

KARINE DA COSTA BERNARDINO

**ESTUDO GENÉTICO DOS MECANISMOS PARA EFICIÊNCIA NO USO DE  
FÓSFORO EM LINHAGENS ENDOGÂMICAS RECOMBINANTES DE SORGO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

B523e  
2014 Bernardino, Karine da Costa, 1989-  
ESTUDO GENÉTICO DOS MECANISMOS PARA  
EFICIÊNCIA NO USO DE FÓSFORO EM LINHAGENS  
ENDOGÂMICAS RECOMBINANTES DE SORGO / Karine da  
Costa Bernardino. - Viçosa, MG, 2014.  
72f : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Pedro Crescêncio de Souza Carneiro.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Sorgo -- Adubos e fertilizantes. 2. Plantas -- Efeito  
do fósforo. 3. Solos -- Teor de fósforo. 4. *Sorghum*  
*bicolor*. 5. Deficiência de fósforo. I. Universidade Federal  
de Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Mestrado em  
Genética e Melhoramento. II. Título.

CDD 2. ed. 631.42

KARINE DA COSTA BERNARDINO

**ESTUDO GENÉTICO DOS MECANISMOS PARA EFICIÊNCIA NO USO DE  
FÓSFORO EM LINHAGENS ENDOGÂMICAS RECOMBINANTES DE SORGO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de novembro de 2014.

---

Prof. Dr. José Marcelo Soriano Viana

---

Dr.<sup>a</sup> Maria Marta Pastina

---

Dr. Robert Eugene Schaffert  
(Coorientador)

---

Prof. Dr. Pedro Crescêncio Souza Carneiro  
(Orientador)

Aos meus pais, Cicele e Marco Antônio, pelos conselhos e ajuda em todos os momentos e ao meu namorado e amigo Danilo, por tentar compreender o quão concluir essa etapa era importante para mim.

Dedico.

“A capacidade de sonhar sempre foi o grande segredo daqueles que mudaram o mundo. Os sonhos alimentam a alma e dão asas a inteligência. (...) Os sonhadores mudaram a história da humanidade. Eles fizeram da derrota, o pódio para a vitória; das críticas, o palco, de onde receberam os aplausos. O Mestre dos mestres foi o mais ousado dos sonhadores. Ele fez de homens simples e iletrados, arquitetos da vida (...). Se pensar é o destino do ser humano, continuar sonhando é o seu grande desafio. E isto, é lógico, implica em trajetórias com riscos, em vitórias, com muitas lutas, e não poucos obstáculos pelo caminho (...).” (Augusto Cury)

## AGRADECIMENTOS

A Deus por conduzir meus passos.

À minha família, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos.

A Embrapa Milho Sorgo, na pessoa do seu chefe geral Dr. Antônio Álvaro Corsetti Purcino, por possibilitar que os ensaios fossem conduzidos.

A todos os professores e colegas da Universidade Federal de Viçosa, que me possibilitaram aprender muito mais do que eu imaginei que seria possível.

Ao Dr Schaffert, por sempre acreditar em mim, mesmo quando eu achava que não seria capaz de concretizar mais essa etapa.

Ao Prof. Pedro Crescêncio por permitir que o trabalho de dissertação fosse feito em parceria com a Embrapa Milho e Sorgo.

Ao Dr Jurandir por todas as explicações concedidas.

A Dr<sup>a</sup> Maria Marta, que além de me ajudar muito com o conteúdo estatístico, foi ouvinte e conselheira em diversas circunstâncias.

A todos do Galpão de Melhoramento de Sorgo que muito me ajudaram e ensinaram, e em especial a Camila, Geisiane e Luísa.

E a todos aqueles que não foram citados, mas que de alguma maneira contribuíram para que eu chegasse até aqui.

## **BIOGRAFIA**

Karine da Costa Bernardino, filha de Marco Antônio da Costa Bernardino e de Cicele de Fátima Costa Bernardino, nasceu em 04 de novembro de 1989, em Sete Lagoas, no estado de Minas Gerais, Brasil.

Em dezembro de 2011, formou-se em Ciências Biológicas – Licenciada, pelo Centro Universitário de Sete Lagoas (UNIFEMM), Minas Gerais. Durante a graduação, desenvolveu atividades de estágio na linha de pesquisa de Melhoramento vegetal, na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, Minas Gerais.

Em agosto de 2012, ingressou no curso de Pós Graduação em Genética e Melhoramento da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, submetendo-se á defesa de dissertação em novembro de 2014.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	2
CAPÍTULO I – FENOTIPAGEM DE RILs DE SORGO PARA EFICIÊNCIA NO USO DE FÓSFORO EM CAMPO E SOLUÇÃO NUTRITIVA .....	4
RESUMO .....	5
ABSTRACT .....	6
1 INTRODUÇÃO .....	7
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	10
2.1 Material Genético .....	10
2.2 Fenotipagem em área experimental com baixa disponibilidade de P.....	11
2.2.1 Características avaliadas.....	12
2.2.2 Índices de eficiência de P .....	14
2.2.3 Importância relativa.....	14
2.3 Dados morfológicos do sistema radicular de plântulas .....	15
2.3.1 Características avaliadas.....	16
2.4 Análises estatísticas .....	16
2.4.1 Modelos mistos .....	16
2.4.2 Análise de correlação .....	19
2.4.3 Análise de componentes principais .....	20
2.4.4 Análise de regressão múltipla .....	20
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
3.1 Experimentos em área com baixa disponibilidade de P .....	21
3.1.1 Análise de solo.....	21
3.1.2 Análise estatística para ensaios de campo .....	22
3.1.3 Importância relativa.....	24
3.2 Experimentos em solução nutritiva com baixa disponibilidade de P .....	24
3.2.1 Análise de correlação .....	26
3.2.2 Análise de componentes principais .....	27
3.2.3 Análise de regressão múltipla .....	30
4 CONCLUSÃO .....	32
5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA .....	33
CAPÍTULO II – MAPEAMENTO DE QTLs PARA CARACTERÍSTICAS ASSOCIADAS À EFICIÊNCIA NO USO DE FÓSFORO EM SORGO .....	36
RESUMO .....	37
ABSTRACT .....	38
1 INTRODUÇÃO .....	39
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
2.1 Material Genético .....	41
2.2 Características avaliadas .....	42
2.3 Obtenção dos marcadores SNP .....	42
2.4 Modelo estatístico para mapeamento de QTLs.....	44
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4 CONCLUSÕES .....	56
5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA .....	57
CONCLUSÕES GERAIS .....	61

## RESUMO

BERNARDINO, Karine da Costa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Novembro de 2014. **Estudo genético dos mecanismos para eficiência no uso de fósforo em linhagens endogâmicas recombinantes de sorgo.** Orientador: Pedro Crescêncio Souza Carneiro. Coorientadores: Jurandir Vieira de Magalhães e Robert Eugene Schaffert.

Devido à crescente expansão do cultivo de sorgo em solos intemperizados do Cerrado brasileiro, novos estudos vêm sendo desenvolvidos visando à diminuição nos custos de sua produção com aumento da produtividade. Características como baixa disponibilidade e alta fixação de fósforo (P), níveis tóxicos de alumínio nas camadas superficiais e inferiores, baixa fertilidade e baixo pH, são fatores limitantes para o cultivo nos solos desse bioma. Técnicas como calagem, para correção da acidez, ou adubação fosfatada, para aumentar a disponibilidade de fósforo, são muito empregadas na agricultura atual. No entanto, a calagem é economicamente viável somente em camadas superficiais do solo, não sendo efetiva para neutralizar a acidez em camadas mais profundas. Já grande parte do fósforo aplicado na forma de adubo não é absorvida pela planta, devido à rápida conversão do fósforo aplicado de disponível para não disponível. Nesse contexto, o presente trabalho buscou empregar técnicas de melhoramento vegetal, estatística e biologia molecular, para elucidar o papel exercido por alterações na morfologia do sistema radicular na produção de grãos de sorgo sob baixa disponibilidade de P. Para essa finalidade, este estudo buscou: i) estimar a associação entre caracteres do sistema radicular de plântulas crescidas em solução nutritiva com estresse de fósforo com a eficiência de aquisição e utilização de P em linhagens endogâmicas recombinantes (*Recombinant Inbred Lines*, RILs), uma vez que o fósforo é um nutriente imóvel no solo, tendo a planta que desenvolver mecanismos que possibilitem explorar o solo na tentativa de encontrar *pools* de fósforo disponível, como alterações no sistema radicular; ii) identificar QTLs (*Quantitative trait locus*) para eficiência no uso de fósforo, utilizando um grupo de 396 RILs oriundas do cruzamento entre as linhagens BR007B (não eficiente, responsiva a adição de P e sensível ao alumínio tóxico) e SC283 (eficiente, não responsiva a adição de P e tolerante ao alumínio tóxico). Para tanto, as 396 RILs foram genotipadas por meio da técnica de genotipagem por sequenciamento (*Genotyping-by-Sequencing* – GBS) e caracterizadas quanto à morfologia do sistema radicular, em solução nutritiva com estresse de fósforo, e foram fenotipadas quanto à eficiência na aquisição e utilização de P em área experimental com baixa disponibilidade de P, na Embrapa Milho e Sorgo. As análises fenotípicas dos experimentos, realizadas com base em modelos mistos, revelaram a existência

de variabilidade genética para todas as características avaliadas, tanto aquelas relacionadas à eficiência na aquisição, utilização e uso de P, bem como para morfologia do sistema radicular. Além disso, verificou-se a existência de correlação entre as características avaliadas em condições de campo e em solução nutritiva. Para o mapeamento de QTLs associados à eficiência no uso de P, e conseqüentemente, na produção de grãos, foi utilizado o método de mapeamento por múltiplos locos, o qual permitiu a identificação de um total de 57 QTLs para 20 características avaliadas em ensaios de campo e solução nutritiva. Ressalta-se que, apesar da pequena diferença, houve uma maior contribuição de alelos pelo genitor SC283 o qual apresentou maiores médias para produção de grãos, conteúdo de fósforo na planta, conteúdo de fósforo no grão, conteúdo de fósforo total, índice de colheita de fósforo, eficiência de aquisição, eficiência de utilização, eficiência de uso, diâmetro médio, área de superfície 2, massa seca da parte aérea, massa seca total e conteúdo de fósforo da parte aérea, quando comparado ao BR007B. Além disso, não foram encontrados QTLs co-localizados para produção de grãos e morfologia radicular, no entanto houve indícios de que há uma associação entre essas características, uma vez que foram mapeados QTLs para eficiência de aquisição e conteúdo de fósforo na raiz, características essas que, indiretamente, influenciam na produção de grãos e na morfologia do sistema radicular. Ressalta-se que, apesar de não significativos, foram detectados picos na região de homólogos do gene *PSTOL1* no cromossomo 7 do sorgo, gene identificado em arroz que possibilita tolerância ao estresse de fósforo por meio de um maior crescimento das raízes iniciais e que, conseqüentemente, influencia na produção de grãos em condições de baixa disponibilidade do nutriente em questão.

## ABSTRACT

BERNARDINO, Karine da Costa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2014. **Genetic study for phosphorus use efficiency in recombinant inbred lines of sorghum**  
Advisor: Pedro Crescêncio Souza Carneiro. Co-Advisors: Jurandir Vieira de Magalhães and Robert Eugene Schaffert.

Due to the increasing expansion of sorghum cultivation in highly weathered soils of the Brazilian Cerrado, studies have been conducted with the objective to reduce sorghum production costs as well as increase productivity. Features like low P availability and high P fixation, toxic levels of aluminum in the topsoil and subsoil, low fertility and low pH, are limiting factors for growing crops in soils of this biome. Techniques such as liming, for soil acidity correction, or phosphorus fertilization to increase phosphorus availability, are widely adopted in current crop production systems. However, in general, these practices are only economically viable in the surface layer (20-30 cm) of the soil, and not generally effective to neutralize the acidity in deeper layers (30-60 cm) of the soil. A large portion of the phosphorus applied as fertilizer is not absorbed by the plant due to the rapid conversion or fixing of labile phosphorus to non-labile. In this context, the present study sought to employ plant breeding techniques, modern experimental designs and statistics and molecular biology to elucidate the role played by changes in the morphology of the root system in the production of grain sorghum under low availability of P. The objective of this research was: i) estimate the association between characters of the root system seedling in nutrition solution system with low availability of P with the efficiency of acquisition and utilization of P in recombinant inbred lines (RILs), as phosphorus is an immobile nutrient in the soil, the plant has developed root system alterations allowing for greater exploration of the soil in an attempt to find available phosphorus pools; ii) identify QTLs (*Quantitative trait locus*) for phosphorus use efficiency using a group of 396 RILs derived from the cross between BR007B (low efficiency in low P soils, very responsive to the addition of P and sensitive to aluminum toxicity) and SC283 (efficient in low P soils, non-responsive to the addition of P and tolerant to aluminum toxicity). The 396 RILs were genotyped using genotyping by sequencing (GBS) and phenotyped for root system morphology in nutrient solution with P stress and in field conditions with low availability P at Embrapa Maize and Sorghum. Statistical analysis of the experiments using a mixed model revealed the existence of genetic variability for all phenotypic traits, including those related to efficiency of P acquisition, P use as well as morphology of the root system. In addition, there was a correlation between the characteristics

evaluated in field conditions and in nutrient solution. The mapping method using multiple loci, allowed for the identification of a total of 57 QTLs for 20 traits evaluated in field trials and in nutrient solution. It is noteworthy that despite the small difference, there was a greater contribution of alleles by the SC283 parent which had higher averages for grain yield, plant P content, grain P content, total P content, P harvest index, P acquisition efficiency, P utilization efficiency, P use efficiency, average diameter, surface area 2, shoot dry weight, total dry weight and shoot P content, when compared to BR007B. In addition, there are no co-located QTLs for grain yield and root morphology. However, there was evidence of an association between these characteristics, as QTLs for P acquisition efficiency and root P content, characteristics that indirectly influence grain production and morphology of the root system. It is noteworthy that, although not significant, peaks were detected in regions close to the homologues of PSTOL1 gene on chromosome 7 of sorghum, identified gene in rice that confers tolerance to phosphorus stress by further growth of the initial roots and consequently influences grain yield under low nutrient availability in question.

## INTRODUÇÃO GERAL

O sorgo (*Sorghum bicolor*), gramínea originada dos trópicos, pode ser usada para a produção de grãos, forragem, álcool ou açúcar, complementação de rações de aves, bovinos e suínos, confecção de vassouras (SAWAZAKI, 1998), obtenção de lignocelulose, matéria prima para a segunda geração de tecnologia de produção de etanol (DAMASCENO et al., 2010), cogeração de energia elétrica e para a alimentação humana (QUEIROZ et al., 2009). Além disso, tem se destacado como principal alternativa ao grão de milho na denominada “cesta básica de grãos forrageiros” (trigo, triticale, farelo de arroz e fécula de mandioca) (RODRIGUES, 2010).

O cultivo de sorgo granífero, forrageiro, de corte e pastejo, biomassa e sacarino são os que se destacam no território brasileiro, sendo que o cultivo de sorgo no país esta se expandindo para as regiões de solos tropicais, como aquelas encontradas no bioma Cerrado. Nesta região ocorrem fatores limitantes à produção de sorgo, tais como baixa fertilidade, baixo pH, baixa disponibilidade de P, e toxidez por alumínio (SCHAFFERT et al., 2001), decorrentes dos solos fortemente intemperizados do Cerrado, e que se intensificam em condição de estresse hídrico (RODRIGUES, 2010).

No que se refere à baixa disponibilidade de P no solo, nota-se que fatores como baixo pH e níveis tóxicos de Al estão relacionados a essa condição. O baixo pH torna a superfície dos óxidos mais eletropositiva, atraindo ânions como o fosfato e tornando-o indisponível para a planta (NOVAIS & SMITH, 1999). Níveis tóxicos de Al possibilitam a adsorção de  $H_2PO_4^-$  a hidróxidos de Al, ocasionando a precipitação de fosfatos de Al e diminuindo a disponibilidade de P (MALAVOLTA, 2004).

No Brasil, a adubação fosfatada tem sido usada na tentativa de resolver o problema de baixa disponibilidade de P nos solos (SILVA, 2012). Porém, essa tentativa encontra dois entraves. O primeiro refere-se ao fato de que a principal fonte para a produção dos fertilizantes fosfatados, as rochas fosfáticas, é um recurso natural não renovável, que aos poucos está se exaurindo (STAUFFER & SUELEWKI, 2004). Além disso, como os solos do Cerrado brasileiro possuem altas taxas de fixação de P, a adubação fosfatada tem baixa eficiência, aumentando os custos de produção. Atualmente, de 30% a 40% dos custos variáveis de produção são destinados aos fertilizantes (TORRES, 2011). Cabe destacar que, quanto mais acentuado o fenômeno de intemperização nos solos do Cerrado, maior é a fixação

do P ao solo, ou seja, mais rápida é a sua passagem de formas disponíveis para não disponíveis (NOVAIS & SMITH, 1999).

No entanto, tais empecilhos para a expansão dessa cultura sobre os solos do Cerrado brasileiro podem ser contornados, para que uma redução dos custos de produção agrícola e aumento da produtividade em áreas de baixa disponibilidade sejam alcançados. Para tanto, é necessário o trabalho conjunto de técnicas de manejo de solo; de práticas de melhoramento de plantas, como: seleção de cultivares com um sistema radicular profundo - raízes de sorgo podem chegar até 1,5m de profundidade (MAGALHÃES; DURÃES; RODRIGUES, 2009) - e ramificado - o que pode aumentar a aquisição de nutrientes, devido a uma maior exploração do solo; seleção de cultivares eficientes na aquisição de P e seleção de cultivares tolerantes à toxidez ao alumínio, característica condicionada pela exsudação de citrato, o que pode aumentar a solubilização e disponibilização de P para a planta. E ainda, de métodos estatísticos, os quais estão sendo aprimorados à medida que delineamentos experimentais mais complexos são empregados na tentativa de minimizar a influência do meio sobre o experimento; e de práticas de biologia molecular, como o mapeamento de QTLs (*Quantitative trait locus*), o qual possibilita a identificação de regiões do genoma controladoras de características quantitativas, como produção de grãos, a qual é de elevado interesse agroeconômico.

Mediante ao que foi mencionado, este trabalho teve como objetivo fazer um estudo genético para eficiência no uso de fósforo, em sorgo, buscando associação entre marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) e fenótipos relacionados direto ou indiretamente, a essa característica, por meio do mapeamento por múltiplos locos e, por consequência, possibilitar o auxílio no processo de desenvolvimento de cultivares eficientes ao estresse de fósforo. Assim no primeiro capítulo é apresentada uma análise fenotípica tanto dos dados relacionados à eficiência no uso de fósforo no campo, quanto à morfologia do sistema radicular em solução nutritiva, ambos em baixa disponibilidade de fósforo. Enquanto no segundo investiga-se a existência de associação de fundo genético entre modificações do sistema radicular e eficiência no uso de fósforo em condições de baixa disponibilidade de fósforo, por meio do mapeamento de QTLs.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

DAMASCENO, C. M. B.; PARRELLA, R. A. C.; SIMEONE; M. L. P.; SCHAFFERT, R. E.; MAGALHÃES, J. V. Caracterização bioquímica de genótipos de sorgo quanto ao teor de lignina e análise molecular de rotas metabólicas visando à produção de etanol de segunda

geração. In: XVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 2010, Goiânia. **Resumos do XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. Goiania: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 25-33.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M; RODRIGUES, J. A. S. Ecofisiologia. In: RODRIGUES, José Avelino Santos (Ed). **Sistemas de produção: Cultivo de sorgo**. 5. ed. 2009. Disponível em:< <http://www.cnpms.embrapa.br>>. Acesso em: 06 jun. 2010.

MALAVOLTA, E. O fósforo na planta e interações com outros elementos. In: ABDALLA, S. R. S.; YAMADA, T. (Ed). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do fosfato, 2004. p. 14-105.

NOVAIS, R. F.; SMITH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. 1. ed. Viçosa: UFV, 1999.

QUEIROZ, V. A. V.; VIZOTTO, M.; CARVALHO, C. W. P.; MARTINO, H. S. D. **Circular técnica 133: O sorgo na alimentação humana**. 1 ed. 2009. Disponível em:<[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2009/circular/Circ\\_133.pdf](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2009/circular/Circ_133.pdf)>. Acesso em: 04 dez. 2011.

RODRIGUES, J. A. S. **Macroprograma 2 - Competitividade e Sustentabilidade: Desenvolvimento de cultivares de sorgo dos tipos granífero, forrageiro e para bioenergia tolerantes a múltiplos estresses e adaptados às diferentes regiões do País**. 2010.

