

Escaneamento Genômico para Tolerância à Seca em Sorgo



ISSN 1679-0154
Dezembro 2016

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 152

Escaneamento Genômico para Tolerância à Seca em Sorgo

Jurandir Vieira Magalhães
Maria Marta Pastina
Rodrigo Gazaffi
Cícero Beserra de Menezes
João R Bacheга F. Rosa
Antônio Augusto Franco Garcia
Claudia Teixeira Guimarães
Flavio Dessaune Tardin
Robert E Schaffert
Reinaldo Lucio Gomide
Camilo de Lelis T. de Andrade
Paulo Emílio P. Albuquerque
Edson Alves Bastos
Milton José Cardoso

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2016

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni
Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau
Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia Maria Borges Damasceno, Maria Lúcia Ferreira Simeone, Monica Matoso Campanha, Roberto dos Santos Trindade, Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros
Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro
Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa
Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa
Foto(s) da capa: Cícero Beserra de Menezes

1ª edição

Versão Eletrônica (2016)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Milho e Sorgo**

Escaneamento genômico para tolerância à seca em sorgo / Jurandir Vieira de Magalhães ... [et al.]. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2016.

22 p. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 152).

1. *Sorghum bicolor*. 2. Resistência a seca. 3. Genoma. 4. Mapeamento. I. Magalhães, Jurandir Vieira de. II. Série.

CDD 633.174 (21. ed.)

© Embrapa 2016

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Metodologia	9
Resultados e Discussão	13
Conclusões	19
Referências	19

Escaneamento Genômico para Tolerância à Seca em Sorgo

Jurandir Vieira Magalhães¹

Maria Marta Pastina²

Rodrigo Gazaffi³

Cícero Beserra de Menezes⁴

João R Bachega F. Rosa⁵

Antônio Augusto Franco Garcia⁶

Claudia Teixeira Guimarães⁷

Flavio Dessaune Tardin⁸

Robert E Schaffert⁹

Reinaldo Lucio Gomide¹⁰

Camilo de Lelis T. de Andrade¹¹

Paulo Emílio P. Albuquerque¹²

Edson Alves Bastos¹³

Milton José Cardoso¹⁴

Resumo

O sorgo é adaptado a ambientes extremos onde estresses abióticos como a seca limitam a produção de grãos e de biomassa, como nas vastas regiões do Cerrado brasileiro. Por

¹Eng.-Agrôn., PhD, Pesquisador em Genética Molecular e Genômica de Plantas, Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, 35701-970 Sete Lagoas, MG, jurandir.magalhaes@embrapa.br

²Eng.-Agrôn., Ph.D., Pesquisadora em Genética e Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, 35701-970 Sete Lagoas, MG, marta.pastina@embrapa.br

³Eng.-Agrôn., Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Genética, Avenida Pádua Dias, 11, Agronomia, CEP 13400970, Piracicaba, SP, Caixa Postal 83, rgazaffi@gmail.com

⁴Eng.-Agrôn., D.Sc. Genético e Melhoramento de Plantas, Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970 Sete Lagoas, cicero.menezes@embrapa.br

⁵Eng.-Agrôn., Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Genética, Avenida Pádua Dias, 11, Agronomia, CEP 13400970, Piracicaba, SP, Caixa Postal 83, jrbachega@gmail.com

⁶Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Genética, Avenida Pádua Dias, 11, Agronomia, CEP 13400970, Piracicaba, SP, Caixa Postal 83, aafgarci@gmail.com

⁷Eng.-Agrôn., D.Sc. em Melhoramento Genético Vegetal, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG, claudia.guimaraes@embrapa.br

⁸Eng.-Agrôn., D.Sc. em Produção Vegetal, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG, flavio.tardin@embrapa.br

⁹Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas, Geneticista, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG, robert.schaffert@embrapa

¹⁰Eng.-Agrôn., Ph.D. em Agricultura de Precisão, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG, reinaldo.gomide@embrapa.br

¹¹Eng.-Agrôn., Ph.D. em Irrigação e Drenagem, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG, camilo.andrade@embrapa.br

¹²Eng.-Agríc., D.Sc. em Irrigação e Drenagem, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG, paulo.albuquerque@embrapa.br

