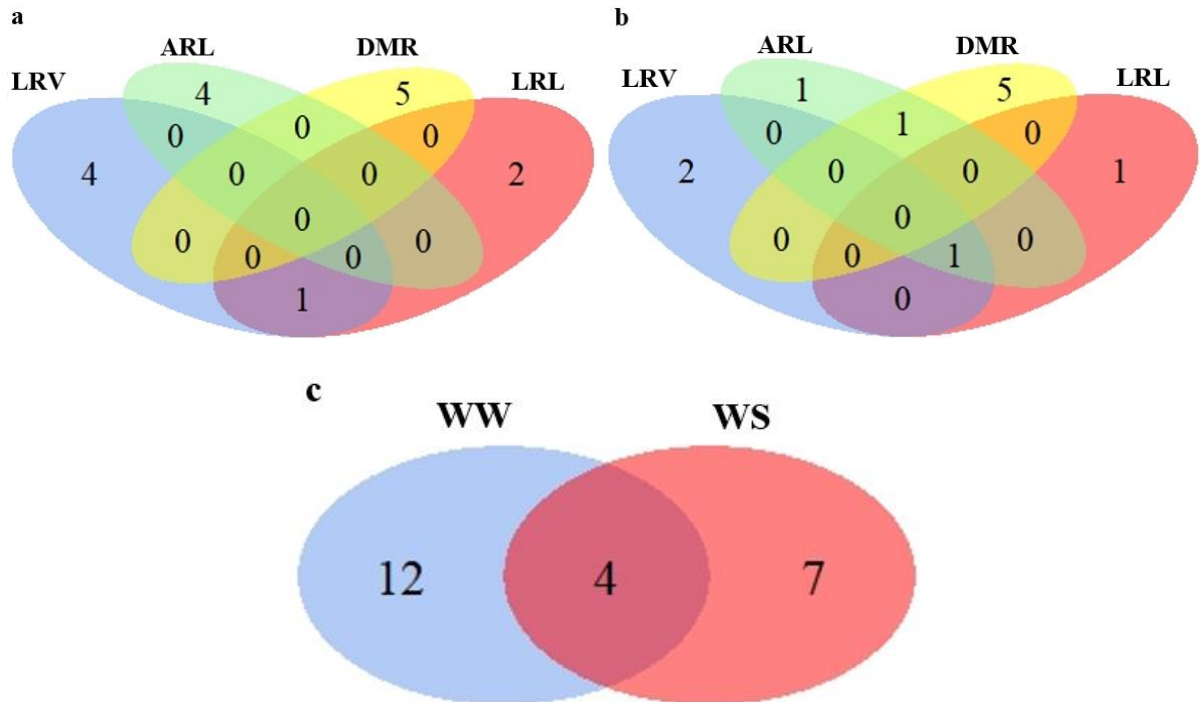


Figura 4. Diagramas de Venn com o número de SNPs significativos associados aos caracteres do sistema radicular em WW (a), WS (b) e em comum as duas condições (c).

Tabela 2. Marcador, cromossomo (Chrm), posição física (posi), p-valor, *minor allele frequency* (MAF), efeito de substituição alélica (ASE), proporção da variância fenotípica explicada pelo SNP (R_{SNP}^2), soma da proporção da variância fenotípica explicada pelos SNPs (R_{TOT}^2) e anotação de genes candidatos detectados pela análise GWAS para caracteres do sistema radicular em WW e WS.