SAWAZAKI, Eduardo. Sorgo (*Sorghum bicolor*, Moench). In: FAHL, J. I. et al. (Ed). **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. 6. ed. Campinas: Instituto agrônomo; 1998. p. 44-49.

SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C.; PITTA, G.; BAHIA, A.; SANTOS, F. Genetic variability in sorghum for efficiency and responsiveness. In: Developments in Plant and Soil, Symposium. **Plant nutrition: food security and sustainability of agro-ecosystems**. Netherlands: Academics, 2001. p. 72-73.

SILVA, Lidiane Assis. **Fenotipagem para eficiência de fósforo em linhagens de sorgo**. 2012. 83f. Dissertação (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal. 2012.

STAUFFER, M. D.; SULEWSKI, G. Fósforo – Essencial para a vida. In: ABDALLA, S. R. S.; YAMADA, T. (Ed). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do fosfato, 2004. p. 1-10.

TORRES, Marina. Práticas permitem racionalizar uso de fertilizantes e reduzir custos de produção. **Grão em Grão - Jornal Eletrônico da Embrapa Milho e Sorgo**. Sete Lagoas, set. 2011. 5 ano. 31. ed. Disponível em:<[http://www.cnpms.embrapa.br/grao/31\\_edicao/grao\\_em\\_grao\\_materia\\_02.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/grao/31_edicao/grao_em_grao_materia_02.htm)>. Acesso em: 28 out. 2012.

## **CAPÍTULO I**

# **FENOTIPAGEM DE RILS DE SORGO PARA EFICIÊNCIA NO USO DE FÓSFORO EM CAMPO E SOLUÇÃO NUTRITIVA**

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2014

## RESUMO

BERNARDINO, Karine da Costa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Novembro de 2014. **Fenotipagem de RILs de sorgo para eficiência no uso de fósforo em campo e solução nutritiva.** Orientador: Pedro Crescêncio Souza Carneiro. Coorientadores: Jurandir Vieira de Magalhães e Robert Eugene Schaffert.

Devido ao antagonismo entre o atual sistema agrícola brasileiro, se não mundial, e a redução dos recursos naturais necessários para essa atividade econômica, como o fósforo para produção de adubo, vê-se a necessidade da identificação de mecanismos que possibilitem o estabelecimento de uma agricultura cada vez mais sustentável. Logo, este trabalho teve como objetivo identificar características em uma população de 396 RILs de sorgo que possibilitassem uma maior eficiência no uso de fósforo, em condições de baixa disponibilidade desse nutriente, por meio de experimentos em campo e em solução nutritiva com estresse de P. As características avaliadas podem ser divididas em: características relacionadas à produção de grãos e índices de eficiência no uso de fósforo em solo com baixo teor de P disponível, e em características relacionadas à morfologia do sistema radicular, de plântulas de sorgo, coletadas em sistema de solução nutritiva, com baixa disponibilidade desse nutriente. A partir das análises dos dados fenotípicos, por meio de uma abordagem de modelos mistos, análise de correlação, de PCA (componentes principais) e regressão múltipla foi possível mostrar que a eficiência de aquisição teve uma maior importância relativa (0,815), quando comparada à eficiência de utilização (0,185), na eficiência de uso, essa que esta relacionada à produção de grãos. Isto pode sugerir que mecanismos que atuem na aquisição do fósforo disponível no solo, influenciarão de forma mais acentuada na produção de grãos, do que aqueles relacionados à capacidade da planta em converter o fósforo adquirido em matéria seca de grãos. Além disso, a análise de componentes principais permitiu identificar diferenças na morfologia do sistema radicular em condições de baixa disponibilidade de P, como aumento do comprimento e da área de superfície radicular e redução do diâmetro.

**Palavras-chave:** *Sorghum bicolor*, deficiência de fósforo, índices de eficiência no uso de P, morfologia radicular.

## ABSTRACT

BERNARDINO, Karine da Costa, M. Sc., Federal University of Viçosa, November, 2014. **Phenotyping of Sorghum RILs for phosphorus use efficiency in field trials and nutrient solution.** Advisor: Pedro Crescêncio Souza Carneiro. Coorientadores: Jurandir Vieira de Magalhães and Robert Eugene Schaffert.

The antagonism between current agriculture systems in Brazil and globally, and the reduction of natural resources such as phosphorous to produce fertilizer stimulates the need to identify mechanisms that allow for the establishment of an increasingly sustainable agriculture. The objective of this study was to identify characteristics in a population of 396 sorghum RILs that would enable greater efficiency in the use of phosphorus in low nutrient availability environments using both field trials and nutrient solution experiments. The characteristics evaluated were related to grain yield and indexes of P use efficiency in soil with low P availability features, and several related to root system morphology and phosphorus content of sorghum seedling in a nutrient solution system with low availability of this nutrient. Analysis of phenotypic data using a mixed-model approach, correlation analysis, PCA (principal components) and multiple regressions demonstrated that the P acquisition efficiency had a higher relative importance (0.815) for grain production compared to the utilization efficiency (0.185). This suggests that the mechanisms involved in the acquisition of available phosphorus in the soil, have greater influence in grain production than those related to the plant's ability to convert the acquired phosphorus in grain dry matter. Moreover, the principal component analysis identified that increases in root length and root surface area and reduction in root diameter in the root system morphology under low phosphorus availability, were associated with greater P acquisition efficiency.

**Key words:** *Sorghum bicolor*, phosphorus deficiency, rates of P use efficiency, root morphology.

## 1 INTRODUÇÃO

O cultivo de sorgo (*Sorghum bicolor*), gramínea de origem africana, tem passado por considerável expansão no território brasileiro, com mais de 1,3 milhões de hectares destinados ao plantio de sorgo granífero e forrageiro na safra 2011/2012 (APPS, 2012). No entanto, características do solo como baixo pH, toxidez por alumínio (Al), baixa disponibilidade de fósforo (P) e baixa fertilidade em geral, configuram-se como barreiras à expansão dessa cultura em solos tropicais, como os solos do cerrado brasileiro (SCHAFFERT et al., 2001).

No que se refere à baixa disponibilidade de fósforo, esse é um fator que merece destaque, já que o P está relacionado aos mecanismos biológicos que envolvem a produção, a transferência e o armazenamento de energia nas formas de ATP e NADPH, sendo assim um componente essencial à vida. Nas plantas ele está vinculado a processos importantes como fotossíntese, respiração, função celular e reprodução (STAUFFER & SUELEWKI, 2004).

As plantas absorvem o P da solução do solo, preferencialmente nas formas dos íons  $HPO_4^{2-}$  e  $H_2PO_4^-$  (SOUSA et al., 2010), sendo a difusão o principal mecanismo responsável pelo movimento do P em direção às raízes (MALAVOLTA, 2004). No entanto, a disponibilidade de P no solo é muito baixa, ocasionando uma deficiência generalizada (SIQUEIRA; ANDRADE; FAQUIN, 2004).

A via de absorção do P pela planta pode ser resumida em duas etapas: i) passagem do P da solução do solo para o apoplasto; e ii) passagem do P do apoplasto para o citoplasma. Na primeira etapa, tem-se um processo passivo, uma vez que o mesmo ocorre a favor de um gradiente de potencial eletroquímico, sendo realizado por meio de difusão. Já na segunda, tem-se a absorção ativa, ou seja, contra um gradiente de concentração (RAIJ, 2004), o qual caracteriza-se por uma diferença na ordem de  $10^3$  entre a concentração de P na solução do solo e no meio intracelular, sendo este último mais concentrado (SCHACHTMAN; REID; AYLING, 1998).

A absorção de P pelas plantas pode ser influenciada pelos seguintes fatores: a concentração externa de P, o pH, o nível de fósforo no floema, o nível de fósforo e de carboidratos na raiz e associações mutualísticas, como as micorrizas, (MALAVOLTA, 2004). De acordo com Siqueira; Andrade; Faquin (2004), a taxa de absorção de nutriente pode ser também influenciada pelo estado nutricional em que a planta se encontra, pela estrutura radicular, pela translocação e pelo desenvolvimento da parte aérea, pelos microrganismos na rizosfera e pela liberação de exsudatos.

Quanto à liberação de exsudatos pela raiz através de canais iônicos, esses permitem a liberação do fósforo orgânico e inorgânico que estão presos a partículas do solo. Isto possibilita que o fósforo inorgânico, tanto liberado pela ação dos exsudatos, quanto pelo processo de hidrólise do fosforo orgânico, por meio de fosfatases, sejam absorvidos por um sistema de co-transporte de membrana (LAMBERS et al., 2006).

No entanto, deve-se destacar que, assim como existem mecanismos que auxiliam na aquisição do P, têm-se também mecanismos relacionados à eficiência de utilização interna desse nutriente, tais como: transporte (passagem do P pela endoderme, liberação no xilema e controle da distribuição por toda a planta); remobilização (translocação de P de regiões em senescência para partes embrionárias de crescimento vegetativo e reprodutivo); distribuição (condução do nutriente para compartimentos, como os vacúolos); metabolismo (manutenção do metabolismo mesmo em condições não ideais do nutriente) e alocação (manutenção do P, em baixas concentrações, em estruturas que funcionam como suporte físico, como colmos ou caules) (PARENTONI; MENDES; GUIMARÃES, 2011).

Após absorvido, o P é transformado e armazenado em diferentes formas, sendo que nas plantas os principais compostos são: o fosfato inorgânico (relacionado ao funcionamento da célula), os açúcares fosforilados (como as trioses, pentoses e hexoses), os nucleotídeos (relacionados ao armazenamento e fornecimento de energia, respiração e fotossíntese), os fosfolipídios (caráter lipídico de membrana), o DNA (armazenagem e transferência de informações genéticas) e o RNA (tradução de informações genéticas e síntese de proteínas) (MALAVOLTA, 2004).

Cabe ressaltar que o solo também tem acentuada influência sobre a disponibilidade de P para a planta, podendo funcionar como fonte, quando suas condições, mesmo que aquém do necessário, ainda apresentam-se nutricionalmente favoráveis à planta; ou como dreno, quando o mesmo compete com a planta pelo P adicionado por meio de fertilizantes, como os latossolos intensamente intemperizados do Cerrado (NOVAIS & SMITH, 1999).

No solo, o P pode ser encontrado em três categorias de disponibilidade: P-solução, P-lábil e P não-lábil. O P-solução refere-se à concentração de P na solução do solo, sendo esta influenciada por fatores como: retrogradação (passagem do fósforo solução para uma condição de baixa reatividade), difusão, imobilização, perdas por lixiviação, adsorção (diminuem a concentração de P-solução), solubilização, mineralização e dessorção (aumentam a concentração de P-solução). O P-lábil, também conhecido por “P-trocável”, refere-se ao que está estocado e que tem como função repor o que é retirado do P-solução pelos processos mencionados. Já o resultado da transformação do P-lábil em P fixado nas

partículas do solo, o que inviabiliza sua absorção pelas plantas, é chamado de P não disponível, ou P-não lábil (NOVAIS & SMITH, 1999).

Buscando mitigar os efeitos da deficiência de P em cultivares de sorgo, tem-se como alternativa o desenvolvimento de cultivares mais eficientes na aquisição, utilização e uso de P. Segundo Siqueira; Andrade; Faquin (2004), devido à grande capacidade de fixação de P na maioria dos solos tropicais, as plantas devem apresentar um sistema de absorção de alta afinidade, ou seja, capaz de extrair P em locais com concentrações em escalas micro molares, bem como ter uma alta eficiência no transporte do P da membrana plasmática para o citoplasma.

SOUSA et al. (2010) relataram que cultivares eficientes na aquisição de P, em situações de baixo P, apresentam modificações morfológicas nas raízes que auxiliam em uma maior aquisição desse elemento, como por exemplo: aumento no número de raízes adventícias, menor diâmetro radicular, raízes mais superficiais (o que é explicado pelo fato de uma maior disponibilidade de P nas camadas superiores do solo), maior presença de aerênquimas, raízes laterais mais dispersas, maior biomassa, maior produção de exsudatos, maior micorrização e pelos mais longos e densos.

Já Lambers et al. (2006), almejando estudar especializações radiculares que aumentam a eficiência de aquisição de P, abordaram sobre a estrutura e função das chamadas raízes “clusters”. Estas raízes combinam especialização estrutural e fisiológica, para maximizar a aquisição de fósforo em solos com deficiência desse macronutriente, principalmente, em regiões onde o mesmo está em fontes insolúveis ou adsorvido às partículas do solo. Tais estruturas são formadas pelo agrupamento de ramificações da raiz ou de pelos radiculares, os quais aumentam em pequenos volumes de solo a superfície de contato do sistema radicular, podendo ser encontradas em formato simples ou composto. Ressalta-se que essas especializações são encontradas tanto em monocotiledôneas quanto em dicotiledôneas e são responsáveis pela liberação de exsudatos, os quais auxiliam na disponibilização de P na rizosfera.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar 396 linhagens endogâmicas recombinantes (*Recombinant Inbred Lines*, RILs) de sorgo, quanto à eficiência no uso de P, em área experimental com deficiência de fósforo e em sistema de solução nutritiva com o mesmo estresse.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material Genético

Para os experimentos de fenotipagem para eficiência no uso de P, foram utilizadas 396 linhagens endogâmicas recombinantes (RILs), no ciclo F10, obtidas pelo método SSD (*Single seed descendente* – BRIM, 1966), a partir do cruzamento entre as linhagens BR007B e SC283. A linhagem BR007B foi desenvolvida pelo programa de melhoramento de sorgo da Embrapa Milho e Sorgo e possui como características: sensibilidade ao alumínio tóxico, média eficiência à aquisição de P e alta resposta à adição desse elemento ao solo, uma vez que sua produção de grãos em ambientes com alto P é, aproximadamente, 200% superior à obtida em ambientes com baixo P (SCHAFFERT et al., 2001). Já a linhagem SC283 é tolerante a elevadas saturações de alumínio no solo, eficiente na aquisição de P e não responsiva à adição desse elemento ao solo (SCHAFFERT et al., 2001). Destaca-se que essas linhagens, além de possuírem diferenças quanto à aquisição de P, se distinguem quanto ao sistema radicular, observações de ensaio em solução nutritiva conduzido na Embrapa Milho e Sorgo. Neste ensaio, o sistema radicular de BR007B apresentou crescimento de 158,9% em um intervalo de 7 dias em solução nutritiva completa, em relação a medição realizada um dia após a planta ser inserida na solução, e a linhagem SC283 apresentou apenas 74,6% de crescimento relativo no mesmo período<sup>1</sup>.

Devido às características dos genitores, o grupo das 396 RILs pode apresentar materiais contrastantes tanto para tolerância ao alumínio tóxico, condicionada pelo gene *Alt<sub>SB</sub>*, membro da família *MATE* (*Multidrug and Toxic Compound Extrusion*) quanto materiais contrastantes para a eficiência de aquisição de P em condições de estresse desse nutriente (SCHAFFERT et al., 2001). O gene *Alt<sub>SB</sub>* codifica um transportador de membrana alumínio-ativado para citrato, no ápice radicular, em sorgo (MAGALHÃES et al., 2007). Dessa forma, é possível relacionar a variabilidade de aquisição de P não só com QTLs para eficiência de aquisição de P, mas também, com a variabilidade alélica para o gene *Alt<sub>SB</sub>*, uma vez que a tolerância ao alumínio é possibilitada por um mecanismo de exsudação de citrato o qual pode estar relacionado ao processo de solubilização de fosfatos fixados nos minerais de argila na rizosfera, como já foi discutido por Siqueira; Andrade; Faquin (2004).

---

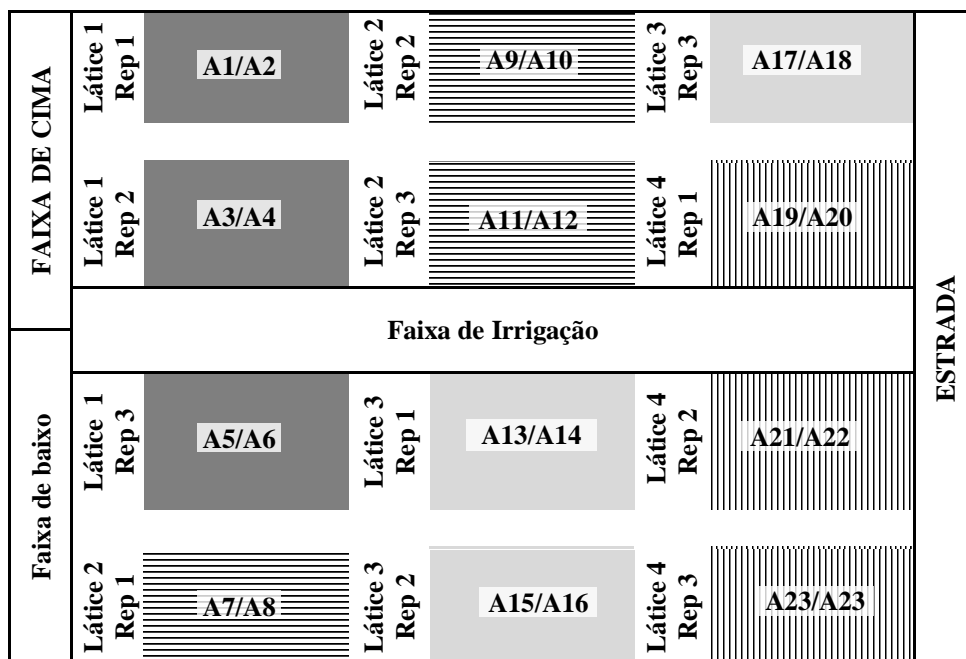
<sup>1</sup> Dados não publicados.

## 2.2 Fenotipagem das RIL's em área experimental com baixa disponibilidade de P

Os experimentos foram conduzidos na área experimental para fenotipagem em aquisição de fósforo, da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, Minas Gerais (19°28' latitude sul e 44°15'08" longitude oeste). Foram avaliadas 396 RILs, resultantes do cruzamento entre os cultivares BR007B e SC283.

As RILs foram distribuídas em quatro látices 10x10, delineados com três repetições, e duas testemunhas por bloco (12 entradas), sendo elas os genitores BR007B e SC283. As parcelas experimentais foram constituídas por uma fileira de 3 metros de comprimento, em área experimental com um total de 135 m de comprimento e 23,9 m de largura, totalizando 3.220 m<sup>2</sup>.

Para a caracterização da área experimental quanto ao nível do estresse de P, foi realizada uma análise de solo a partir da coleta de 24 amostras compostas de acordo com o mapa de semeadura dos quatro látices (FIGURA 1), sendo que cada amostra composta estava relacionada a uma fração de uma mistura homogênea de 10 subamostras.



**FIGURA 1:** Representação gráfica da amostragem de solo. Látice 1, Látice 2, Látice 3 e Látice 4. A=Amostra.

Para garantir boa representatividade da área experimental, uma amostra composta de solo foi retirada de cada repetição dos diferentes experimentos e as subamostras foram

coletadas tanto na linha de semeadura quanto entre linhas. Em cada conjunto de 10 subamostras, 6 foram coletadas entre as linhas e 4 na linha de semeadura e em cada repetição foram coletadas duas amostras compostas: uma de 0 - 20 cm de profundidade e outra de 20 - 40 cm, totalizando 24 amostras.

Antes da semeadura foi feita rotação de cultura, com o plantio de Soja RR no mês de outubro de 2011, para isso as plantas invasoras na área experimental foram dessecadas por meio da aplicação do herbicida Glifosato WG, na proporção de 2,5 Kg por hectare. Os experimentos de fenotipagem das RILs foram semeados no dia 06 de dezembro de 2012, para que a maturação fisiológica não coincidissem com o período chuvoso, o que poderia interferir nos resultados das análises de P.

### **2.2.1 Características avaliadas**

Em cada parcela experimental, foram avaliadas as seguintes características: florescimento (número de dias decorridos a partir da data de plantio até a emissão de pólen das estruturas florais de 50% das plantas de cada parcela experimental), altura de planta (média, em cm, das alturas das plantas mais representativas da parcela, mensurada a partir da base da planta até o ápice da panícula), matéria fresca de grãos por parcela, matéria fresca de panículas por parcela, estande (número de plantas por parcela), cor de nervura e teor de P na planta (folhas e colmo) e no grão.

Para determinar o teor de P, na planta e no grão, oito plantas por parcela foram colhidas e em seguida duas amostragens foram realizadas: uma da planta (planta com folhas e colmo, mas sem a panícula) e outra de grãos (panícula somente), sendo que as oito plantas (sem panícula) colhidas de cada parcela foram reduzidas em fragmentos menores e pesadas, o que correspondeu à matéria fresca da planta (MFPlanta). Após esse processo o material foi levado para estufa com ventilação forçada a 65 °C até que a massa se tornasse constante para a determinação da massa da planta seca. Quanto à amostragem de grãos, esta correspondeu a cerca de 240 g dos grãos colhidos por parcela, o que correspondeu à matéria fresca de grãos. Após pesagem, as amostras foram encaminhadas para estufa, com as mesmas condições descritas para as amostras de plantas, sendo obtida, após a secagem, a massa de grãos secos.

