

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIRÓZ”

Andreza Jardelino da Silva

Giovanni Galli

FENOTIPAGEM DE LARGA ESCALA AJUSTADA POR CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL  
DE ALTA RESOLUÇÃO

PIRACICABA  
Novembro de 2017

# FENOTIPAGEM DE LARGA ESCALA AJUSTADA POR CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL DE ALTA RESOLUÇÃO

Andreza Jardelino da Silva<sup>1</sup> e Giovanni Galli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do departamento de Estatística, Escola Superior “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

<sup>2</sup>Doutorando do departamento de Genética, Escola Superior “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

## **MOTIVAÇÃO**

O potencial produtivo é definido como a produtividade de uma cultivar quando cultivada em um ambiente no qual é adaptada, sem restrição de nutrientes ou água, e com controle de pragas, doenças, acamamento e outros fatores estressantes. Ele é determinado por fatores ambientais, como a quantidade de energia luminosa disponível, e genéticos, como a eficiência na captura de luz, eficiência na conversão da energia capturada em biomassa, e proporção da biomassa realocada em grãos. A energia luminosa disponível não pode ser alterada, e a realocação de biomassa para grãos está próxima ao máximo teórico. Assim, a seleção para potencial produtivo é dependente da variabilidade genética quanto a eficiência na captura da luz, e da capacidade de acumulação de biomassa por meio da maior eficiência fotossintética e menor perda por respiração (LONG et al., 2006). Dessa forma, podemos representar a produtividade de grãos de forma simples como uma resposta a esta combinação de fatores.

A identificação indireta da produtividade de grãos é dificultada por dois fatores principais. O primeiro está relacionado a difícil mensuração dos componentes envolvidos. O segundo fator, é devido a dependência de fatores microambientais, em que estão envolvidos, alguns caracteres determinantes da eficiência da captura de luz (desenvolvimento, fechamento, longevidade, tamanho, arquitetura do dossel) e o acúmulo de biomassa (taxa fotossintética e respiração). Existe grande potencial para resolução do primeiro problema com o uso de imagens aéreas e índices espectrais/termois (WHITE et al., 2012; ARAUS; CAIRNS, 2014). Entretanto, como no melhoramento é necessária a avaliação extensiva de grande número de genótipos, são necessários experimentos extensos, o que torna ainda mais difícil, o controle das variações ambientais, agravando neste caso, o segundo problema (ARAUS; CAIRNS, 2014).

O grande desafio da fenômica é lidar adequadamente com as variações não controláveis, de forma que, os ruídos não escondam a variação genética. Neste contexto, existe grande potencial na combinação entre fenotipagem de larga escala e componentes ambientais coordenadores do desenvolvimento de plantas. Recentemente, o *envirotyping* – caracterização ambiental fina - ganhou status de terceira “tipagem”, tendo, entretanto, sido pouco utilizado em decorrência do custo elevado dos equipamentos para sua aplicação (XU, 2016). Assim, esse trabalho será desenvolvido com o intuito de avaliar o efeito da incorporação de fatores ambientais nos estudos de fenômica. Especificamente, tem-se o intuito de desenvolver uma plataforma de *envirotyping* de baixo custo; verificar o efeito da correção de fatores ambientais em caracteres avaliados convencionalmente e com plataformas de alto rendimento; e identificar componentes relacionados a produtividade, por meio remoto, de forma rápida e acurada.

## **MATERIAIS E METODOLOGIA**

### **Material vegetal e condução experimental**

Serão utilizados 780 híbridos simples de milho tropical. As avaliações serão realizadas durante a safra de dois anos agrícolas (2018 e 2019) em locais edafoclimaticamente distintos (Piracicaba-SP e Anhembi-SP), totalizando quatro experimentos. Estes serão conduzidos no esquema de blocos incompletos com 39 blocos constituídos por tratamentos regulares e testemunhas comerciais de qualidade agronômica reconhecida. Os genótipos serão avaliados para produtividade de grãos (PG), a qual será inferida a partir da produção da parcela.

### **Caracterização ambiental fina**

Propomos o uso de estações meteorológicas de baixo custo, em cada bloco, para mensuração de fatores ambientais temporais que potencialmente influenciam no desenvolvimento das plantas, e na estimação dos índices espectrais/termais. A estação será composta por um minicomputador (*Raspberry Pi Zero*), o qual, é capaz de controlar sensores para mensuração de temperatura e umidade do ar e do solo, teor de amônia e intensidade de luz. Os componentes sensíveis serão acondicionados

em uma caixa de acrílico para assegurar a integridade dos circuitos elétricos. As mensurações dos fatores ambientais temporais serão coletadas a cada hora.

A caracterização espacial será complementada por meio da identificação de covariáveis estáveis representantes das características do solo. Serão coletadas amostras a cada 20 m de área experimental. Nessa, serão analisados a textura do solo (teor de areia, silte e argila), pH, teor de cálcio, magnésio e alumínio. Os pontos de coleta serão georeferenciados com o uso do sistema RTK (Real time Kinematic). Esses dados serão utilizados para a construção do mapa do solo com o software QGIS. O mapa servirá para correção dos dados obtidos a nível de parcela.