Caráter	AD	Marcador	Chrm	Posi (bp)	$-\log_{10}(p\text{-valor})$	MAF	ASE	R_{SNP}^2	R_{TOT}^2	Anotação putativa
DMR	WW	Zm00001d029577	1	77,399,621	5,47	0,27	-0,056	0,0001	0,23	Auxina amido sintetase1
		Zm00001d029826	1	89,009,155	7,48	0,31	0,081	0,0016		Proteína de domínio do complexo 1
		Zm00001d001979	2	3,825,522	5,45	0,21	-0,068	0,0009		Arabinopiranosose mutases (UDP)
		Zm00001d007849	2	240,877,262	7,35	0,16	-0,106	0,0016		Domínio de homologia de Pleckstrin (PH)
		Zm00001d024755	10	86,465,342	6,47	0,50	0,064	0,0009		Tirosina-proteína quinase (PTK)
	WS	Zm00001d029577	1	77,399,621	8,12	0,27	-0,072	0,0009	0,13	Auxina amido sintetase1
		Zm00001d007849	2	240,877,262	5,25	0,16	-0,087	0,0009		Domínio de homologia de Pleckstrin (PH)
		Zm00001d044307	3	224,912,787	6,13	0,13	0,086	0,0009		Glicerofosfolina aciltransferase 1 (GPCAT)
		Zm00001d051193	4	147,980,988	10,64	0,38	0,090	0,0025		Metal-nicotianamina YSL7
		Zm00001d015515	5	95,169,378	5,23	0,23	0,072	0,0009		Fator de transcrição WRKY
Zm00001d026293	10	143,078,503	9,40	0,13	0,121	0,0016	4-aminobutirato transaminase			
ARL	WW	Zm00001d006704	2	214,797,318	6,82	0,12	0,100	0,0005	0,13	RRM/RBD/RNP
		Zm00001d041063	3	94,098,224	5,64	0,39	0,066	0,0005		Serina/treonina-proteína quinase (KIPK)
		Zm00001d015515	5	95,169,378	5,61	0,23	0,084	0,0011		Fator de transcrição WRKY
	Zm00001d044725	9	470,079	5,34	0,28	0,067	0,0005	Proteína hipotética		
	WS	Zm00001d004856	2	145,043,505	5,77	0,42	0,066	0,0005	0,12	Autofagia (ATG13)
		Zm00001d006704	2	214,797,318	5,99	0,12	0,090	0,0005		RRM/RBD/RNP
Zm00001d015515	5	95,169,378	7,27	0,23	0,095	0,0011	Fator de transcrição WRKY			
LRL	WW	Zm00001d007445	2	231,911,200	5,96	0,22	0,071	0,0005	0,21	Fotorreceptor de luz azul FKF1
		Zm00001d049657	4	38,930,062	8,17	0,16	0,098	0,0009		Glutaciona S-transferase (GST26)
		Zm00001d009059	8	33,761,274	8,48	0,36	-0,087	0,0009		Proteínas de repetição ARM
	WS	Zm00001d006704	2	214,797,318	10,77	0,12	0,129	0,0016	0,15	RRM/RBD/RNP
		Zm00001d008281	8	3,860,280	6,07	0,10	0,216	0,0081		Proteína do tipo Bola
LRV	WW	Zm00001d031420	1	189,574,857	6,99	0,31	0,073	0,0004	0,16	Hidrolase de trifosfato nucleosídeo contendo P-loop
		Zm00001d006372	2	205,995,198	5,80	0,26	0,066	0,0004		Fator de despolimerização da actina (ADF2)
		Zm00001d007445	2	231,911,200	7,35	0,22	0,088	0,0009		Fotorreceptor de luz azul FKF1
		Zm00001d018349	5	219,011,528	6,37	0,14	-0,113	0,0009		Chaperonina contendo o complexo TCP1
		Zm00001d048291	9	153,996,836	7,14	0,31	0,075	0,0004		Fator de edição de RNA organelar múltiplo (MORF8)
	WS	Zm00001d006704	2	214,797,318	10,50	0,12	0,140	0,0004	0,09	RRM/RBD/RNP
		Zm00001d052911	4	204,485,263	5,99	0,42	0,068	0,0004		Proteína contendo domínio RWD
		Zm00001d018088	5	213,989,084	5,88	0,41	-0,074	0,0009		Repetição de tetratricopeptídeo (TPR)