Após a pesagem do material seco, tanto as amostras de plantas quanto as de grãos foram moídas e cerca de 20 mg de cada uma das amostras foram encaminhados para análise do teor de P no laboratório Campo Análises, localizado na cidade de Paracatu, em Minas

Gerais, pelo método de Calorimetria do Metavanadato (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEITA, 1997).

A partir da obtenção dos dados e de acordo com Parentoni (2008) foram obtidas as seguintes estimativas:

- Produção de grãos (ProdG), em  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , obtida pelo produto da matéria fresca de grãos por parcela (g) pelo valor 7,4074, o qual é um valor de conversão de uma medida de produção em  $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$  para  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , considerando o comprimento e o espaçamento da parcela experimental;
- Porcentagem de matéria seca de grãos (%MSG);
- Teor de P na matéria seca de grãos (TPG), em gramas de P por kg de matéria seca de grãos ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ );
- Teor de P na matéria seca da planta (TPPlanta), em gramas de P por kg de massa seca de planta ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ );
- Porcentagem de matéria seca da planta (%MSPlanta);
- Matéria seca de grãos (MSG), em  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , determinada pela fórmula:  
$$MSG = \text{PRODG} \times \%MSG;$$
- Matéria seca da planta (MSPlanta), em  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , determinada pela fórmula:  
$$MSPlanta = \text{MFPlanta} \times \%MSPlanta$$
 sendo que MFPlanta corresponde a matéria fresca da planta;
- Conteúdo de P nos grãos (CPG), em  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , determinado pela fórmula:  
$$CPG = (MSG \times TPG) / 1000;$$
- Conteúdo de P na planta (CPPlanta), em  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , determinado pela fórmula:  
$$CPPlanta = (MSPlanta \times TPPlanta) / 1000;$$
- Conteúdo total de P (CPTotal), em  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , determinado pela fórmula:  
$$CPTotal = CPG + CPPlanta;$$
- Índice de colheita de P (ICP), o qual corresponde à unidade de P nos grãos por unidade de P total (corresponde ao CPTotal), em  $\text{kg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , determinado pela fórmula:  
$$ICP = (CPG / CPTotal);$$
- Quociente de utilização de P (QUTIL), o qual corresponde às unidades de massa de grãos secos por unidade de P nos grãos, em  $\text{kg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , determinada pela fórmula:  
$$QUTIL = MSG / CPG.$$

### 2.2.2 Índices de eficiência de P

Os índices de eficiência de aquisição, utilização e uso de fósforo foram calculados de acordo com as adaptações propostas por Parentoni (2008) para os índices propostos por Moll, Kamprath & Jackson (1982), para o estudo de eficiência de aquisição, utilização e uso de nitrogênio. Sendo eles:

- Eficiência de aquisição de P (EAQ), definida como a capacidade do genótipo de capturar o P disponível no solo, correspondendo ao conteúdo total de P em kg dividido pelo conteúdo de P disponível no solo (PSolo, em Kg), obtida pela expressão:  
 $EAQ = CPTotal / PSolo$ ;
- Eficiência de utilização interna de P (EUTIL), definida como a capacidade do genótipo de utilizar o P captado pela planta para produzir grãos, correspondendo a kg de matéria seca de grãos produzidos (MSG) por kg de P total (planta e grãos), obtida pela expressão:  $EUTIL = MSG / CPTotal$ ;
- Eficiência de uso de P (EUSO), definida como o produto das eficiências de aquisição e utilização interna de P, correspondendo à matéria seca de grãos produzida (kg) por conteúdo de P no solo (kg), obtida pela expressão:  
 $EUSO = (CPTotal / PSolo) \times (MSG / CPTotal)$  ou  $EUSO = MSG / PSolo$ .

### 2.2.3 Importância relativa

Além das características mencionadas, assim como em outros estudos (PARENTONI, 2008; MENDES, 2010; SILVA, 2012), a importância relativa da EAQ e EUTIL na EUSO foram determinadas. Para tanto, adotou-se a metodologia adaptada por Parentoni (2008) para estudos do uso de P, a partir da metodologia proposta por Moll, Kamprath & Jackson (1982) para estudos de uso de nitrogênio. Inicialmente, foi feita transformação logarítmica dos três índices de eficiência, por parcela:

$$Y = \text{Log}(EUSO)$$

$$X_1 = \text{Log}(EAQ)$$

$$X_2 = \text{Log}(EUTIL)$$

Em seguida, determinaram-se os desvios (por parcela) em relação às médias de  $\bar{Y}$ ,  $X_1$  e  $X_2$ , sendo eles representados por  $y$ ,  $x_1$  e  $x_2$ , respectivamente. Além disso, foram calculados os coeficientes de correlação entre  $x_1$  e  $y$  ( $r_{x_1 y}$ ) e entre  $x_2$  e  $y$  ( $r_{x_2 y}$ ) e obtidos os desvios padrões das variáveis  $y$  ( $S_y$ ),  $x_1$  ( $S_{x_1}$ ) e  $x_2$  ( $S_{x_2}$ ). Mediante a obtenção dessas estimativas, as importâncias relativas foram calculadas assim como apresentado nas equações abaixo:

$$\frac{EAQ}{EUSO} = r_{x_1 y} \times \frac{S_{x_1}}{S_y} \quad \text{e} \quad \frac{EUTIL}{EUSO} = r_{x_2 y} \times \frac{S_{x_2}}{S_y}$$

### 2.3 Dados morfológicos do sistema radicular de plântulas

Os dados morfológicos de raiz foram obtidos por meio de experimentos realizados na Embrapa Milho e Sorgo, seguindo metodologia descrita por Sousa et al. (2012). Para isso, sementes de cada uma das RILs foram desinfetadas com hipoclorito de sódio a 0,5%, em agitador horizontal e lavadas com água destilada. Após lavagem, as sementes foram postas em papel de germinação e levadas para o germinador à temperatura média de 30°C, fotoperíodo de 12 horas e umidade por volta de 75%, onde permaneceram por 24 horas. Após 24 horas, as plântulas foram dispostas em câmara de crescimento, onde permaneceram por mais 72 horas. A temperatura da câmara foi de  $27 \pm 3^\circ\text{C}$  (dia) e  $20 \pm 3^\circ\text{C}$  (noite), com fotoperíodo de 12 horas e aeração contínua.

Ao final das 96 horas para a etapa de germinação, plântulas uniformes de cada RIL foram dispostas em pastas de arquivo forradas com papel de germinação (HUND; TRACHSEL; STAMP, 2009) e inseridas em recipiente com solução nutritiva de Magnavaca modificada, pH 5,65 (MAGNAVACA; GARDNER; CLARK, 1987) e com 2,5  $\mu\text{M}$  de P (estresse de P).

Os recipientes com as pastas foram retornados a câmara de crescimento (com as mesmas condições mencionadas acima) por onde permaneceram por treze dias. Ressalta-se que a solução ficava em contato com cerca de 3 cm das pastas e essa era trocada a cada três dias (SOUSA et al., 2012).

Decorridos os treze dias, com o auxílio de uma câmera digital Nikon D300S SLR e uma fonte de luz externa, o sistema radicular foi fotografado. Para análise das fotografias obtidas foram utilizados os softwares RootReader2D e WinRhizo v. 4.0 (Regent Systems, Quebec, Canadá).

### 2.3.1 Características avaliadas

Posteriormente à obtenção e análise das fotografias, as seguintes características relacionadas à morfologia radicular foram selecionadas e quantificadas: comprimento total (Comprimento, cm), diâmetro médio (DM, mm), área de superfície total (AS, cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1 mm (AS1, cm<sup>2</sup>), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (AS2, cm<sup>2</sup>) e área de superfície de raízes com diâmetro entre 2 e 4,5 mm (AS3, cm<sup>2</sup>).

Além dessas características, matéria seca da parte aérea (MSPA, g), da raiz (MSR, g), total (MST, g), a razão entre a matéria seca da raiz e da parte aérea (RPA), o conteúdo de fósforo da parte aérea (CPPA, g), o conteúdo de fósforo da raiz (CPR, g), o conteúdo de fósforo total da plântula (CPTPlântula, g) e o comprimento específico (C.Específico, cm.g<sup>-1</sup>), o qual é a razão entre o comprimento radicular e matéria seca da raiz, foram determinados.

Ressalta-se que outras características relacionadas à morfologia radicular também foram avaliadas. No entanto, por apresentarem elevada correlação (acima de 0.8) com outras características, apenas algumas delas foram selecionadas para dar continuidade às análises. Logo, uma análise de correlação de *Pearson* (PEARSON, 1896), no software “R” (R CORE TEAM, 2014), foi realizada para a seleção de quais características seriam abordadas neste trabalho. Bem como foram utilizados artigos, que abordavam a mesma temática (SOUSA et al., 2012; HUFNAGEL et al., 2014), como ferramenta auxiliar para a determinação de quais características seriam abordadas.

## 2.4 Análises estatísticas

### 2.4.1 Modelos mistos

As análises fenotípicas dos dados de eficiência no uso de P obtidos em campo e dos dados relacionados ao sistema radicular coletados em experimentos em solução nutritiva foram realizadas com base na abordagem de modelos mistos, utilizando os seguintes modelos matemáticos:

a) Modelo matemático para experimentos em campo:

$$\underline{y}_{ijklmn} = \mu + \underline{G}_i + E_j + R_{k(j)} + \underline{B}_{l(kj)} + \underline{L}_{m(j)} + \underline{C}_{n(j)} + NTP_{ijklmn} + F_{ijklmn} + A_{ijklmn} + \varepsilon_{ijklmn}$$

em que,  $\underline{y}_{ijklmn}$  é o valor fenotípico observado para o genótipo  $i$ , na linha  $m$  e coluna  $n$ , do bloco  $l$ , da repetição  $k$ , no experimento  $j$ ;  $\mu$  é a média geral;

$\underline{G}_i$  é o efeito do genótipo  $i$ , que pode ser dividido em:

$$\underline{G}_i = \begin{cases} \underline{g}_i & i = 1, \dots, n_g \\ t_i & i = n_g + 1, \dots, n_g + n_t \end{cases}$$

em que  $\underline{g}_i$  é o efeito aleatório do genótipo  $i$ ,  $n_g$  é o número de genótipos,  $t_i$  é o efeito fixo da testemunha  $i$  e  $n_t$  é o número de testemunhas;

$E_j$  é o efeito fixo do experimento  $j$  ( $j = 1, \dots, 4$ );

$R_{k(j)}$  é o efeito fixo da repetição  $k$  dentro do experimento  $j$  ( $k = 1, \dots, 3$ );

$\underline{B}_{l(kj)}$  é o efeito aleatório do bloco  $l$ , dentro da repetição  $k$  e do experimento  $j$  ( $l = 1, \dots, 10$ );

$\underline{L}_{m(j)}$  é o efeito aleatório da linha  $m$  dentro do experimento  $j$  ( $m = 1, \dots, 36$ );

$\underline{C}_{n(j)}$  é o efeito aleatório da coluna  $n$  dentro do experimento  $j$  ( $n = 1, \dots, 10$ );

$NTP_{ijklmn}$  é o efeito fixo do número total de panículas do genótipo  $i$  ( $i = 1, \dots, 400$ ), na linha  $m$  e coluna  $n$ , do bloco  $l$  da repetição  $k$ , no experimento  $j$ ;

$F_{ijklmn}$  é o efeito fixo de florescimento do genótipo  $i$  na linha  $m$  e coluna  $n$ , do bloco  $l$  da repetição  $k$ , no experimento  $j$ ;

$A_{ijklmn}$  é o efeito fixo da altura do genótipo  $i$  na linha  $m$  e coluna  $n$ , do bloco  $l$  da repetição  $k$ , no experimento  $j$ ;

$\varepsilon_{ijklmn}$  corresponde ao erro experimental.

O sublinhado, no modelo matemático, foi utilizado para realçar os efeitos aleatórios; o número total de panícula, o florescimento e a altura foram inseridos como covariável para que o efeito devido à diferença de estande entre parcelas (adotou-se como estande final o número de panículas colhidas) fosse corrigido, bem como os efeitos do florescimento e de altura fossem minimizados durante o mapeamento de QTLs, uma vez que de acordo com a literatura

(SABADIN et al., 2012), florescimento e altura podem dificultar a detecção de QTLs para produção de grãos em sorgo. Além disso, foram testadas as interações entre os efeitos de experimento -  $E_j$ , bloco -  $B_{l(kj)}$ , e repetição -  $R_{k(j)}$  - com o efeito de testemunha -  $t_i$ .

b) Modelo matemático para experimento em solução nutritiva:

$$y_{ijk} = \mu + G_i + E_j + R_{k(j)} + \varepsilon_{ijk}$$

$y_{ijk}$  é o valor fenotípico observado para o genótipo  $i$  no experimento  $j$  na repetição  $k$ ;

$\mu$  é a média geral;

$$G_i = \begin{cases} g_i & i = 1, \dots, n_g \\ t_i & i = n_g + 1, \dots, n_g + n_t \end{cases}$$

em que  $g_i$  é o efeito aleatório do genótipo  $i$ ,  $n_g$  número de genótipos,  $t_i$  o efeito fixo da testemunha  $i$  e  $n_t$  o número de testemunhas;  $E_j$  é o efeito do experimento  $j$  ( $j = 1, 2$ );  $R_{k(j)}$  é o efeito da repetição  $k$  ( $k = 1, 2, 3$ ) dentro do experimento  $j$ ;  $\varepsilon_{ijk}$  é o erro experimental.

As análises estatísticas foram feitas com o auxílio do software GenStat (PAYNE et al, 2012). A significância dos efeitos fixos foi determinada pelo Teste de Wald (WALD, 1943), com distribuição  $\chi^2$  aproximada, e a significância dos efeitos aleatórios (componentes de variância) pelo Teste da Razão de Verossimilhanças – LRT (*Likelihood ratio test* - NEYMAN & PEARSON, 1928). A razão de verossimilhança, que também apresenta distribuição  $\chi^2$  aproximada, foi obtida por meio da diferença entre o Deviance,  $-2 \times \text{Log Verossimilhança}$ , (NELDER & WEDDERBURN, 1972), do modelo reduzido e o Deviance do modelo completo. A fórmula para o LRT segue abaixo, sendo que  $L_r$  correspondente ao valor da função de verossimilhança obtido para o modelo reduzido e  $L_c$  ao valor da função de verossimilhança para o modelo completo.

$$LRT = -2 \times \left[ \text{Log} \frac{L_r}{L_c} \right] \longrightarrow -2 \text{Log} L_r + 2 \text{Log} L_c$$

Para obtenção do coeficiente de variação e da herdabilidade, as seguintes fórmulas foram empregadas, respectivamente:

$$CV = \left( \frac{\sqrt{\sigma_R^2}}{\bar{x}} \times 100 \right) \quad h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \sigma_R^2/r}$$

em que  $\sigma_R^2$  corresponde ao componente de variância residual,  $\bar{x}$  à média geral,  $\sigma_G^2$  ao componente de variância genética e  $r$  ao número de repetições.

Destaca-se que devido o efeito aleatório de RILs e fixo de testemunhas (genitores), obteve-se médias BLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*) e BLUE (*Best Linear Unbiased Estimation*), respectivamente, para estes efeitos. Além disso, a significância para a diferença entre as médias dos genitores foi determinada da seguinte forma:

$$|\overline{G_{1x}} - \overline{G_{2x}}| > 2S_x$$

em que  $\overline{G_{1x}}$  é a média do genitor 1 para a característica  $x$ ;  $\overline{G_{2x}}$  a média do genitor 2 para a característica  $x$  e  $S_x$  é o erro padrão da diferença entre médias para a característica  $x$ . Assim, a diferença entre as médias dos genitores foi considerada significativa, caso fosse maior que duas vezes o erro padrão associado à diferença entre médias. Ressalta-se que o erro padrão é uma medida referente à incerteza da estimativa da média amostral em relação à média populacional, a qual é desconhecida. Logo, quanto maior o erro padrão menos precisa é a estimativa da média amostral em relação a média populacional (ALTMAN, 1991).

Com exceção de Comprimento, AS, DM, AS1 e C.Específico as características coletadas nos ensaios de solução nutritiva foram transformadas utilizando raiz quadrada, visando aproximação da normalidade da distribuição dos resíduos.

#### 2.4.2 Análise de correlação

Foi estimado o coeficiente de correlação de *Pearson* (PEARSON, 1896), utilizando as médias BLUPs obtidas para as RILs, entre as características obtidas no experimento em campo e no experimento em solução nutritiva. Para isso utilizou-se a função *rcorr* do pacote *Hmisc*, do software R (R CORE TEAM, 2014). Também foi estimado o coeficiente de

correlação entre as características relacionadas à morfologia radicular: comprimento, diâmetro médio (DM), área de superfície total (AS), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 mm e 1 mm (AS1), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm (AS2), área de superfície de raízes com diâmetro entre 2 mm e 4,5 mm (AS3) e comprimento específico (C.Específico).

### **2.4.3 Análise de componentes principais**

Com as médias preditas (BLUP) obtidas para as características relacionadas à morfologia radicular (Comprimento, DM, AS, AS1, AS2 e AS3) foi feita uma análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA – PRICE et al., 2006), baseada na matriz de correlação. Esta análise foi feita com a finalidade de investigar se um dos componentes obtidos poderia sintetizar as possíveis adaptações do sistema radicular de sorgo em situação de estresse. Para esta análise utilizou-se a função *princomp*, do pacote *Stats* do software R (R CORE TEAM, 2014).

### **2.4.4 Análise de regressão múltipla**

Além da análise de PCA foi realizada uma análise de regressão múltipla entre as características MSPA, MSR, MST, RPA, CPPA, CPR, CPTPlântula (utilizadas como variável resposta ou dependente) e os escores obtidos para cada RIL, referentes a cada componente da análise de PCA (variáveis independentes ou explicativas), por meio da função *lm* do pacote *Stats* do software R (R CORE TEAM, 2014). Esta análise visou determinar o quanto as características relacionadas à morfologia radicular explicavam a variabilidade observada nas características relacionadas a conteúdo de fósforo e massa seca em plantas no estágio juvenil.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Experimentos em área com baixa disponibilidade de P

##### 3.1.1 Análise de solo

A partir dos resultados da análise de solo (TABELA 1) e a classificação proposta por Ribeiro, Guimarães, Alvarez V. (1999), Tabela 2, espera-se que a área experimental utilizada tenha proporcionado estresse de fósforo nos genótipos avaliados.

**TABELA 1.** Resultado da análise de solo da área experimental da Embrapa Milho e Sorgo para a fenotipagem das RILs quanto a eficiência no uso de fósforo, para teor de P (mg/dm<sup>3</sup>) e saturação de alumínio (porcentagem) para cada repetição e profundidade amostradas.

Amostra	Identificação	P Mehlich 1 (mg/dm <sup>3</sup> )	Sat. Al %
1	Látice 1 - Rep. 1 - 00/20 cm	6,078	17,441
2	Látice 1 - Rep. 1 - 20/40 cm	3,791	22,981
3	Látice 1 - Rep. 2 - 00/20 cm	4,248	22,375
4	Látice 1 - Rep. 2 - 20/40 cm	2,484	26,451
5	Látice 1 - Rep. 3 - 00/20 cm	2,81	14,511
6	Látice 1 - Rep. 3 - 20/40 cm	1,83	12,982
7	Látice 2 - Rep. 1 - 00/20 cm	1,634	38,899
8	Látice 2 - Rep. 1 - 20/40 cm	1,307	35,846
9	Látice 2 - Rep. 2 - 00/20 cm	3,268	18,067
10	Látice 2 - Rep. 2 - 20/40 cm	1,83	33,147
11	Látice 2 - Rep. 3 - 00/20 cm	2,484	8,397
12	Látice 2 - Rep. 3 - 20/40 cm	1,438	18,423
13	Látice 3 - Rep. 1 - 00/20 cm	2,353	17,028
14	Látice 3 - Rep. 1 - 20/40 cm	1,569	21,418
15	Látice 3 - Rep. 2 - 00/20 cm	2,68	16,334
16	Látice 3 - Rep. 2 - 20/40 cm	1,765	26,746
17	Látice 3 - Rep. 3 - 00/20 cm	2,876	10,587
18	Látice 3 - Rep. 3 - 20/40 cm	1,438	28,69
19	Látice 4 - Rep. 1 - 00/20 cm	2,614	20,39
20	Látice 4 - Rep. 1 - 20/40 cm	1,569	16,022
21	Látice 4 - Rep. 2 - 00/20 cm	2,353	19,733
22	Látice 4 - Rep. 2 - 20/40 cm	1,503	26,858
23	Látice 4 - Rep. 3 - 00/20 cm	2,81	13,032
24	Látice 4 - Rep. 3 - 20/40 cm	1,961	14,275

**TABELA 2.** Classificação para disponibilidade de fósforo, de acordo com a porcentagem de argila, proposta por Ribeiro, Guimarães e Alvarez V (1999), utilizando extrator Mehlich.