### **Fenotipagem em larga escala**

A avaliação em larga escala será realizada por meio de imagens aéreas, as quais, serão coletadas com resolução temporal equivalente às principais fases de desenvolvimento da cultura, sendo elas: V6, V12, VT, R3 e R6. Serão utilizadas as câmeras multiespectral (canais do vermelho, verde e NIR) e termal acopladas a um policoptero (drone). As imagens terão resolução espacial máxima de 1 cm pixel<sup>-1</sup> e sobreposição de 80%. Essas serão processadas no software Agisoft PhotoScan Pro para construção do ortomosaico. A área será georeferenciada por meio do sistema RTK, e o posicionamento das imagens ajustado por meio de marcos localizados nos extremos dos experimentos. O índice espectral *GNDVI* e a temperatura do dossel, serão obtidos para cada parcela com o software QGIS. O índice será utilizado com o intuito de representar os caracteres envolvidos na equação de potencial produtivo. O *GNDVI* é representante do índice de área foliar (IAF), funcionando como indicador de eficiência na interceptação de luz. A temperatura do dossel é uma eficiente forma de representar a assimilação de CO<sub>2</sub>, já que, sob o potencial fotossintético, é amplamente dependente da temperatura do ambiente e do dossel.

### **Análises estatísticas**

#### **Seleção de covariáveis**

As covariáveis ambientais de maior importância serão identificadas por meio da análise de trilha (WRIGHT,1934). As covariáveis serão tratadas como causas para explicar a variável efeito

produtividade de grãos, índice espectral e temperatura do dossel. A análise será realizada com a utilização de duas cadeias (dois modelos causais), uma composta pelas covariáveis temporais, e outra pelas covariáveis estáveis. Os efeitos das variáveis causais serão decompostos em diretos e indiretos, sendo selecionados preferencialmente, aqueles que apresentarem efeito direto de grande magnitude sobre a variável básica. Para cada variável básica (em cada estágio de desenvolvimento), será identificado o conjunto de variáveis ambientais de maior relevância.

### **Análise fenotípica**

Serão avaliados três cenários distintos quanto ao uso das covariáveis ambientais: *i*) análise com todas as covariáveis ambientais, *ii*) análise com covariáveis selecionadas na análise de trilha, e *iii*) análise sem covariáveis. As variáveis respostas, produtividade, índice espectral e temperatura do dossel, serão ajustadas com modelos mistos, seguindo os protocolos de análise conjunta de experimentos para esquema em blocos aumentados com correção baseada em testemunhas. As avaliações fenotípicas de alto rendimento, serão realizadas por estágio fenológico. Casos em que se tenha correção para covariáveis ambientais, essas serão incluídas no modelo como fatores de efeito fixo. Para o índice espectral e temperatura do dossel serão utilizados os valores de covariáveis temporais, coletados no ato da captura de imagens, e para a PG os valores médios (e.g. umidade), máximos e/ou mínimos (e.g. temperatura) de todas as mensurações. Não se tem interesse em obter redução do erro aleatório por meio de manejo ou modificação do esquema experimental, mas sim, obter a redução do resíduo por meio da caracterização dos fatores não controláveis.

### **Estudo da relação entre GNDVI/temperatura do dossel e produtividade**

Com o intuito de verificar o efeito do ajuste baseado em covariáveis ambientais sobre a relação entre índice espectral/temperatura do dossel e a PG, serão construídos modelos de predição baseados em regressão gaussiana, por meio dos mínimos quadrados. A temperatura do dossel e o *GNDVI* (de cada estágio fisiológico avaliado) serão empregados como variáveis explicativas da produtividade de grãos. Assim, serão construídos modelos de predição correspondentes aos cenários previamente mencionados, sendo esses, com variáveis explicativas e respostas corrigidas para todas as covariáveis

ambientais, outro com correção para covariáveis selecionadas e por fim, um sem correção. A capacidade preditiva dos modelos será avaliada por meio da divisão da população em conjuntos de treinamento (80%) e teste (20%), seguida da estimação da correlação de *Pearson* e *Spearman* dos valores preditos com os observados (de cada cenário). O modelo que apresentar maior capacidade preditiva/correlação de ordenamento, é superior.

## CONSIDERAÇÕES

É de conhecimento comum que, frente a fenotipagem e a genotipagem, a determinação dos componentes ambientais têm recebido pouca atenção, sendo estes rigidamente mantidos como uma caixa preta. Com esse trabalho, além dos resultados obtidos para a condição específica avaliada, são abertos precedentes para novos estudos, como caracterização ambiental fina, agricultura de precisão, estudo de interação genótipo × ambiente, construção e controle de ambientes para análises de estresses abióticos, predição fenotípica para ambientes edafoclimaticamente semelhantes, desenvolvimento de modelos de crescimento acurados, estabelecimento de modelos temporais de desenvolvimento vegetal e aferimento da relação comportamental dos materiais em ambientes controlados e não controlados.

As variações locais contribuem para aumento da variância residual, mascarando a variação genética e reduzindo a repetibilidade dos caracteres. Do ponto de vista do melhoramento genético de plantas, tornar-se mais eficiente a seleção por meio da exploração ótima da variação genética, levando a maiores ganhos pelo aumento da acurácia seletiva. Diante do exposto, a metodologia será de grande valia para a fenotipagem em larga escala a campo, buscando soluções para o maior de seus problemas, que é o ruído ambiental. Assim, essa proposta, poderá ser utilizada para iniciativas públicas e privadas, para fins de pesquisa e desenvolvimento tecnológico em diversas áreas do conhecimento.

## REFERÊNCIAS

- ARAUS, José Luis; CAIRNS, Jill E. Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. **Trends in plant science**, v. 19, n. 1, p. 52-61, 2014.
- LONG, Stephen P. et al. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? **Plant, Cell & Environment**, v. 29, n. 3, p. 315-330, 2006.
- WHITE, J. W. et al. Field-based phenomics for plant genetics research. **Field Crops Research**, v. 133, p. 101-112, 2012.
- WRIGHT, Sewall. The method of path coefficients. **The annals of mathematical statistics**, v. 5, n. 3, p. 161-215, 1934.
- XU, Yunbi. Envirotyping for deciphering environmental impacts on crop plants. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 129, n. 4, p. 653-673, 2016.