Característica	Muito baixo	Baixo	Médio	Bom	Muito bom
Argila (%)	Fósforo disponível (mg.dm <sup>-3</sup> )				
60 – 100	≤ 2,7	2,8 - 5,4	5,5 - 8,0	8,1 - 12,0	> 12,0
35 – 60	≤ 4,0	4,1 - 8,0	8,1 - 12,0	12,1 - 18,0	> 18,0
15 – 35	≤ 6,6	6,7 - 12,0	12,1 - 20,0	20,1 - 30,0	> 30,0
0 – 15	≤ 10,0	10,1 - 20,0	20,1 - 30,0	30,1 - 45,0	> 45,0

A Embrapa Milho e Sorgo, local onde os experimentos foram realizados, encontra-se em região com predominância de solo do tipo latossolo (Vermelho Escuro e Vermelho Amarelo), que de forma geral possui uma proporção de argila na faixa de 15% a 80% (SOUSA & LOBATO, 2014). Mediante essa observação, de acordo com a classificação proposta por Ribeiro, Guimarães, Alvarez V. (1999) exposta na Tabela 1 e com os dados obtidos na análise de solo, a região em questão pode ser classificada como muita baixa ou baixa quanto à disponibilidade de P, uma vez que o resultados das análises utilizando o extrator Mehlich, ficaram entre 1 e 7 mg.dm<sup>-3</sup>.

Quanto à saturação por alumínio (Al), os níveis de classificação segundo Ribeiro, Guimarães, Alvarez V. (1999) foram: muito baixo ( $\leq 15\%$ ), baixo (15,1% - 30%) e médio (30,1% – 50%), o que indica que em ensaios futuros a aplicação de calcário na área deve ser realizada, pelo menos nas regiões de média saturação.

### 3.1.2 Análise estatística para ensaios de campo

Na Tabela 3 é apresentado o resumo do ajuste do modelo matemático e o resultado da análise estatística para cada característica avaliada em campo. Foi constatada variância genética significativa entre os genótipos avaliados para todas as características estudadas, bem como para os genitores, para as mesmas características, com exceção de EUTIL.

De acordo com GOMES (1990), os coeficientes de variação (CV) seriam classificados de baixo (CV<10%) a muito alto (>30%). A precisão experimental neste trabalho foi satisfatória, uma vez que os coeficientes de variação obtidos foram semelhantes aos que já haviam sido expostos em outros trabalhos (PARENTONI, 2008; MENDES, 2010; RODRIGUES, 2010). Quanto à herdabilidade, que também pode ser vista como um indicador de precisão experimental, essa variou de 0,3728 a 0,8321.

**TABELA 3.** Componentes de variância, herdabilidade e coeficiente de variação (CV), significância dos efeitos fixos, média, mínimo e máximo para os valores genotípicos observados para as RILs e seus genitores no experimento para avaliação da eficiência no uso de fósforo, em área experimental (com baixo P) da Embrapa Milho e Sorgo.

Efeitos fixos <sup>1</sup>	Significância										
	ProdG (kg. ha <sup>-1</sup> )	CPPlanta (kg. ha <sup>-1</sup> )	CPG (kg. ha <sup>-1</sup> )	CPTotal (kg. ha <sup>-1</sup> )	ICP	QUTIL	EAQ	EUTIL	EUSO	ALT (cm)	FLOR (dias)
$E_j$	**	**	**	**	NS	**	**	**	**	**	**
$R_{k(j)}$	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**
$t_i$	**	**	**	**	NS	**	**	NS	**	**	**
$Et_{ji}$	**	*	**	**	*	NS	**	NS	**	**	NS
$Rt_{k(j)i}$	**	**	**	**	**	NS	**	**	NS	NS	NS
$NTP_i$	**	**	**	**	*	NS	**	NS	**	-	-
$A_i$	**	NS	**	**	**	NS	**	**	**	-	-
$F_i$	**	NS	*	*	**	NS	*	NS	*	-	-
Efeitos aleatórios <sup>2</sup>	Componentes de Variância										
$B_{l(kj)}$	16182	0,0047	0,111	0,139	0,000324	433	0,0015	198	148	45,5	0,585
$Bt_{l(kj)i}$	136106	0,1058	NS	0,776	NS	NS	NS	833	NS	354,4	5,048
$C_{n(j)}$	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
$L_{m(j)}$	16490	NS	0,1	0,108	NS	222	0,00217	NS	308	20,7	0,728
$g_i$	108884	0,0737	0,393	0,432	0,003284	2572	0,00428	1721	913	218,9	3,799
$\varepsilon_{ijklmn}$	221048	0,371	1,034	1,368	0,0098	3376	0,0182	2977	2495	132,5	3,772
Média	2189,50	1,25	4,26	5,54	0,78	461,95	0,59	359,53	207,50	137,48	72,24
Mínimo	1469,00	0,33	3,13	4,37	0,64	323,20	0,46	241,60	138,60	98,90	69,08
Máximo	3169,00	1,95	7,02	8,30	0,87	852,50	0,72	474,90	271,40	180,90	79,03
BR007B	1983	1,16	3,77	4,94	0,76	472,80	0,54	356,60	193,20	146,10	71,75
SC283	2396	1,34	4,75	6,14	0,80	451,00	0,64	362,50	221,80	128,80	72,73
CV (%)	21,47	48,77	23,89	21,11	12,75	12,58	22,88	15,18	24,07	8,37	2,69
Herdabilidade	0,5964	0,3734	0,5328	0,4865	0,5013	0,6956	0,4137	0,6343	0,5233	0,8321	0,7513

ProdG – Produção de grãos; CPPlanta – Conteúdo de fósforo na planta; CPG – Conteúdo de fósforo no grão; CPTotal – Conteúdo de fósforo total; ICP – Índice de colheita de fósforo; QUTIL – Quociente de utilização; EAQ – Eficiência de aquisição; EUTIL – Eficiência de utilização; EUSO – Eficiência de uso; ALT – Altura; FLOR – Florescimento. <sup>1</sup>Para os efeitos fixos, NS, \*, \*\*; correspondem a não significativo e significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo Teste de Wald. <sup>2</sup>Para os efeitos aleatórios NS indica que o componente de variância não foi significativo de acordo com o Teste da razão de verossimilhanças.

### 3.1.3 Importância relativa

A EAQ teve maior importância relativa na EUSO do que a EUTIL (TABELA 4), assim como foi observado por Mendes (2010) para a cultura do milho e por Silva (2012) para o sorgo, indicando que a capacidade da planta em converter o fósforo disponível no solo em matéria seca de grãos foi mais influenciada pela sua capacidade em adquirir o fósforo, do que pela sua capacidade em transformar o fósforo adquirido em matéria seca de grãos.

**TABELA 4.** Importância relativa (IR) da eficiência de aquisição (EAQ) e da eficiência de utilização (EUTIL) na eficiência de uso (EUSO), do experimento para fenotipagem das RILs para eficiência do uso de fósforo em área experimental (com baixo P) da Embrapa Milho e Sorgo.

Característica	$r_{x_i y}$	Desvio ( $S$ )	$S_{x_i} / S_y$	IR na EUSO (%)
Eficiência de Aquisição - EAQ ( $x_1$ )	0,921	0,226	0,885	0,815
Eficiência de Utilização - EUTIL ( $x_2$ )	0,473	0,100	0,391	0,185
Eficiência de Uso - EUSO ( $y$ )		0,255		

$r_{x_i y}$ : correlação fenotípica entre as variáveis EAQ/EUTIL e EUSO;  $S$ : Desvio padrão.

### 3.2 Experimentos em solução nutritiva com baixa disponibilidade de P

O resumo do ajuste do modelo matemático e da análise estatística para as características do ensaio em solução nutritiva estão apresentados na Tabela 5. Ressalta-se que na Tabela 5 são expostos os resultados para as variáveis não transformadas. Para as demais análises abordadas neste trabalho foram utilizadas as médias BLUP transformadas por raiz quadrada, com exceção das médias para Comprimento, AS, DM, AS1 e C.Específico, que não passaram por transformação.

Assim como observado na análise dos dados coletados nos experimentos de campo, a variância genética para genótipos foi significativa para as características associadas à morfologia radicular e ao conteúdo de fósforo em plântulas, como MSPA, MSR, MST, CPPA, CPTPlântula, com exceção de RPA, evidenciando que entre as RILs há variabilidade genética, não só para características relacionadas à eficiência no uso de fósforo. Além disso, foi constatada diferença significativa, para a média dos genitores, para as características Comprimento, DM, AS2, MSPA, MST, CPPA, CPTPlântula, CEspecífico.

**TABELA 5.** Componentes de variância, herdabilidade e coeficiente de variação (CV), significância dos efeitos fixos, média, mínimo e máximo para os valores genotípicos observados para as RILs e seus genitores no experimento para caracterização do sistema radicular RILs, em sistema de solução nutritiva com baixa concentração de fósforo, em câmara de crescimento da Embrapa Milho e Sorgo.

FV		Significância													
Efeitos fixos <sup>1</sup>	Comprimento (cm)	AS (cm <sup>2</sup> )	DM (mm)	AS1 (cm <sup>2</sup> )	AS2 (cm <sup>2</sup> )	AS3 (cm <sup>2</sup> )	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)	RPA	CPPA (g)	CPR	CPT Plântula (g)	C.Específico (cm.g <sup>-1</sup> )	
$E_j$	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	NS	**	NS	**	**
$R_{k(j)}$	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**	**	**
$t_i$	*	NS	**	NS	**	NS	**	NS	**	NS	**	NS	NS	NS	
$Et_{ji}$	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS	**	NS	**	NS	NS	NS	
$Rt_{k(j)i}$	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS	**	NS	**	NS	NS	NS	
Efeitos aleatórios <sup>2</sup>	Componentes de Variância														
$g_i$	1113	40,36	0,0002	24,60	1,1000	0,0052	1,31 x 10 <sup>-5</sup>	1,11 x 10 <sup>-5</sup>	4,34 x 10 <sup>-5</sup>	0,0164 <sup>NS</sup>	0,0001	0,0002	0,0020	1466579	
$\mathcal{E}_{ijk}$	1782	61,48	0,0020	38,47	2,2030	0,0544	2,88 x 10 <sup>-5</sup>	0,0001	0,0001	0,2870	0,0006	0,0008	0,0059	3335401	
Média	205,10	39,85	0,63	30,57	4,99	0,25	0,04	0,02	0,06	1,03	0,11	0,04	0,30	9020	
Mínimo	134,90	26,66	0,62	19,92	3,40	0,20	0,03	0,02	0,05	0,00	0,10	0,03	0,24	5745	
Máximo	287,20	55,16	0,65	41,91	8,09	0,75	0,07	0,04	0,10	1,67	0,17	0,17	0,60	12195	
BR007B	233,50	42,52	0,59	33,99	3,81	0,21	0,02	0,02	0,04	1,13	0,07	0,04	0,23	10173	
SC283	176,60	37,18	0,68	27,15	6,17	0,30	0,05	0,02	0,08	0,92	0,15	0,05	0,36	7867	
CV (%)	20,58	19,68	7,14	20,29	29,73	91,93	14,63	42,89	19,31	52,21	21,39	65,66	26,00	20,25	
Herdabilidade	0,65	0,66	0,23	0,66	0,60	0,22	0,58	0,26	0,50	0,15	0,35	0,46	0,51	0,57	

AS – Área de superfície total; DM – Diâmetro médio; AS1 – Área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 mm e 1mm; AS2 – Área de superfície de raízes com diâmetro entre 1mm e 2mm; AS3 – Área de Superfície de raízes com diâmetro entre 2mm e 4,5mm; MSPA – Matéria seca da parte aérea; MSR – Matéria seca da raiz; MST – Matéria seca total; RPA – Razão raiz parte aérea; CPPA – Conteúdo de fósforo parte aérea; CPR – Conteúdo de fósforo raiz; CPTPlântula – Conteúdo de fósforo total plântula; C. Específico – Comprimento específico. <sup>1</sup>Para os feitos fixos, <sup>NS</sup>, \*, \*\*; correspondem a não significativo e significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo Teste de Wald. <sup>2</sup>Para os efeitos aleatórios <sup>NS</sup> indica que o componente de variância não foi significativo de acordo com o Teste da razão de verossimilhanças.

De acordo com o coeficiente de variação, em torno de 20%, e herdabilidade acima de 0,60 para as características Comprimento, AS, AS1, MSPA e C.Específico pode-se dizer que houve uma boa precisão experimental

### 3.2.1 Análise de correlação

A partir da análise de correlação entre todas as características dos experimentos de campo e de solução nutritiva (TABELA 6), constatou-se que apesar de poucas características estudadas serem, significativamente, correlacionadas e terem correlação de magnitude baixa, essa baixa correlação deve ser investigada para experimentos que abordam a avaliação desse estresse abiótico. Assim como discutido por PARENTONI (2008) e MENDES (2010), experimentos para avaliação de estresse nutricional ou toxidez em sistemas de solução nutritiva podem não representar as reais imposições do meio em uma planta desenvolvida em campo. No entanto, a existência de correlação entre esses dois grupos de características é um indício de que trabalhos em solução nutritiva podem ajudar a entender quais são os mecanismos de resposta de uma cultura desenvolvida no campo, a uma condição imposta, como estresse de fósforo.

**TABELA 6.** Estimativas dos coeficientes de correlação obtidos entre as médias BLUP das características avaliadas em campo e as médias BLUP das características avaliadas no ensaio em solução nutritiva com baixa concentração de fósforo.

Característica <sup>1</sup>	Solução nutritiva				
	MSR	MST	CPR	CPTPlântula	AS2
<b>CPG</b>	0,15 <sup>**</sup>	0,13 <sup>*</sup>	0,18 <sup>**</sup>	0,15 <sup>**</sup>	0,12 <sup>*</sup>
<b>CPTotal</b>	0,15 <sup>**</sup>	0,12 <sup>*</sup>	0,17 <sup>**</sup>	0,14 <sup>**</sup>	0,11 <sup>*</sup>
<b>QUTIL</b>	-0,10 <sup>*</sup>	NS	-0,16 <sup>**</sup>	-0,10 <sup>*</sup>	NS
<b>EAQ</b>	0,12 <sup>*</sup>	NS	0,13 <sup>*</sup>	NS	NS
<b>EUTIL</b>	NS	NS	-0,12 <sup>*</sup>	NS	NS

CPG – Conteúdo de fósforo no grão, CPTotal – Conteúdo de fósforo total; QUTIL – Quociente de utilização; EAQ – Eficiência de aquisição; EUTIL – Eficiência de utilização; MSR – Matéria seca da raiz, MST – Matéria seca total; CPR – Conteúdo de fósforo raiz; CPTPlântula – Conteúdo de fósforo total plântula; AS2 – Área de superfície de raiz com diâmetro entre 1mm e 2mm.<sup>NS, \*, \*\*</sup>; Correspondem a não significativo, significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, de acordo com o p-valor obtido para cada estimativa do coeficiente de correlação obtida.<sup>1</sup>As demais correlações não foram mostradas por não serem significativas, e todas as características apresentadas para os experimentos em solução nutritiva foram transformadas utilizando a raiz quadrada, durante a análise estatística para obtenção das médias BLUP.

Não foi observada correlação significativa entre ProdG (principal característica agrônômica afetada pela deficiência de fósforo) e características coletadas em solução nutritiva, como morfologia radicular. No entanto houve correlações positivas entre MSR e

CPG, CPTotal e EAQ que sugerem que linhagens com maior matéria seca da raiz podem apresentar aumento no conteúdo de fósforo no grão e no conteúdo de fósforo total, como também na capacidade de absorver o fósforo disponível no solo. No entanto, um aumento no CPG pode causar uma redução do QUTIL, que é a razão entre matéria seca de grãos (MSG) e CPG, o que é evidenciado pela correlação negativa entre MSR e QUTIL, e positiva entre MSR e CPG. A seleção de plântulas com maior MST pode direcionar para a escolha de linhagens com maior CPG e CPTotal, de acordo com as correlações positivas entre MST e CPG/CPTotal.

As correlações entre CPR e as características de campo apresentadas na Tabela 6, sugerem que um aumento no CPR pode ocasionar aumentos no CPG, no CPTotal e na EAQ (já que as correlações são positivas), e reduções no QUTIL e na EUTIL (correlações negativas). Sendo essas reduções explicadas pelo fato do QUTIL ser a razão entre MSG e CPG, e a EUTIL a razão entre MSG e CPTotal, ou seja, pelo fato dos índices QUTIL e EUTIL, serem inversamente proporcionais ao CPG e ao CPTotal, respectivamente.

As correlações positivas entre CTPPlântula e CPG/CPTotal e negativa entre CTPPlântula e QUTIL sugerem que plântulas com maior conteúdo de fósforo podem apresentar maior CPG e CPTotal e menor QUTIL, o que se explica pelos mesmos motivos citados acima. Por fim, linhagens com maior AS2 podem ter maior CPG e CPTotal, o que é sugerido pelas correlações positivas entre AS2 e CPG/CPTotal e explicado pelo fósforo ser um nutriente, que diferente do nitrogênio, é pouco móvel no solo, sendo necessário que a planta desenvolva mecanismos para aumentar a capacidade de exploração do solo, como por exemplo aumento da área da superfície radicular.

### **3.2.2 Análise de componentes principais**

As características obtidas com o experimento em solução nutritiva relacionadas à morfologia radicular foram utilizadas para uma análise de correlação e, posterior, análise de componentes principais.

Mediante a análise de correlação, constatou-se que a maioria das correlações estimadas foram positivas e significativas, com exceção das correlações entre DM/AS3, C.Específico/AS2 e C.Específico/AS3 que não foram significativas e Comprimento/DM, DM/AS, DM/AS1 e DM/C.Específico que foram negativamente correlacionados (TABELA 7). Interpretando as correlações negativas de forma conjunta, entende-se que o aumento do comprimento radicular e, conseqüentemente, do comprimento específico (razão entre

comprimento e matéria seca da raiz) poderão proporcionar uma diminuição no diâmetro médio e, conseqüentemente, um aumento na área de superfície total (AS) e na área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 mm e 1 mm (menores valores de diâmetro quantificados no experimento; AS1).

**TABELA 7.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson (abaixo da diagonal), p-valor associado a cada estimativa do coeficiente de correlação (acima da diagonal), para as características relacionadas à morfologia radicular: Comprimento (cm), AS (área de superfície total em cm<sup>2</sup>), DM (diâmetro médio em mm), AS1 (área de superfície em cm<sup>2</sup> de raízes com diâmetro entre 0 mm e 1 mm), AS2 (área de superfície em cm<sup>2</sup> de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm), AS3 (área de superfície em cm<sup>2</sup> de raízes com diâmetro entre 2 mm e 4,5 mm), C.Específico (comprimento específico cm.g<sup>-1</sup>).

Características <sup>1</sup>	Comprimento	AS	DM	AS1	AS2 <sup>1</sup>	AS3 <sup>1</sup>	C. Específico
<b>Comprimento</b>		10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>
<b>AS</b>	0.98		2,78 x 10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>
<b>DM</b>	-0.30	-0.11		10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	9,98 x 10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-4</sup>
<b>AS1</b>	0.99	0.99	-0.22		10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>
<b>AS2</b>	0.57	0.71	0.43	0.59		10 <sup>-4</sup>	7,42 x 10 <sup>-2</sup>
<b>AS3</b>	0.40	0.44	0.08	0.40	0.39		96,04 x 10 <sup>-2</sup>
<b>C. Específico</b>	0.57	0.49	-0.49	0.54	0.09	0.00	

<sup>1</sup>As características AS2 e AS3 foram transformadas utilizando a raiz quadrada, durante a análise estatística para obtenção das médias BLUP.

As correlações positivas entre as medidas de comprimento e de área de superfície sugerem que um aumento no comprimento proporcionará um aumento em todas as medidas de área de superfície, seja na área de superfície total ou nas medidas que são em função do diâmetro (AS1, AS2 e AS3), o que era de se esperar uma vez que a área de superfície é em função do comprimento.

Em resposta ao estresse de fósforo essas linhagens podem ter como adaptação um aumento da área de superfície de todas as raízes, independente do diâmetro, o que é sugerido pelas correlações positivas entre todas as medidas de área de superfície radicular.

Comparando as correlações significativas entre C.Específico e medidas de área de superfície (correlação entre C.Específico/AS de 0,49 e entre C.Específico/AS1 de 0,54), nota-se que são justamente aquelas que tiveram maior magnitude de correlação com a característica comprimento (correlação entre Comprimento/AS de 0,98 e entre Comprimento/AS1 de 0,99). O que sugere que o aumento do C.Específico (razão entre comprimento e matéria seca da raiz) está relacionado ao aumento do comprimento, da AS e da área de superfície das raízes mais finas quantificadas e, conseqüentemente, a uma redução da matéria seca radicular, uma vez que Comprimento e MSR são inversamente proporcionais, no cálculo para obtenção do

comprimento específico. O que segundo EISSNSTAT (1991), implica em um sistema radicular capaz de se expandir com maior rapidez, porém com menor custo energético, do que um material com menor C.Específico.

Após a análise de correlação, uma análise de PCA foi feita para essas mesmas características, com exceção de C.Específico, com a qual se obteve a formação de seis componentes principais, sendo os dois primeiros responsáveis por explicar 84,86% da variância total observada para as seis características consideradas na análise (Comprimento, DM, AS, AS1, AS2 e AS3), assim como mostrado na Tabela 8.

**TABELA 8.** Componentes principais (CP), desvio padrão (DP), proporção de variância (PV), proporção de variância acumulada (PVA) e coeficientes de ponderação associados às características relacionadas à arquitetura radicular.

CP	DP	PV	PVA	Coeficientes de ponderação					
				C	AS	DM	AS1	AS2 <sup>1</sup>	AS3 <sup>1</sup>
Comp. 1	1,9217	0,6155	0,6155	-0,5003	-0,5149	0,0468	-0,5019	-0,3855	-0,2862
Comp. 2	1,1827	0,2331	0,8486	0,2092	0,0454	-0,8107	0,1575	-0,4738	-0,2180
Comp. 3	0,8516	0,1209	0,9695	-0,0974	-0,1356	-0,1686	-0,1277	-0,2391	0,9328
Comp. 4	0,4186	0,0292	0,9987	0,1310	0,1422	0,5437	0,3472	-0,7392	-0,0093
Comp. 5	0,0837	0,0012	0,9998	0,8182	-0,2692	0,1281	-0,4897	-0,0426	-0,0085
Comp. 6	0,0300	0,0002	1,0000	0,0998	-0,7885	0,0061	0,5887	0,1468	0,0151

C - Comprimento, AS – Área de Superfície Total, DM – Diâmetro Médio, AS1 - Área de Superfície 1 (área de superfície de raízes com diâmetro entre 0mm e 1 mm), AS2 - Área de Superfície 2 (área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2mm) e Área de Superfície 3 (área de superfície de raízes com diâmetro entre 2mm e 4,5mm), do experimento em solução nutritiva com baixa concentração de fósforo. <sup>1</sup> Ressalta-se que as características AS2 e AS3 foram transformadas utilizando a raiz quadrada, durante a análise estatística para obtenção das médias BLUP.

A partir do componente 1 foi possível observar que valores negativos para o mesmo, indicam que comprimento, AS, AS1, AS2 e AS3, possuem valores superiores (em módulo) do que DM, já que os sinais dos coeficientes de ponderação são todos negativos, em detrimento do sinal positivo para DM.

Ressalta-se que devido aos valores dos coeficientes de ponderação, em módulo, assumidos para cada característica no Comp. 1, o mesmo pode ser denominado de índice global para arquitetura radicular, para sorgo, em baixa disponibilidade de fósforo. Logo, RILs que apresentaram um valor negativo para esse componente, podem apresentar maior comprimento e área de superfície, em detrimento de um diâmetro reduzido.

O componente 2 pode ser considerado um índice de diâmetro radicular, uma vez que DM e as características AS2 e AS3 (que são em função dos maiores diâmetros medidos, 1

mm a 4,5 mm) foram ponderadas com o mesmo sinal, com destaque para DM e AS2 que receberam as maiores ponderações, em módulo. Assim, RILs com valor negativo para os escores desse componente tendem a ter maior área de superfície de raízes com diâmetros entre 1 mm e 4,5 mm (AS2 e AS3), em detrimento de um menor comprimento e área de superfície de raízes mais finas, entre 0 mm e 1 mm e, conseqüentemente, raízes de maior diâmetro.

### 3.2.3 Análise de regressão múltipla

Em resumo, os componentes 1 e 2 foram significativos para todas as características (matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), matéria seca total (MST), razão entre a matéria seca da raiz e da parte aérea (RPA), conteúdo de fósforo parte aérea (CPPA), conteúdo de fósforo raiz (CPR), conteúdo de fósforo total plântula (CPTPlântula)), ou seja, apresentaram efeito significativo sobre a variável resposta. Os componentes 5 e 6 foram significativos apenas para CPPA e RPA, respectivamente. Os demais componentes não apresentaram efeito significativo sobre as características. O fato dos componentes 1 e 2 explicarem mais de 80% da variância observada para as características de morfologia raiz na análise de PCA, possivelmente é uma explicação para esses componentes apresentarem efeitos significativos para todas as características avaliadas.

Apesar dos componentes principais terem explicado uma porcentagem pequena da variabilidade observada na variável resposta (TABELA 9), quando utilizados na análise de regressão múltipla, deve-se destacar o modelo de regressão para MSR, o qual apresentou um  $R^2$  ajustado igual a 36,73%, sendo os componentes 1 e 2 significativos. Pelo fato de tais componentes serem relacionados à morfologia radicular e diâmetro foi possível fazer uma associação entre todas as análises mencionadas, anteriormente. Em outras palavras, plantas com maior MSR (devido a maior área superficial e comprimento e menor diâmetro), poderão apresentar maior EAQ (há correlação positiva entre EAQ e MSR) e, conseqüentemente, maior eficiência de uso de fósforo, já que o valor da importância relativa da eficiência de aquisição na eficiência de uso correspondeu 81,5%.

**TABELA 9.** Resultado da análise de regressão múltipla, para as características do ensaio em solução nutritiva com baixa concentração de fósforo, na qual foram utilizadas como variáveis respostas as médias BLUP para matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), matéria seca total (MST), razão entre a matéria seca da raiz e da parte aérea (RPA), conteúdo de fósforo da parte aérea (CPPA), conteúdo de fósforo da raiz (CPR) e conteúdo de fósforo total da plântula (CPTPlântula), e como variáveis explicativas os valores dos escores de cada RIL obtidos para cada componente principal.

Variável Resposta	Efeitos									
	Intercepto	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 3	Comp. 4	Comp. 5	Comp. 6	R <sup>2</sup> Ajustado		
<b>MSPA</b>	0,1712 ***	-0,0039 ***	-0,0021 ***	0,0005	0,0008	0,0059	-0,0159	0,4789		
<b>MSR</b>	0,1504 ***	-0,0025 ***	-0,0009 **	0,0005	0,0008	-0,0002	0,0150	0,3673		
<b>MST</b>	0,2325 ***	-0,0048 ***	-0,0022 ***	0,0009	0,0015	0,0031	0,0075	0,4875		
<b>RPA</b>	0,9858 ***	0,0019 *	0,0029 *	0,0011	0,0031	-0,0277	0,1375 *	0,0323		
<b>CPPA</b>	0,3044 ***	-0,0048 ***	-0,0017 **	0,0000	-0,0021	0,0293 ***	-0,0042	0,3619		
<b>CPR</b>	0,2058 ***	-0,0032 ***	-0,0043 ***	0,0005	0,0018	-0,0065	-0,0093	0,0853		
<b>CPTPlântula</b>	0,5223 ***	-0,0089 ***	-0,0058 ***	0,0006	-0,0009	0,0380	0,0074	0,2338		

\*\*\*, \*\*, \* Significativo a 5%, 1% e 0,1% de probabilidade, respectivamente. Ressalta-se que todas as variáveis respostas foram transformadas, por meio da raiz quadrada, durante a análise estatística para obtenção das médias BLUP.

#### **4 CONCLUSÃO**

Há variabilidade genética nas RILs tanto para eficiência no uso de fósforo, quanto para morfologia radicular, em condições de estresse desse macronutriente.

Uma das possíveis respostas morfológicas para aumentar a eficiência no uso de fósforo em sorgo é o aumento da eficiência de aquisição, por meio de ganhos no comprimento radicular, na área de superfície total (AS), nas áreas de superfície de raízes com diâmetro entre 0 mm e 1mm, 1 mm e 2mm, e 2 mm e 4,5 mm, e redução do diâmetro.

## 5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALTMAN, D. G. Principles of statistical analysis. In: \_\_\_\_\_. **Practical statistical for medical research**. London: Chapman & Hall, 1991. P. 160-161.

APPS – Associação Paulista de Produtores de Sementes e Mudas. **Área plantada e Produção de Sorgo – Safra 2011/2012**. Disponível em:<[http://www.apps.agr.br/upload/de\\_1009201203221800\\_area\\_sorgo\\_11\\_12doc.pdf](http://www.apps.agr.br/upload/de_1009201203221800_area_sorgo_11_12doc.pdf)>. Acesso: 16 out. 2012.

BRIM, C. A. A modified pedigree method of section in soybeans. **Crop Science**. vol. 6, March/April. 1996.

EISSENSTAT, D. M. On the relationship between specific root length and the rate of root proliferation: a field study using citrus rootstocks. **New Phytol**. p. 63-68, 1991.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Livraria Nobel S.A, 1990.

HUFNAGEL, B.; SOUSA, S. M.; ASSIS, L.; GUIMARÃES, C. T.; LEISER, W.; CORRADI, G.; NEGRI, B.; LARSON, B. G.; SHAFF, J. E.; PASTINA, M. M.; WELTZIEN, E.; RATTUNDE, F.; VIANA, J. H.; CLARK, R.; FALCÃO, A.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L. V.; MAGALHÃES, J. V. Duplicate and conquer: multiple homologs of phosphorus-starvation tolerance 1 enhance phosphorus acquisition and sorghum performance on low-P soils. **Plant Physiology**. September, 2014.

HUND, A.; TRACHSEL, S.; STAMP, P. Growth of axile and lateral roots of maize: I development of phenotyping platform. **Plant Soil**. April. 15 p. 2009.

LAMBERS, H.; SHAME, M. W.; CRAMER, M. D.; PEARSE, S. J.; VENEKLAAS, E. J. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. **Annals of Botany**. p. 693-713, 2006.

MAGALHÃES, J. V.; LIU, J.; GUIMARÃES, C. T.; LANA, U. G. P.; ALVES, V. M. C.; WANG, Y. H.; SCHAFFERT, R. E.; HOEKENGA, O. A.; PIÑEROS, M. A.; SHAFF, J. E. KLEIN, P. E.; CARNEIRO, N. P.; COELHO, C. M.; TRICK, H. N.; KOCHIAN, L. N. A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum. **Nature Genetics**. v. 39, n. 9. September. p. 1156-1162, 2007.

MAGNAVACA, R.; GARDNER, C. O. E.; CLARK, R. B. Inheritance of aluminum tolerance in maize. In: GABELMAN, H. W.; LOUGHMAN, B. C. [Ed]. **Genetic aspects of plant mineral nutrition**. Dordrecht, Martinus Nijhoff, p. 201-212. 1987.

MALAVOLTA, E. O fósforo na planta e interações com outros elementos. In: ABDALLA, S. R. S.; YAMADA, T. (Ed). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do fosfato, 2004. p. 14-105.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de. Metodologia para análise de elementos em material vegetal. In: **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997.

MENDES, F. F. **Controle genético de características relacionadas à eficiência no uso de fósforo em milho tropical**. 2012. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

NELDER, J. A.; WEDDERBURN, R. W. M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society**. Series A (General), vol. 135, n. 3, 1972, p. 370-384.

NEYMAN, J.; PEARSON, E. S. On the use and interpretation of certain test criteria for purpose of statistical inference. **Biometrika**. v. 20A, n. 1/2, Jul., 1928, p. 175-240.

NOVAIS, R. F.; SMITH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. 1. ed. Viçosa: UFV, 1999.

PARENTONI, S. N. **Estimativas de efeitos gênicos de diversos caracteres relacionados à eficiência e resposta ao fósforo em milho tropical**. 2008. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

PARENTONI, S. N.; MENDES, F. F.; GUIMARÃES, L. J. M. Melhoramento para eficiência no uso de fósforo. In: BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. (Ed). **Melhoramento de plantas em condições de estresse abiótico**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. p. 101-126.

PAYNE, R. MURRAY, D.; HARDING, S.; BAIRD, D.; SOUTAR, D. **Introduction to GenStat for windows (15th Edition)**. VSN International, Hemel Hempstead, 2012.

PEARSON, K. (1896), Mathematical contributions to the theory of evolution. III. Regression, Heredity and Panmixia, **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**.187, 253-318.

PRICE, A.L.; PATTERSON, N.J.; PLENGE, R.M.; WEINBLATT, M.E.; SHADICK, N.A.; REICH, D. (2006) Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. **Nature Genetics**. p. 904 – 909.

R Core Team (R version 3.1.1). **The R project for statistical computing**. Disponível em:< <http://www.r-project.org/index.html>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

RAIJ, B. V. Fósforo no solo e interação com outros elementos. In: ABDALLA, S. R. S.; YAMADA, T. (Ed). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do fosfato, 2004. p. 108-115.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. (Ed) **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais (5ª aproximação)**. Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais – CFSEMG. Viçosa, MG, 1999.

SABADIN, P. K.; MALOSETTI, M.; BOER, M. P.; TARDIN, F. D.; SANTOS, F. G.; GUIMARÃES, C. T.; GOMIDE, R. L.; ANDRADE, C. L. T.; ALBUQUERQUE, P. E. P.; CANIATO, F. F.; MOLLINARI, M.; MARGARIDO, G. R. A.; OLIVEIRA, B. F.;

SCHAFFERT, R. E.; GARCIA, A. A. F.; VAN EEUWIJK, F. A.; MAGALHAES, J. V. Studying the genetic basis of drought tolerance in sorghum by managed stress trials and adjustments for phenological and plant height differences. **Theoretical and applied genetics - TAG**. 124: p. 1389-1402, 2012.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant physiology**. p. 447-453. 1998.

SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C.; PITTA, G.; BAHIA, A.; SANTOS, F. Genetic variability in sorghum for efficiency and responsiveness. In: **Developments in Plant and Soil, Symposium**. Plant nutrition: food security and sustainability of agro-ecosystems. Netherlands: Academics, 2001. p. 72-73.

SILVA, L. A. **Fenotipagem para eficiência de fósforo em linhagens de sorgo**. 2012. Dissertação (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal. 2012.

SIQUEIRA, J.O.; ANDRADE, A. T.; FAQUIN, V. O papel dos microrganismos na disponibilização e aquisição de fósforo pelas plantas. In: ABDALLA, S. R. S.; YAMADA, T. (Ed). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do fosfato, 2004. p. 117-149.

SOUSA, S. M.; CLARK, R. T.; MENDES, F. F.; OLIVEIRA, A. C.; VASCONCELOS, M. J. V.; PARENTONI, S. N.; KOCHIAN, L. V.; GUIMARÃES, C. T.; MAGALHÃES, J.V. A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize. **Functional Plant Biology**. p. A-K, Jun. 2012.

SOUSA, S. M.; GOMES, E. A.; SOUZA, F. A.; VASCONCELOS, M. J. V. **Documentos 105: Importância da Morfologia radicular na eficiência da aquisição de fósforo**. 2010. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/26840/1/Doc-105.pdf>>. Acesso em: 31 agos. 2012.

SOUZA, D. M. G.; LOBATO, E. **Latossolos**. Disponível: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/arvore/AG01\\_96\\_10112005101956.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/arvore/AG01_96_10112005101956.html)>. Acesso em: 27 set. 2014.

STAUFFER, M. D.; SULEWSKI, G. Fósforo – Essencial para a vida. In: ABDALLA, S. R. S.; YAMADA, T. (Ed). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do fosfato, 2004. p. 1-10.

WALD, A. Tests of statistical hypotheses concerning several parameters when the number of observations is large. **Transactions of the American Mathematical Society**. v. 54, n. 3, November, 1943, p. 426-481.

CAPÍTULO II

**MAPEAMENTO DE QTLS PARA CARACTERÍSTICAS ASSOCIADOS À  
EFICIÊNCIA NO USO DE FÓSFORO EM SORGO**

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2014

## RESUMO

BERNARDINO, Karine da Costa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Novembro de 2014. **Mapeamento de QTLs para características associadas à eficiência no uso de fósforo em sorgo**. Orientador: Pedro Crescêncio Souza Carneiro. Coorientadores: Jurandir Vieira de Magalhães e Robert Eugene Schaffert.

Com o avanço das práticas de biologia molecular, devido ao surgimento dos marcadores moleculares, e com o desenvolvimento de novos métodos estatísticos foi possível incorporar novas técnicas ao melhoramento de plantas. Isto permitiu criar novas abordagens para o estudo de estresses abióticos (seca, toxidez por alumínio e deficiência de fósforo, por exemplo), como o mapeamento de QTLs (*Quantitative trait locus*), os quais são regiões genômicas associadas à expressão de características quantitativas. Logo, este trabalho teve como objetivo identificar QTLs associados à eficiência no uso de fósforo, com o auxílio de uma população de 396 RILs de sorgo genotipadas por meio da técnica de GBS (*Genotyping by sequencing*). Para análise de mapeamento por múltiplos locos as seguintes características foram utilizadas: Produção de grãos, Conteúdo de fósforo na planta, Conteúdo de fósforo no grão, Conteúdo de fósforo total, Índice de colheita de fósforo, Quociente de utilização, Eficiência de aquisição, Eficiência de utilização, Eficiência de uso, Comprimento, Diâmetro médio, Área de superfície total, Área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm, Comprimento específico, Componente principal 1, Componente principal 2, Matéria seca da parte aérea, Matéria seca da raiz, Conteúdo de fósforo da parte aérea e Conteúdo de fósforo da raiz. Com a análise de mapeamento foi possível detectar QTLs para todas as características mencionadas acima, sendo alguns localizados em regiões próximas a homólogos do gene *PSTOLI* no sorgo, gene esse que confere tolerância ao estresse de fósforo em arroz. Além disso, a análise de mapeamento permitiu: 1- mapear um mesmo QTL associado à característica coletada em campo (Eficiência de aquisição) e em solução nutritiva (Conteúdo de fósforo na raiz), mesmo sendo essas, fracamente, correlacionadas, o que evidencia a importância da fenotipagem em sistema de solução nutritiva; 2- sugerir que o cromossomo 2 pode ter algum gene associado a morfologia radicular, devido a grande quantidade de QTLs mapeados para características radiculares nesse cromossomo; e 3- propor o estudo mais aprofundado do cromossomo 9, já que das 20 características utilizadas na análise de mapeamento, 11 apresentaram QTLs nesse cromossomo.

**Palavras-chave:** *Sorghum bicolor*, estresse de fósforo, MIM, QTLs.

## ABSTRACT

BERNARDINO, Karine da Costa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2014. **QTLs mapping related to the efficient use of phosphorus in sorghum characteristics.** Advisor: Pedro Crescêncio Souza Carneiro. Coorientadores: Jurandir Vieira de Magalhaes and Robert Eugene Schaffert.

The advancement of molecular biology practices, the development of molecular markers and the development of new statistical methods make it possible to incorporate new techniques in plant breeding. These new technologies have made it possible to study abiotic stresses (drought, toxic aluminum and phosphorus deficiency, for example), resulting in the mapping of QTLs (Quantitative trait locus), which are genomic regions associated with the expression of quantitative traits. The objective of this study was to identify QTLs that could be associated with the efficient use of soil phosphorus, using a population of 396 RILs sorghum genotyped by technique of GBS (Genotyping by sequencing). The following characteristics: grain yield, content of phosphorus in plant phosphorus content in the grain, the total content of phosphorus, phosphorus harvest index, coefficient of utilization, efficiency of acquisition efficiency utilization, efficiency of use, length, average diameter, total surface area, surface area of roots with diameters between 1 mm and 2 mm, specific length, principal Component 1, Component 2 primary, shoot dry weight, root dry weight, phosphorus content of shoot and root phosphorus content were used for mapping analysis of multiple loci. This mapping analysis was able to detect QTLs for all the traits mentioned above, some being located in regions close to the homologues of PSTOL1 (rice gene that confers tolerance to phosphorus stress) in sorghum. Furthermore, this mapping analysis allowed: 1) mapping QTLs associated with field characteristic (acquisition efficiency) and nutrient solution characteristics (content of phosphorus in roots): even though these traits were poorly correlated, it demonstrates the importance of phenotyping in the nutrient solution system; 2) suggest that chromosome 2 may have a gene associated with root morphology due to the large number of QTLs for root characteristics mapped on this chromosome; and 3) and propose further study of chromosome 9, as of the 20 characteristics used in mapping analysis, 11 QTLs appeared on this chromosome.

**Keywords:** *Sorghum bicolor*, phosphorus stress, ME, QTLs.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, muito tem sido discutido sobre o aumento da produção agrícola, não só devido ao acelerado crescimento da população mundial, o que resultará em uma maior demanda por alimentos, mas também por ser uma atividade econômica fundamentada na adubação fosfatada, a qual é dependente das rochas fosfáticas, recurso natural não renovável e que está em processo de depleção (STAUFFER & SUELEWKI, 2004). Diante disso, o desenvolvimento de cultivares adaptados ao meio no qual serão implantados, ou seja, que não apresentem uma redução expressiva do seu potencial produtivo em função da baixa disponibilidade de fósforo no solo, por exemplo, tem sido visto como uma alternativa promissora para redução da dependência do sistema agrícola atual em relação à adubação fosfatada.

Em programas de melhoramento, estudos que buscam elucidar o controle genético dos mecanismos de resposta da planta exposta a condições subótimas de desenvolvimento podem ser uma ferramenta útil para o desenvolvimento de cultivares mais tolerantes a determinados estresses. Por exemplo, o mapeamento de QTLs (*Quantitative Trait Locus*), que possibilita a identificação de locos ou genes que controlam a expressão de características complexas, como produção de grãos em ambiente com baixa disponibilidade de fósforo, que podem ser empregados na seleção assistida em programas de melhoramento (COLLARD et al., 2005).

Para o mapeamento de QTLs, são obtidas populações de mapeamento a partir do cruzamento entre genitores contrastantes e, preferencialmente, homocigotos para a característica de interesse. Como exemplo pode-se citar as RILs (*Recombinant Inbred Lines*), as quais são obtidas pelo método SSD (*Single Seed Descendent*) o qual consiste em sucessivas gerações de autofecundação a partir da geração F<sub>2</sub>, de um cruzamento biparental (BRIM, 1966). A utilização de RILs para o mapeamento de QTLs permite identificar marcadores próximos de um QTL, devido às sucessivas gerações de recombinação gênica causadas pelos ciclos de autofecundação. Além disso, tais populações podem ser perpetuadas, o que permite que experimentos sejam implantados em vários locais e épocas, possibilitando uma melhor determinação da interação entre genótipos e ambientes (SCHUSTER & CRUZ, 2008).

Atualmente, marcadores moleculares do tipo SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), que correspondem a polimorfismos baseados na localização de um único nucleotídeo, bem como pequenas inserções e/ou deleções (CHO et al., 1999), são amplamente utilizados em estudos de mapeamento de QTLs em diversas espécies, como em arroz (YE et al., 2011), milho (ZHANG et al., 2014), trigo (ISHIKAWA et al., 2014), sorgo (UPADHYAYA et al.,

2012), batata (HACKETT; MCLEAN; BRYAN, 2013) e pera (WU et al., 2014). Quando comparados aos primeiros marcadores desenvolvidos, por exemplo: RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism* - GRODZICKER et al., 1974), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* - TEASDALE, 1994) e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* - VOS et al., 1995); os marcadores SNP apresentam maior abundância no genoma. Recentemente, com o desenvolvimento da tecnologia de GBS (*Genotyping-by-Sequencing* - ELSHIRE et al, 2011) é possível a obtenção desses marcadores com alta densidade ao longo do genoma de forma otimizada, já que um grande número de amostras, de material genético, pode ser trabalhado simultaneamente.

Com o objetivo de testar, estatisticamente, a existência de ligação entre um marcador e um fenótipo, diferentes métodos estatísticos têm sido propostos para o mapeamento de QTLs, por exemplo: mapeamento por marcas individuais (EDWARDS; STUBER; WENDEL, 1987), mapeamento por intervalo (LANDER & BOTSTEIN, 1989), mapeamento por intervalo composto (JANSEN & STAM, 1994; ZENG, 1994), e mapeamento por múltiplos intervalos (*Multiple Interval Mapping* - MIM, KAO; ZENG; TEASDALE, 1999).

Logo, mediante ao fato do fósforo ser um nutriente de baixa mobilidade no solo, o que implica no desenvolvimento de estratégias pelas plantas que facilitem o acesso a *pools* de fósforo disponíveis, seja por meio de uma maior exploração do solo e/ou mobilização de fosfato para regiões de baixa disponibilidade de P na rizosfera (LYNCH, 2011). E pelo estudo desenvolvido, em arroz, por Gamuyao et al. (2012), relatando sobre a atuação do gene *PSTOL1* na produção de grãos, por meio de modificações na taxa de crescimento do sistema radicular, em condições de estresse de P, o objetivo deste capítulo foi mapear possíveis QTLs relacionados à eficiência no uso de fósforo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material Genético

Para a análise de mapeamento foram utilizadas RILs derivadas do cruzamento entre os genitores BR007B e SC283, os quais são contrastantes para eficiência no uso de fósforo e para morfologia radicular, o que possibilitou a existência de variabilidade entre RILs para essas características. O BR007B é uma linhagem não eficiente ao uso de fósforo e responsiva a adição de adubação fosfatada ao meio, já o SC283 é uma linhagem eficiente, porém não responsiva (SCHAFFERT et al., 2001). Quanto ao sistema radicular, como mostrado no Capítulo 1, tais genitores se distinguem, estatisticamente, para médias relacionadas a comprimento (em cm, maior média para o BR007B), diâmetro (em mm, menor média para o BR007B), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 e 2 mm (em cm<sup>2</sup>, menor média para o BR007B) e comprimento específico (em cm.g<sup>-1</sup>, maior média para BR007B). Abaixo segue a Tabela 10, a qual apresenta quais características dos genitores diferiram, estatisticamente, de acordo com análises apresentadas no Capítulo 1.

**TABELA 10.** Médias das características que foram estatisticamente distintas para os genitores BR007B e SC283, obtidas em experimentos em campo e em solução nutritiva com baixa disponibilidade de fósforo e que foram utilizadas na análise de mapeamento.

	Características	Genitores		RILs		
		BR007B	SC283	Mínimo	Média	Máximo
Campo	ProdG (kg.ha <sup>-1</sup> )	1983	2396	1469	2190	3169
	CPPlanta (kg.ha <sup>-1</sup> )	1,16	1,34	0,33	1,25	1,95
	CPG (kg. ha <sup>-1</sup> )	3,77	4,75	3,13	4,26	7,02
	CPTotal (kg.ha <sup>-1</sup> )	4,94	6,14	4,37	5,54	8,30
	IC	0,76	0,80	0,64	0,78	0,87
	QUTIL	472,80	451,00	323,20	461,95	852,50
	EAQ	0,54	0,64	0,46	0,59	0,72
	EUTIL	356,60	362,50	241,60	359,53	474,90
	EUSO	193,20	221,80	138,60	207,50	271,40
Solução nutritiva	Comprimento (cm)	233,50	176,60	134,90	205,10	287,20
	DM (mm)	0,59	0,68	0,62	0,63	0,65
	AS2 (cm <sup>2</sup> )	3,81	6,17	3,40	4,99	8,09
	MSPA (g)	0,02	0,05	0,03	0,04	0,07
	MST (g)	0,04	0,08	0,05	0,06	0,10
	CPPA (g)	0,07	0,15	0,10	0,11	0,17
	CPTPlântula(g)	0,23	0,36	0,24	0,30	0,60
	CEspecífico (cm.g <sup>-1</sup> )	10173	7867	5745	9020	12195

## 2.2 Características avaliadas

As características utilizadas para análise de QTLs foram obtidas a partir dos experimentos realizados em campo e em solução nutritiva, discutidos no Capítulo 1, sendo elas: produção de grãos (ProdG -  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), conteúdo de fósforo na planta, sem panícula, (CPPlanta -  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), conteúdo de fósforo no grão (CPG -  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), conteúdo de fósforo total (CPTotal -  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) Índice de colheita de fósforo (ICP), quociente de utilização (QUTIL), eficiência de aquisição (EAQ), eficiência de utilização (EUTIL), eficiência de uso (EUSO), comprimento (cm), diâmetro médio (DM - mm), área de superfície total (AS -  $\text{cm}^2$ ), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm (AS2 -  $\text{cm}^2$ ), comprimento específico (C.Específico -  $\text{cm}\cdot\text{g}^{-1}$ ), componente principal 1 (Comp.1), componente principal 2 (Comp.2), matéria seca da parte aérea (MSPA - g), matéria seca da raiz (MSR - g), conteúdo de fósforo da parte aérea (CPPA - g) e conteúdo de fósforo da raiz (CPR - g).

## 2.3 Obtenção dos marcadores SNP

Para obtenção dos marcadores SNP, sementes de cada uma das RILs foram germinadas, em papel próprio para germinação, e amostras de folha de cada linhagem foram coletadas e tiveram o seu DNA extraído, seguindo o procedimento padrão do Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Milho e Sorgo, para extração de DNA de folhas (LANA et al., 2010). Após a extração, o DNA coletado foi encaminhado para o IGD (*Institute for Genomic Diversity*) da Universidade de Cornell, onde foi realizada a genotipagem com base na técnica de GBS (*Genotyping by sequencing* - ELSHIRE et al., 2011). Esta técnica permite a redução de genomas complexos, devido o uso de enzimas de restrição específicas para o reconhecimento de regiões repetitivas ao longo do genoma, de forma fácil, rápida e altamente reprodutível, possibilitando devido a grande quantidade de informações geradas, a sua utilização para o sequenciamento de genomas inteiros.

De acordo com Elshire et al. (2011), a técnica de GBS apresenta as seguintes etapas: 1) amostras de DNA e adaptadores, os quais são classificados em adaptadores *barcodes* e adaptadores comuns, são colocados em uma placa de PCR. Ressalta-se que os *barcodes* são sequências de nucleotídeos específicas para cada amostra de DNA possibilitando que diferentes amostras de DNA sejam processadas, simultaneamente, e que o sequenciamento dos fragmentos de DNA seja realizado ao final do processo. Já adaptadores comuns são aqueles que estão presentes em todas as amostras; 2) em seguida as amostras são digeridas

com uma enzima de restrição apropriada para o material genético que está sendo utilizado, possibilitando que os adaptadores se liguem às extremidades dos fragmentos de restrição por meio de uma ligase; 3) Essa ligase é desativada, posteriormente, por meio de aquecimento, e um *pool* contendo os fragmentos de DNA genômico ligados aos adaptadores (denominados *tags*) é formado e, respectivamente, purificado por meio de um kit comercial para essa finalidade; 4) Para amplificar as *tags*, primers apropriados para reconhecerem os sítios de ligação dos adaptadores (*barcode* e comum) são adicionados, e uma reação de PCR é realizada; 5) os produtos da PCR são purificados assim como mencionado acima e uma amostra desses produtos é inserida em uma estação automática de eletroforese, para que o tamanho dos fragmentos seja obtido e a viabilidade da amostra determinada, uma vez que dímeros de adaptadores possuem aproximadamente 128 pb de comprimento e os fragmentos de DNA, entre 170-350 bp, logo pela quantidade de dímeros é possível saber sobre a qualidade da amostra; 6) as amostras, ou também chamadas de bibliotecas, obtidas de todo processo mencionado acima, são utilizadas para sequenciamento Illumina (Illumina, Inc., San Diego, CA).

O sequenciamento Illumina (Illumina, Inc., San Diego, CA) é constituído das seguintes etapas, após a obtenção das bibliotecas: 1) a placa usada para o sequenciamento (*flow cell*) é constituída por 8 canaletas, as quais possuem adaptadores fixados, esses iguais aos ligados aos fragmentos de DNA; 2) nessas canaletas ocorre a ligação casualizada dos fragmentos de DNA das bibliotecas, esses que estão como fitas simples, devido a um processo de desnaturação; 3) adicionam-se nucleotídeos não marcados e enzimas para iniciar a amplificação por ponte sólida; 4) a enzima incorpora nucleotídeos construindo pontes de fita dupla; 5) ocorre desnaturação das fitas duplas, permanecendo as fitas simples ancoradas à superfície das canaletas; 6) as etapas 3, 4 e 5 são repetidas até que milhões de agrupamentos (*clusters*) de fita simples de DNA sejam geradas em cada canaleta da *flow cell*; 7) após a obtenção dos *clusters*, um dos adaptadores ligado à superfície das canaletas é clivado, juntamente, com a fita de DNA a ele ancorado, permanecendo nos *clusters*, cópias de uma única fita; 8) após essa etapa inicia-se o ciclo de sequenciamento, por meio da adição de primers, DNA polimerase e nucleotídeos marcados, reversivelmente, por fluorescência; 9) o primeiro nucleotídeo marcado é incorporado às fitas simples de cada *cluster*, sendo que a marca fluorescente funciona como sinal para interromper a ação da DNA polimerase; 10) devido a um processo de excitação a laser, a fluorescência de cada nucleotídeo e, conseqüentemente, de cada *cluster* é emitida e fotografada, sendo possível identificar a base associada ao nucleotídeo, já que as fluorescências diferem de acordo com a base nitrogenada

(A, T, C, G); 11) após essa etapa o marcador fluorescente é enzimaticamente clivado, possibilitando que o próximo nucleotídeo seja incorporado; 12) após sucessivos ciclos de sequenciamento, o ordenamento de bases de cada fragmento da biblioteca é determinado, sendo esses fragmentos alinhados de acordo com um mapa genético de referência e as diferenças de sequenciamento identificadas, as quais dependendo da frequência podem ser consideradas marcadores SNPs.

## 2.4 Modelo estatístico para mapeamento de QTLs

As análises estatísticas foram feitas com o auxílio do pacote *OneQTL*, o qual está sendo desenvolvido para o software R (R CORE TEAM, 2014)<sup>2</sup>. Adotou-se para análise o mapeamento de múltiplos locos e aproximação de Haley & Knott (HALEY & KNOTT, 1992). Esse procedimento se assemelha ao MIM, por apresentar as mesmas vantagens em relação às demais formas de mapeamento, como a estimação de efeitos epistáticos entre QTLs, diferindo quanto à possibilidade de realizar uma análise de mapeamento com uma grande densidade de marcadores, como os obtidos por meio da técnica de GBS, tornando desnecessário o cálculo de probabilidades condicionais, já que análise de mapeamento é realizada em um genoma altamente saturado, o que permite a identificação de marcadores mais próximos aos QTLs. O modelo estatístico geral para mapeamento em múltiplos locos segue abaixo:

$$y_i = \mu + \sum_{j=1}^m a_j x_{ij} + \sum_{j \neq k}^m \delta_{jk} (w_{jk} x_{ij} x_{ik}) + \varepsilon_i$$

em que  $y_i$  é o valor assumido pelo indivíduo  $i$ , para a característica em análise;

$\mu$  é a média;

$a_j$  é o efeito principal assumido por  $Q_j$  ( $j = 1, \dots, m$ ), no qual  $Q_j$  representa o QTL mapeado e  $m$  refere-se aos múltiplos marcadores SNPs;

$x_{ij}$  representa a variável para o genótipo do QTL, a qual pode assumir valor igual a 1 caso o genótipo seja  $Q_j Q_j$ , ou -1 se  $q_j q_j$ ;

---

<sup>2</sup> Comunicação Pessoal Luciano da Costa e Silva, 2014.

$\delta_{jk}$  é uma variável indicadora de efeito epistático entre  $Q_j$  e  $Q_k$ , que assumirá valor igual a 1 se houver epistasia e igual a 0 em caso contrário;

$w_{jk}$  é o efeito epistático entre  $Q_j$  e  $Q_k$ ;

$\varepsilon_i$  é o erro.

Ressalta-se que foi utilizada a Estatística Escore (*Score Statistics*) proposta por Zou et al. (2004), considerando o nível de significância ( $\alpha$ ) igual a 0,1. O valor de  $\alpha$  assumido para esse teste, apesar de ser maior que 0,05, foi escolhido de acordo com os resultados de simulação apresentados por SILVA, WANG, ZENG (2012), no qual se observou um maior poder para a detecção de possíveis QTLs quando considerado  $\alpha = 0,10$  na Estatística Escore. Os autores mostraram por meio de estudos de simulação que o nível de significância igual a 0,01 foi muito rigoroso, impossibilitando a detecção de determinados QTLs, enquanto que o poder de detecção usando 0,1 como significância, foi superior quando comparado ao nível 0,05.

Além disso, deve-se destacar que por convenção o sinal positivo, para efeito alélico, indica alelo doado pelo genitor BR007B e sinal negativo pelo SC283, o intervalo de confiança para cada QTL foi determinado por LOD - 1 (LANDER & BOTSTEIN, 1989), ou pela posição dos marcadores adjacentes ao QTL, e a obtenção da razão entre a variância de QTL e a variância fenotípica, foi obtida de acordo com a equação abaixo:

$$RV = \frac{\sigma_{QTL}^2}{\sigma_{Fenotípica}^2} \times 100$$

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as características em estudo, foi possível detectar QTLs nos cromossomos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 9 dos 10 cromossomos que compõem o genoma do sorgo. Ao todo foram identificados 57 QTLs, sendo 25 para as características avaliadas em campo (TABELA 11) e 22 em solução nutritiva (TABELA 12). Ressalta-se que para as características relacionadas aos ensaios em solução nutritiva, com estresse de fósforo, foram encontrados QTLs nos cromossomos 1, 2, 3, 4, 5 e 9. Além disso, para todas as características foram testadas interações epistáticas entre QTLs, no entanto não foram detectadas interações significativas.

Ressalta-se que além das características coletadas em campo e em solução com baixa disponibilidade de fósforo, foram utilizados na análise de mapeamento dois componentes obtidos na análise de componentes principais discutida no Capítulo 1. Sendo eles os componentes 1 e 2, os quais juntos explicaram 84,86% da variância observada para as características comprimento, AS, DM, AS1, AS2 e AS3, estas relacionadas à morfologia radicular do sorgo em condições de baixa disponibilidade de fósforo e permitiram uma visão unificada dessas características em condições de estresse de fósforo, o que justificou a utilização dos mesmos para análise de mapeamento.

**TABELA 11.** Cromossomo (Cr.), posição, intervalo de confiança (IC), efeito, razão entre variância do QTL e variância fenotípica (RV) e LOD para os QTLs obtidos para a população de RILs derivada do cruzamento entre BR007B e SC283, a partir dos dados fenotípicos coletados na área experimental com baixa disponibilidade de fósforo.

Característica <sup>1</sup>	QTL	Cr.	Posição (pb)	Intervalo de Confiança (pb)	Efeito Alélico	RV (%)	LOD
<b>ProdG</b> (kg. ha <sup>-1</sup> )	1	4	57876859	57612641 - 62021131	60,12	5,99	5,91
	2	6	59518519	59518471 - 60343049	-57,71	5,55	5,51
	3	8	51848828	51658790 - 53825881	-61,21	6,34	6,24
<b>EUSO</b>	1	4	61973207	57678956 - 62021131	4,85	5,51	5,44
	2	6	59518519	56059163 - 61857273	-4,99	5,74	5,62
	3	8	52073289	51658790 - 52239947	5,63	7,37	7,16
<b>EAQ</b>	1	1	8078100	6555109 - 11126848	0,01	6,36	5,99
	2	4	60935352	54207160 - 62627999	0,01	6,92	6,5
<b>EUTIL</b>	1	1	8069111	7599050 - 11977910	-7,00	4,80	4,93
	2	2	7999987	7985795 - 8464346	7,91	6,13	6,21
	3	5	61972774	58937215 - 62240834	-9,12	8,08	8,09
	4	9	55905813	55822547 - 55919967	7,00	4,70	4,79
<b>ICP</b>	1	3	54244827	54233235 - 54244841	-0,01	6,01	5,22
<b>QUTIL</b>	1	1	9694294	6887826 - 11354916	-11,75	8,36	9,16
	2	2	7126142	7117190 - 7133474	8,64	4,64	5,25
	3	5	58680356	58210660 - 60271456	-12,03	8,99	9,83
	4	9	37288567	37288098 - 37288568	-9,69	5,82	6,45
<b>CPPLANTA</b> (kg. ha <sup>-1</sup> )	1	3	10289979	10263132 - 10290132	0,04	5,30	4,59
<b>CPG</b>	1	1	10222985	9404956 - 11134243	0,12	7,71	8,06
	2	4	61357211	56769806 - 62039156	0,11	6,23	6,56
	3	6	59667233	59518519 - 60897723	-0,10	5,45	5,75
	4	8	53192849	53145012 - 54059285	-0,09	4,44	4,71
<b>CPTOTAL</b> (kg. ha <sup>-1</sup> )	1	1	11126848	5936134 - 11611043	0,11	6,13	6,14
	2	4	60935352	55176741 - 62323479	0,12	7,55	7,51
	3	6	60343049	57244973 - 61819228	-0,10	5,02	5,07

<sup>1</sup> ProdG - Produção de grãos; EUSO – Eficiência de uso; EAQ – Eficiência de aquisição; EUTIL – Eficiência de utilização; ICP – Índice de colheita; QUTIL – Quociente de utilização; CPPLANTA – Conteúdo de fósforo na planta; CPG – Conteúdo de fósforo no grão; CPTOTAL – Conteúdo de fósforo total.

**TABELA 12.** Cromossomo (Cr.), posição, intervalo de confiança (IC), razão entre variância do QTL e a variância fenotípica (RV) e LOD para os QTLs obtidos para a população de RILs derivadas do cruzamento entre BR007B e SC283, a partir dos dados fenotípicos coletados no experimento em solução nutritiva com baixa concentração de fósforo.

Características <sup>1</sup>	QTL	Cr.	Posição (pb)	Intervalo de Confiança (pb)	Efeito Alélico	RV (%)	LOD
<b>Comprimento (cm)</b>	<b>1</b>	3	52338049	52340000 - 73030000	-6,21	5,40	5,99
	<b>2</b>	5	11623601	11620000 - 11623602	-5,95	4,97	5,53
	<b>3</b>	9	57240369	56339168 - 57337476	-11,05	16,55	17,10
<b>DM (mm)</b>	<b>1</b>	1	19938631	19806214 - 19955311	-1,70 x 10 <sup>-03</sup>	5,72	5,59
	<b>2</b>	2	65500047	64208747 - 65834915	-1,90 x 10 <sup>-03</sup>	7,70	7,50
	<b>3</b>	9	59029924	55464184 - 59620215	1,90 x 10 <sup>-03</sup>	7,49	7,32
<b>AS (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1</b>	3	52338049	52336728 - 52338119	-1,09	4,50	4,82
	<b>2</b>	5	11623602	11239931 - 11623605	-1,13	4,87	5,23
	<b>3</b>	9	57240369	55378398 - 57337478	-2,01	14,82	14,93
<b>AS2 (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1</b>	2	65807166	62725769 - 66100213	0,05	7,84	8,69
	<b>2</b>	3	7463560	7458566 - 8636075	0,05	7,66	8,44
	<b>3</b>	3	72581671	68998355 - 73856908	0,05	6,03	6,75
	<b>4</b>	5	1972667	463766 - 3774547	-0,04	5,34	6,05
<b>C. Específico (cm.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>1</b>	2	59244014	59242800 - 59244120	286,32	9,96	9,38
	<b>2</b>	4	66773187	66579962 - 67627523	-264,00	8,50	8,06
<b>Comp. 1</b>	<b>1</b>	2	66100213	65411595 - 66112131	-0,42	4,67	4,98
	<b>2</b>	5	11623602	11623601 - 11623605	0,47	6,07	6,40
	<b>3</b>	9	57240369	56014062 - 57337476	0,68	12,04	12,28
<b>Comp. 2</b>	<b>1</b>	1	19938631	19891331 - 19949286	0,27	5,23	5,82
	<b>2</b>	2	65500047	64208747 - 67013564	0,31	6,86	7,29
	<b>3</b>	4	23004829	23000445 - 23005504	-0,25	4,32	4,96
	<b>4</b>	9	561691	154394 - 1077436	-0,25	4,50	4,92
	<b>5</b>	9	59029924	54462237 - 59620215	-0,34	7,99	8,79
<b>MSPA (g)</b>	<b>1</b>	9	56786861	48716753 - 57337478	3,30 x 10 <sup>-03</sup>	8,21	7,22
<b>MSR (g)</b>	<b>1</b>	2	59178672	59178617 - 59180393	-1,70 x 10 <sup>-03</sup>	4,70	4,98
	<b>2</b>	2	65810719	62843403 - 66353492	1,80 x 10 <sup>-03</sup>	5,36	5,67
	<b>3</b>	9	57236934	56467511 - 57337478	-3,00 x 10 <sup>-03</sup>	15,05	15,03
<b>CPPA (g)</b>	<b>1</b>	2	64610524	64294802 - 67470147	3,50 x 10 <sup>-03</sup>	4,82	4,70
	<b>2</b>	9	57240361	56786861 - 57240369	-0,01	11,30	10,64
<b>CPR (g)</b>	<b>1</b>	1	8078100	5975693 - 10582716	0,01	5,65	5,95
	<b>2</b>	2	65317168	64342146 - 68401773	0,01	6,85	7,17
	<b>3</b>	9	56874994	56779683 - 57236934	-0,01	11,23	11,44

<sup>1</sup>DM - Diâmetro médio; AS-Área de superfície total; AS2-Área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm; C.Específico-Comprimento específico; Comp. 1 – Componente principal 1; Comp. 2 – Componente principal 2; MSPA – Matéria seca da parte aérea; MSR – Matéria seca da raiz; CPPA – Conteúdo de fósforo parte aérea; CPR – Conteúdo de fósforo raiz. Ressalta-se que com exceção das características Comprimento, AS, DM, AS1 e C. Específico às demais foram transformadas utilizando a raiz quadrada, durante a análise estatística para obtenção das médias BLUP.

No cromossomo 1 foram identificados QTLs para as características CPG, CPTOTAL, QUTIL, EAQ, EUTIL, DM, Comp. 2 e CPR, sendo que o QTL localizado na posição de 8078100 pb foi identificado na análise de mapeamento para EAQ e CPR, com valores para a razão entre a variância do QTL e a variância fenotípica de 6,36% e 5,65%, respectivamente. Ressalta-se que os alelos dos QTLs para essas duas características, EAQ e CPR, foram doados pelo genitor BR007B (sinal positivo para o efeito do QTL).

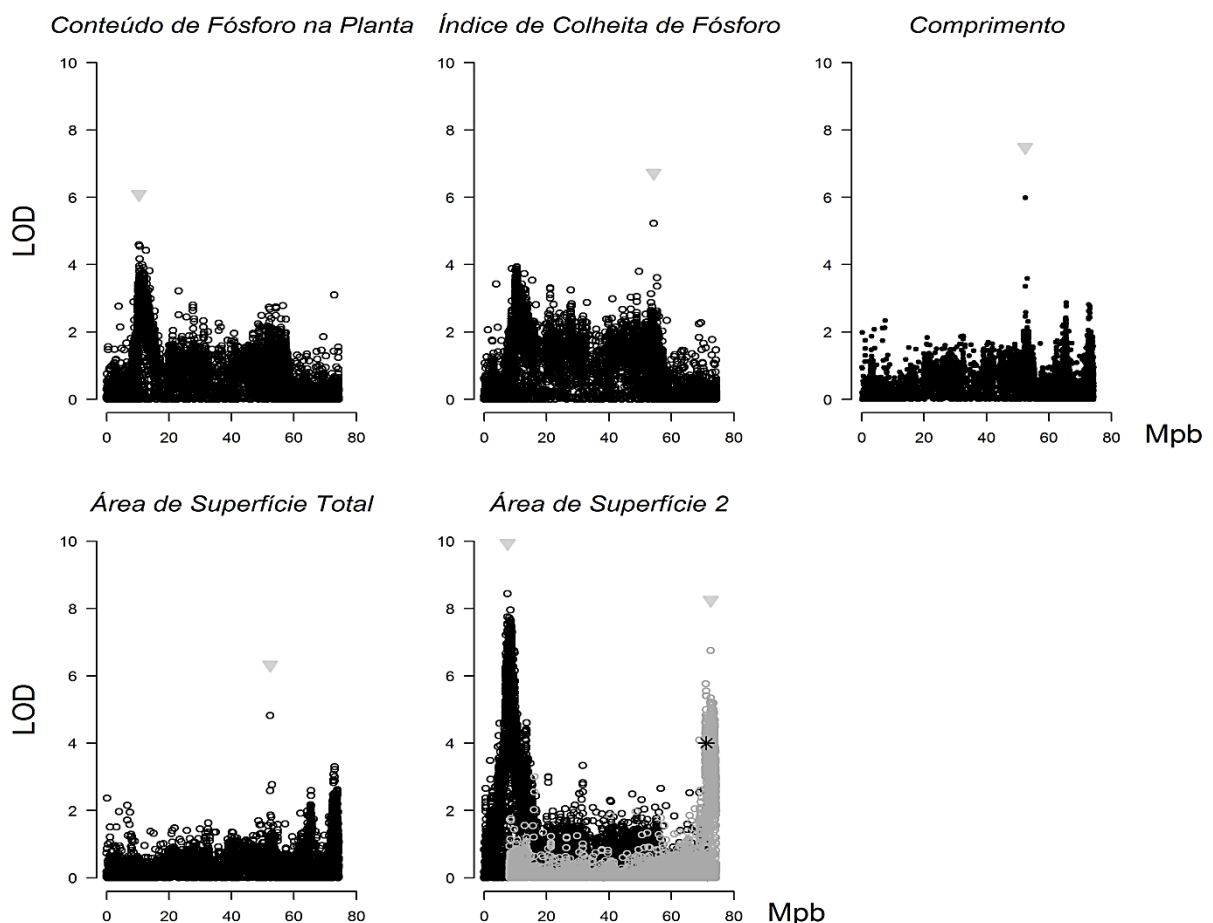
As características QUTIL, EUTIL, DM, AS2, C.Específico, Comp. 1, Comp. 2, PSR, CPPA, CPR tiveram QTLs mapeados no cromossomo 2, sendo que, novamente DM (alelo doado pelo SC283) e Comp. 2 (alelo doado pelo BR007B) tiveram QTLs mapeados na mesma posição (65500000 pb), mas com sinais contrários (efeito positivo para DM e negativo para Comp. 2). Ressalta-se que das dez características mapeadas para as quais foram identificados QTLs nesse cromossomo, sete (DM, AS2, C.Específico, Comp. 1, Comp. 2, MSR e CPR) estão relacionadas ao sistema radicular, e com QTLs em um intervalo de 59178617 pb a 66353492 pb, o que indica que nessa região do cromossomo 2 pode haver algum gene associado ao sistema radicular do sorgo, em condições de baixa disponibilidade de P.

No cromossomo 3 (FIGURA 2), foram identificados QTLs para CPPLANTA (10289979 pb), ICP (54244827 pb), Comprimento (52338049 pb), AS (52338049 pb), e AS2 (7463560 pb e 72581671 pb). Esses QTLs estão próximos aos homólogos do gene *PSTOLI* em sorgo, os quais segundo Hufnagel et al. (2014) situam-se nas posições de aproximadamente 7 Mpb e 60 Mpb do cromossomo. Ressalta-se que o gene *PSTOLI* está relacionado à maior eficiência no uso de fósforo em arroz, uma vez que confere alterações no sistema radicular, como o aumento no crescimento de raízes iniciais (GAMUYAO et al., 2012).

Destaca-se que, para a característica Área de superfície 2 (área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm), foram identificados QTLs próximos aos dois homólogos do gene *PSTOLI*, nas posições 7,46 Mpb e 72,58 Mpb, sendo ambos QTLs com alelos favoráveis doados pelo genitor BR007B. Além disso, um desses QTLs foi identificado próximo ao gene *Alt<sub>SB</sub>*, para o qual foi mapeado um SNP, que explicou cerca de 12% da variabilidade para tolerância ao alumínio na posição 71143626 pb (CANIATO et al., 2014), esse indicado por um asterisco, no gráfico para área de superfície 2, da Figura 2. Esse gene é um membro da família *MATE* (*Multidrug and Toxic Compound Extrusion*) e condiciona tolerância ao alumínio tóxico, em sorgo, por codificar no ápice radicular um transportador de membrana alumínio-ativado para citrato (MAGALHÃES et al., 2007), o qual liga-se ao cátion

de alumínio ( $Al^{3+}$ ), tornando-o um composto estável não tóxico (MA; RYAN; DELHAIZE, 2001). Fato, este relevante, pois assim com discutido por Lambers et al. (2006), ácidos orgânicos, como o citrato, são capazes de mobilizar o fósforo orgânico e inorgânico retido nas partículas do solo, liberando-os para que ou passe por um processo de hidrólise e seja absorvido (P – orgânico), ou seja, diretamente absorvido (P – inorgânico) pela planta. Logo, é possível que em algumas RILs, a eficiência de aquisição de fósforo, seja potencializada pela presença de alelos favoráveis para o gene *Alt<sub>SB</sub>*, uma vez que os genitores são contrastantes para presença de alelos dos dois genes, acima, discutidos.

Além disso, os QTLs para comprimento, AS e ICP, sendo que o último corresponde à razão entre o conteúdo de fósforo no grão e o conteúdo de fósforo total, foram mapeados em um intervalo de aproximadamente 2 Mbp, e os alelos favoráveis desses QTLs foram derivados do genitor SC283.



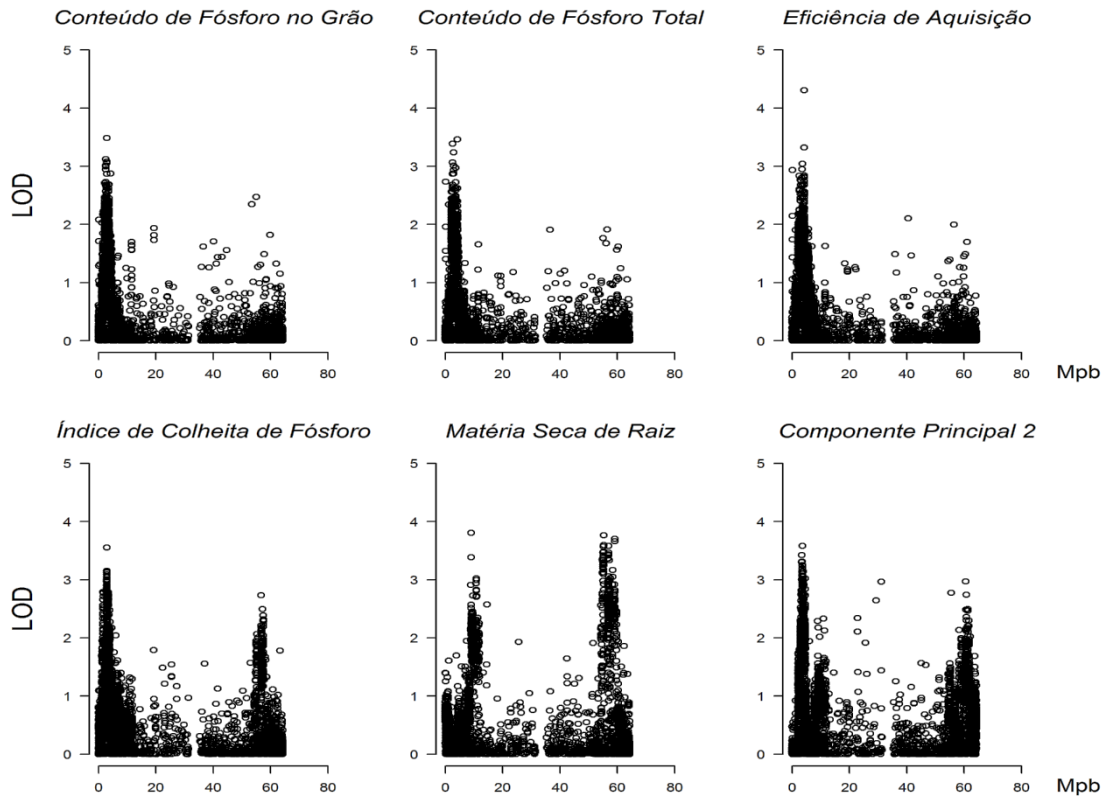
**FIGURA 2.** Resultado da análise de mapeamento para a população de RILs obtida através do cruzamento entre os genitores BR007B e SC283, em condições de baixa disponibilidade de fósforo em campo e em solução nutritiva, para o cromossomo 3. Os triângulos invertidos, de cor cinza, indicam picos significativos para o efeito de QTLs. A área em cinza indica que duas análises distintas de QTLs foram realizadas, uma para o QTL no início do cromossomo, considerando o segundo QTL como cofator, e outra, para o segundo QTL, utilizando o primeiro como cofator. O asterisco ao final do gráfico para área de superfície 2 corresponde a posição do SNP mapeado dentro do gene *Alt<sub>SB</sub>*, de acordo com Caniato et al.(2014).

No cromossomo 4, foram identificados QTLs para ProdG, CPG, CPTOTAL, EAQ, EUSO, C. Específico e Comp. 2, sendo que os QTLs para CPTOTAL e EAQ foram localizados na mesma posição (60935352 pb). Ressalta-se que os QTLs para ProdG, CPG, CPTOTAL, EAQ, EUSO foram mapeados no intervalo entre 57612641 bp e 62021131 bp, com alelos favoráveis doados pelo BR007B. Já quanto ao C.Específico (razão entre comprimento radicular e matéria seca da raiz) e Comp.1 os efeitos dos QTLs associados a essas características foram devido a alelos doados pelo genitor SC283.

No cromossomo 5 foram identificados QTLs para Comprimento, AS, AS2 e Comp.1, nas posições 1162360 pb, 11623602 pb, 1972667 pb e 11623602 pb, respectivamente, o que sugere que todas essas características, com exceção de AS2, podem estar sendo controladas por um mesmo QTL. O fato das características Comprimento e AS apresentarem-se altamente correlacionados (99%), e o Comp.1 da análise de PCA ter uma ponderação semelhante para essas duas características (-0,5003 e -0,5149), como exposto no Capítulo 1, podem ser evidências de um controle genético pleiotrópico.

No cromossomo 6 foram identificados QTLs para ProdG, CPG, CPTOTAL e EUSO, sendo que os QTLs para ProdG e EUSO foram identificados na mesma posição, 59518519 pb, e a uma distância inferior a 1 Mpb das demais características mapeadas nesse cromossomo. Sabadin et al. (2012) também identificaram QTLs para produção de grãos no cromossomo 6, sendo que os mais próximos aos QTLs identificados no presente estudo situaram-se no intervalo flanqueado pelos marcadores Xtxp145 e sBp8928, nas posições de 49,29 Mpb e 50,15 Mpb, de acordo com a versão 1.4 do genoma do sorgo disponibilizado no banco de dados online *Phytozomev9.1*.

Para o cromossomo 7, não foram identificados QTLs significativos, no entanto foram visualizados picos que sugerem a existência de um QTL no início desse cromossomo para as características: Componente principal 2, Conteúdo de fósforo no grão, Conteúdo de fósforo total, Eficiência de aquisição, Índice de colheita de fósforo e Matéria seca da raiz (FIGURA 3). Tal fato pode indicar um possível QTL nessa região, uma vez Hufnagel et al. (2014) relataram a presença de um dos homólogos, no sorgo, para o gene *PSTOL1* no cromossomo 7 na região por volta de 3 Mpb.

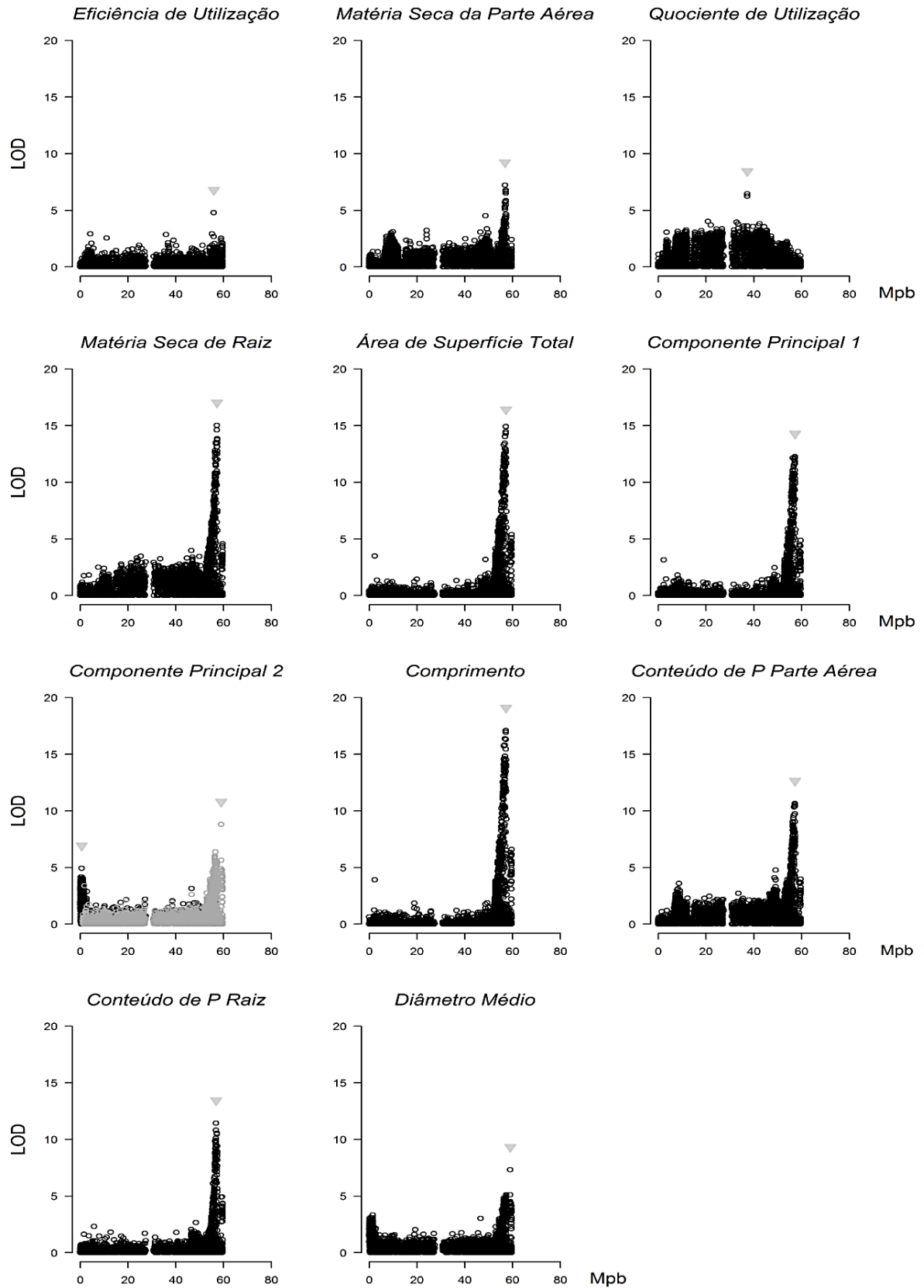


**FIGURA 3.** Resultado da análise de mapeamento, por meio do método MIM, para a população de RILs obtida através do cruzamento entre BR007B e SC283, em condições de baixa disponibilidade de fósforo em campo e em solução nutritiva, para o cromossomo 7.

Deve-se destacar que, apesar de não significativo, o pico mapeado para EAQ no início do cromossomo 7 corresponde à região na qual está localizado um dos homólogos para o gene *PSTOL1*. Esta característica está relacionada à capacidade do material em adquirir o fósforo disponibilizado no solo, e tem acentuada importância relativa na EUSO, a qual mede a capacidade do material em converter o fósforo disponibilizado em grãos. Este fato pode indicar que o homólogo do gene *PSTOL1*, o qual em arroz possibilita o aumento da produção de grãos por meio de alterações no sistema radicular, desempenha o mesmo papel no sorgo.

Com relação ao cromossomo 8, foram identificados QTLs para as características ProdG, CPG e EUSO nas posições 51848828 pb, 52073289 pb e 53192849 bp, respectivamente. Ressalta-se que o QTL para produção de grãos foi localizado dentro do intervalo delimitado pelos marcadores Xtxp321 (50,51 Mpb) e sPb4546 (52,02 Mpb), os quais flanquearam o QTL encontrado por Sabadin et. al (2012) para produção de grãos nesse mesmo cromossomo. Ressalta-se que devido à proximidade das posições dos QTLs, e pelo fato de serem características dependentes quanto aos cálculos para obtê-las, é provável que as três características sejam controladas pelo mesmo QTL.

Quanto ao cromossomo 9, de todas as 20 características mapeadas, 11 apresentaram QTLs nesse cromossomo, sendo elas: área de superfície total, componente principal 1, componente principal 2, comprimento, conteúdo de fósforo na parte aérea, conteúdo de fósforo na raiz, diâmetro médio, eficiência de utilização, matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz e coeficiente de utilização (FIGURA 4). Outros trabalhos já relataram QTLs identificados para diferentes características nesse mesmo cromossomo em sorgo, por exemplo: produção de grãos e *staygreen* (SABADIN et al., 2012), florescimento (SABADIN et al., 2012; HIGGINS et al., 2014) e altura de planta (BROWN et al., 2008; SABADIN et al., 2012; HIGGINS et al., 2014); o que sugere que no cromossomo 9 pode existir uma região regulatória para a expressão de genes que controlam características de interesse agrônomo em sorgo. Ressalta-se que o QTL mapeado por Brown et al. (2008) para altura, no intervalo entre 57 Mpb e 59 Mpb, e por Higgins et al. (2014) para florescimento e altura, ~59 Mpb e ~ 57 Mpb, respectivamente, foram identificados em regiões semelhantes dos QTLs mapeados nesse trabalho para o cromossomo 9. Além disso, os efeitos dos QTLs mapeados para as características QUTIL, comprimento, AS, Comp. 2, MSR, CPPA, CPR foram devido ao alelo doado pelo genitor SC283. Com exceção do QTL detectado na posição 37288567 pb para QUTIL, os demais foram mapeados no intervalo entre 56779683 pb e 59620215 pb.



**FIGURA 4.** Resultado da análise de mapeamento para a população de RILs obtida através do cruzamento entre BR007B e SC283, em condições de baixa disponibilidade de fósforo em campo e em solução nutritiva, para o cromossomo 9. Os triângulos invertidos, de cor cinza, indicam picos significativos para o efeito de QTLs. A área em cinza indica que duas análises distintas de QTLs foram realizadas, uma para o QTL no início do cromossomo, considerando o segundo QTL como cofator, e outra, para o segundo QTL, utilizando o primeiro como cofator.

Deve-se destacar que dos 57 QTLs mapeados, 26 apresentaram alelos favoráveis vindo do genitor BR007B, e 31 do SC283. Com base neste fato, pode-se considerar que os genitores BR007B e SC283 apresentam-se equilibrados quanto ao número de alelos favoráveis para os QTLs identificados no presente trabalho. No entanto, quando os resultados do estudo de QTLs são interpretados separadamente para os dados de campo e solução nutritiva, verifica-se que em ambos o genitor SC283 apresentou maior contribuição de alelos favoráveis. Nos experimentos em campo, dos 25 QTLs mapeados, 12 tiveram efeitos em função do alelo doado pelo BR007B, e 13 em função do alelo doado pelo SC283.

Já para os experimentos em solução nutritiva, a quantidade de efeitos devido aos alelos doados pelo BR007B e ou pelo SC283 foram, respectivamente, 14 e 18, totalizando 32 QTLs. Essa diferença pode ser justificada pelo fato do SC283, como indicado no Capítulo 1 e abordado na literatura (SCHAFFERT et al., 2001), ser mais eficiente em ambientes com baixa disponibilidade de fósforo do que o BR007B. Logo, condições de estresse desse nutriente podem favorecer a expressão de alelos vindos do SC283 em detrimento de alelos doados pelo outro genitor, já que em campo e em solução nutritiva com baixa disponibilidade de fósforo, o SC283 apresentou médias superiores ao BR007B para a maior parte das características avaliadas, por exemplo: ProdG, CPPLANTA, CPG, CPTOTAL, ICP, EAQ, EUTIL, EUSO, DM, AS2, MSPA, MST e CPPA.

Por fim, para produção de grãos, que é a característica, de interesse agrônômico, mais afetada pelo estresse de fósforo, dos três QTLs identificados, um apresentou alelo favorável vindo do genitor BR007B, e dois com alelos favoráveis doados pelo SC283, genitor que apresentou média de produção estatisticamente superior ao BR007B, nos experimentos em campo, com baixa disponibilidade de fósforo. Assim, como exposto anteriormente, os QTLs para produção foram detectados nos cromossomos 4, 6 e 8, com efeitos de 60,12, -57,71 e -61,21, respectivamente, o que representa um aumento na produção de grãos de 60,12 kg.ha<sup>-1</sup> devido a cada alelo doado pelo BR007B, de 57,71 kg.ha<sup>-1</sup> e 61,21 kg.ha<sup>-1</sup> para cada um dos alelos doados pelo SC283, o que totaliza em um aumento de produção de 358,08 kg.ha<sup>-1</sup> quando considerado a soma dos efeitos dos seis alelos em questão (dois alelos para cada QTL mapeado).

## 4 CONCLUSÕES

Mediante o que foi discutido acima, foram encontrados indícios de que modificações no sistema radicular podem estar associadas à EUSO e, conseqüentemente, à produção de grãos (característica mais afetada pelo estresse de fósforo) em situações de baixa disponibilidade de fósforo. Tais como: QTLs co-localizados para CPR e EAQ; e prováveis picos de QTLs no início do cromossomo 7, região onde se encontra um homólogo do gene *PSTOLI*, para características associadas à eficiência no uso de fósforo (CPG, CPTOTAL, EAQ, ICP), e também, à morfologia radicular (MSR, Comp. 2).

Além disso, pode-se concluir que, em situações de baixa disponibilidade de fósforo, tanto os alelos vindos do BR007B, quanto os doados pelo SC283 contribuem para uma resposta ao estresse. E que, apesar da pouca diferença entre os genitores quanto ao número de alelos favoráveis para os QTLs identificados no presente estudo, observou-se uma maior contribuição do genitor SC283, o que pode ser devido a seu melhor desempenho produtivo em ambientes com baixa disponibilidade de fósforo, quando comparado ao genitor BR007B.

Ainda deve-se destacar que na população de RILs estudadas podem ser encontradas linhagens que além de eficientes na aquisição de fósforo, tem essa característica atenuada por alelos favoráveis para o gene *Alt<sub>SB</sub>*, no entanto, são necessários mais estudos para que essa hipótese seja confirmada.

## 5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BRIM, C. A. A modified pedigree method of section in soybeans. **Crop Science**. vol. 6, March/April. 1996.
- BROWN, P. J.; ROONEY, W. I.; FRANKS, C.; KRESOVICH, S. Efficient mapping of plant height quantitative trait loci in sorghum association population with introgressed dwarfing genes. **Genetics**. p. 629-637, September, 2008.
- CANIATO, F. F.; HAMBLIN, M. T.; GUIMARÃES, C. T.; ZHANG, Z.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L. V.; MAGALHÃES, J. V. Association mapping provides insights into the origin and fine structure of the sorghum aluminum tolerance locus, *Alt<sub>SB</sub>*. **Plos One**. v. 9, p. 1-12, January, 2014.
- COLLARD, B. C. Y.; JAHUFER, M. Z. Z.; BROUWER, J. B.; PANG, E. C. K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. **Euphytica**. v. 142, p. 169-196, January, 2005.
- CHO, R. J.; MINDRINOS, M.; RICHARDS, D. R.; SAPOLSKY, R. J.; ANDERSON, M.; DRENKARD, E.; DEWDNEY, J.; REUBER, T. L.; STAMMERS, M.; FEDERSPIEL, N.; THEOLOGIS, A.; YANG, W. H.; HUBBELL, E.; AU, M.; CHUNG, E. Y.; LASHKARI, D.; LEMIEUX, B.; DEAN, C.; LIPSHUTZ, R. J.; AUSUBEL, F. M.; DAVIS, R. W.; OEFNER, P. J. Genome mapping with biallelic markers in *Arabidopsis thaliana*. **Nature Genetics**. v. 23, October. 1999.
- EDWARDAS, M. D.; STUBER, C. W.; WENDEL, J. F. Molecular marker facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. (I. Numbers, genomic distribution and types of gene action) **Genetics**. p. 113-125, May, 1987.
- ELSHIRE, R. J.; GLAUBITZ, J. C.; SUN, Q.; POLAND, J. A.; KAWAMOTO, K.; BUCKLER, E. S.; MITCHELL, S. E. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. **Plos One**. v. 6, n. 5. May. 2011.
- GAMUYAO, R.; CHIN, J. H.; PARIASCA-TANAKA, J.; PESARESI, P.; CATAUSAN, S.; DALID, C.; LOEDIN, I. S.; TECSON-MENDOZA, E. M.; WISSUWA, M.; HEUER, S. The protein kinase Pst11 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. **Nature**. v. 488. August. p. 535 – 539. 2012.
- GRODZICKER, T.; ANDERSON, C.; SHARP, P. A.; SAMBROOK, J. Conditional lethal mutants of adenovirus 2-simian virus 40 hybrids (I. host range mutants of Ad2<sup>+</sup>ND1. **Journal of Virology**. v. 13, n. 6, p. 1237-1244, 1974.
- HACKETT, C. A.; MCLEAN, K.; BRYAN, G. J. Linkage analysis and QTL mapping using SNP dosage data in tetraploid potato mapping population. **Plos One**. vol. 8, May. 2013.
- HALEY, C. S.; KNOTT, S. A. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. **Heredity**. p. 315-324, 1992.

HIGGINS, R. H.; THURBER, C. S.; ASSARANURAK, I.; BROWN, P. J. Multiparental mapping of plant height and flowering time QTL in partially isogenic sorghum families. **G3: Genes, Genomes, Genetics**. vol. 4, p. 1593-1602, September, 2014.

HUFNAGEL, B.; SOUSA, S. M.; ASSIS, L.; GUIMARÃES, C. T.; LEISER, W.; CORRADI, G.; NEGRI, B.; LARSON, B. G.; SHAFF, J. E.; PASTINA, M. M.; WELTZIEN, E.; RATTUNDE, F.; VIANA, J. H.; CLARK, R.; FALCÃO, A.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L. V.; MAGALHÃES, J. V. Duplicate and conquer: multiple homologs of phosphorus-starvation tolerance 1 enhance phosphorus acquisition and sorghum performance on low-P soils. **Plant Physiology**. September, 2014.

Illumina, Inc., San Diego, CA – **Illumina sequencing technology**. Disponível em: <[http://res.illumina.com/documents/products/techspotlights/techspotlight\\_sequencing.pdf](http://res.illumina.com/documents/products/techspotlights/techspotlight_sequencing.pdf)>. Acesso em: 12 November. 2014.

ISHIKAWA, G.; NAKAMURA, K.; ITO, H.; SAITO, M.; SATO, M.; JINNO, H.; YOSHIMURA, Y.; NISHIMURA, T.; MAEJIMA, H.; UEHARA, Y.; KOBAYASHI, F.; NAKAMURA, T. Association mapping and validation of QTLs for flour yield in the soft winter wheat variety kitahonami. **Plos One**. v. 9, n. 10, October, 2014.

JANSEN, R. C.; STAM, P. High resolution quantitative traits into multiple loci via interval mapping. **Genetics**. p. 1447-1455, April, 1994.

KAO, C. A.; ZENG, Z. B.; TEASDALE, R. D. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**. p. 1203-1216, July, 1999.

LAMBERS, H.; SHAME, M. W.; CRAMER, M. D.; PEARSE, S. J.; VENEKLAAS, E. J. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. **Annals of Botany**. p. 693-713, 2006.

LANA, U. G. P.; GOMES, P. C.; TINOCO, C. F. S.; OLIVEIRA, B. C. F. S.; GUIMARÃES, C. T.; MAGALHÃES, J. V. **Procedimento da Embrapa Milho e Sorgo para extração de DNA de tecido vegetal em larga escala**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 2010. Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2010/documento/Doc\\_104.pdf](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2010/documento/Doc_104.pdf)>. Acesso em: 12 nov. 2014.

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

LYNCH, J. P. Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. **Plant Physiology**. v. 156, p. 1041-1049, July, 2011.

MA, J. F.; RYAN, P. R.; DELHAIZE, E. Aluminum tolerance in plants and the complexing role of organic acids. **Trends in Plant Science**. v. 6, n. 6, p. 273-278, June, 2001.

MAGALHÃES, J. V.; LIU, J.; GUIMARÃES, C. T.; LANA, U. G. P.; ALVES, V. M. C.; WANG, Y. H.; SCHAFFERT, R. E.; HOEKENGA, O. A.; PIÑEROS, M. A.; SHAFF, J. E. KLEIN, P. E.; CARNEIRO, N. P.; COELHO, C. M.; TRICK, H. N.; KOCHIAN, L. N. A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum. **Nature Genetics**. v. 39, n. 9. September. p. 1156-1162, 2007.

Phytozome v 9.1. Disponível em: <<http://www.phytozome.net/sorghum>>.

R Core Team (R version 3.1.1). **The R project for statistical computing**. Disponível em:<<http://www.r-project.org/index.html>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

SABADIN, P. K. et al. Studying the genetic basis of drought tolerance in sorghum by managed stress trial and adjustments for phenological and plant height differences. **Theoretical and applied genetics - TAG**. 124: p. 1389-1402, 2012.

SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C.; PITTA, G.; BAHIA, A.; SANTOS, F. Genetic variability in sorghum for efficiency and responsiveness. In: **Developments in Plant and Soil, Symposium**. Plant nutrition: food security and sustainability of agro-ecosystems. Netherlands: Academics, 2001. p. 72-73.

SCHUSTER, I.; CRUZ, C. D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2008.

SILVA, L. D. C. E.; WANG, S.; ZENG, Z.-B. Multiple trait multiple interval mapping of quantitative trait loci from inbred line crosses. **Bmc Genetics**. v. 13, Agosto, 2012. ISSN1471-2156.

STAUFFER, M. D.; SULEWSKI, G. Fósforo – Essencial para a vida. In: ABDALLA, S. R. S.; YAMADA, T. (Ed). **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do fosfato, 2004. p. 1-10.

TEASDALE, R. D. **Method of random amplification of polymorphic DNA**, 1994. Disponível em:< <http://www.google.com.br/patents/WO1994024307A1?cl=en>>. Acesso em: 31 out. 2014.

UPADHYAYA, H. D.; WANG, Y. H.; GOWDA, C. L. L.; SHARMA, S. Association mapping of maturity and plant height using SNPs markers with the sorghum mini core collection. **TAG – Theoretical and Applied Genetics**. v.126, n. 8, p. 2003-2015, May, 2013.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T. V.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprint. **Nucleic Acids Research**. v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.

WU, J.; LI, L. T.; LI, M.; KHAN, M. A.; LI, X. G.; CHEN, H.; YIN, H.; ZHANG, S. L. High density genetic linkage map construction and identification of fruit related QTLs in pear using SNP and SSR markers. **Journal of Experimental Botany**. v. 65, n. 20, p. 5771-5781, 2014.

YE, C.; ARGAYOSO, M.; REDOÑA, E. D.; SIERRA, S.; LAZA, M. A.; DILLA, C. J.; MO, Y.; THOMSON, M. J.; CHIN, J.; DELAVIÑA, C. B.; DIAZ, G. Q.; HERNANDEZ, J. Mapping QTL for heat tolerance at flowering stage in rice using SNP markers. **Plant Breeding**. 2011.

ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**. p. 1457-1468, April, 1994.

ZHANG, X.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, P.; SEMAGN, K.; BEYENE, Y.; BABU, R.; LÓPEZ-CRUZ, M. A.; SAN VICENTE, F.; OLSEN, M.; BUCKLER, E.; JANNINK, J. L.; PRASANNA, B. M.; CROSSA, J. Genomic prediction in biparental tropical maize population in water-stressed and well-watered using low density and GBS SNPs. **Heredity**. p. 1-9, 2014.

ZOU, F.; FINE, J. P.; HU, J.; LIN, D. Y. An efficient resampling method for assessing genome wide statistical significance in mapping quantitative trait loci. **Genetics**. p. 2307-2316, December. 2004.

## CONCLUSÕES GERAIS

Devido ao que foi discutido, pode-se concluir que nas RILs, derivadas dos genitores BR007B e SC283, há variabilidade genética para características relacionadas à eficiência no uso de fósforo, como produção de grãos, eficiência de aquisição e eficiência de utilização, bem como, para morfologia do sistema radicular.

Possivelmente, há uma associação entre sistema radicular e eficiência no uso de fósforo, em condições de baixa disponibilidade desse nutriente, devido as seguintes constatações: existência de correlação positiva entre conteúdo de fósforo no grão (CPG) e matéria seca da raiz (MSR); QTLs mapeados para eficiência de aquisição (EAQ) e conteúdo de fósforo na raiz (CPR), no cromossomo 1, na posição de 8078100 pb; QTLs próximos aos homólogos do gene *PSTOLI*; e picos de QTLs no início do cromossomo 7 para conteúdo de fósforo no grão (CPG), conteúdo de fósforo total (CPTOTAL), eficiência de aquisição (EAQ) e índice de colheita de fósforo (ICP).

Além disso, devido aos 12 QTLs identificados no cromossomo 9, para 11 características distintas, dos quais 10 foram detectados no intervalo entre 55822547 pb e 59620215 pb, torna-se relevante um estudo mais detalhado desse cromossomo.