¹³Eng.-Agrôn., D. Sc. em Irrigação e Drenagem, pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Avenida Duque de Caxias, 5650, Buenos Aires, CEP 64006-220 Teresina, PI, edson.bastos@embrapa.br

¹⁴Eng.-Agrôn., D.Sc. em Fitorécia, pesquisador da Embrapa Meio Norte, Embrapa Meio Norte, Avenida Duque de Caxias, 5650, Buenos Aires, CEP 64006-220 Teresina, PI, milton.cardoso@embrapa.br

ser usado como alimento básico em regiões do mundo onde a produção de alimentos é ainda um desafio, o aumento da tolerância à seca em sorgo é importante para a segurança alimentar global, particularmente em um cenário de mudanças climáticas. Além disso, como o genoma do sorgo é menor e menos duplicado, em comparação com gramíneas como o milho e a cana-de-açúcar, o sorgo pode ser utilizado para elucidar os determinantes genéticos da tolerância à seca em outras espécies. Neste trabalho, o mapeamento associativo em escala genômica foi utilizado para a identificação de regiões genômicas associadas com características relacionadas com a tolerância à seca em dois ambientes, em Janaúba (MG) e em Teresina (PI). Um total de 265.587 marcadores SNP foram testados para associações com diferentes características em um painel de sorgo com 243 acessos. As estimativas de herdabilidade foram moderadas a altas e a redução máxima na produção de grãos causada pelo estresse de seca foi de 57% em Teresina. Os testes de associação com um modelo incorporando simultaneamente estrutura populacional e a matriz de relacionamento revelaram vários SNPs associados com diferentes características, alguns dos quais foram estáveis entre ambientes.

Termos para indexação: tolerância ao déficit hídrico, mapeamento associativo, tolerância a estresses abióticos

Genome-Wide Association Mapping for Drought Tolerance in Sorghum

Jurandir Vieira Magalhães¹

Maria Marta Pastina²

Rodrigo Gazaffi³

Cícero Beserra de Menezes⁴

João R Bacheга F. Rosa⁵

Antônio Augusto Franco Garcia⁶

Claudia Teixeira Guimarães⁷

Flavio Dessaune Tardin⁸

Robert E Schaffert⁹

Reinaldo Lucio Gomide¹⁰

Camilo de Lelis T. de Andrade¹¹

Paulo Emilio P. Albuquerque¹²

Edson Alves Bastos¹³

Milton José Cardoso¹⁴

Abstract

Sorghum is well adapted to harsh environments where abiotic stresses such as drought impair grain yield and biomass production as is the case in the vast regions of the Brazilian Cerrado area. Because sorghum is used as a staple food in many regions of the world where food production is still a challenge, enhancing sorghum drought tolerance is important for global food security, particularly in view of global climate changes. In addition, because the sorghum genome is smaller and less duplicated compared to grasses such as maize and sugarcane, it can serve as a model to dissect the genetic determinants of drought tolerance in other grass species. Here we used genome-wide association mapping to identify genome regions associated with drought tolerance traits in two different environments in Brazil, in Janaúba (MG) and Teresina (PI). A total of 265,487 SNP markers were tested for associations with different traits including grain yield under drought using a 243-member sorghum association panel. Trait heritabilities were moderate to high and maximum grain yield reduction of 57%

was observed in Teresina. Association mapping with a model jointly incorporating population structure and kinship detected several SNPs associated with different traits, some of which were stable across environments.

Index terms: drought tolerance, association mapping, abiotic stress tolerance

Introdução

A Tolerância à Seca em Sorgo

O sorgo é considerado um cereal que apresenta boa adaptação a ambientes extremos, como aqueles em que há ocorrência de seca (HARRIS et al., 2007). Considerando o seu genoma pequeno e menos duplicado em comparação a outras gramíneas (PATERSON et al., 2009), estudos de tolerância à seca em sorgo podem servir como base para a elucidação do controle genético da tolerância à seca em outras espécies de genoma mais complexo, como o milho e a cana-de-açúcar. Além disso, o desenvolvimento de cultivares de sorgo adaptadas ao estresse de seca contribui para a segurança alimentar mundial.

Em sorgo, o estresse de seca pode ocorrer nos períodos vegetativos iniciais, durante o desenvolvimento das panículas, e em pós-florescimento, no período entre o enchimento dos grãos e a maturidade fisiológica (ROSENOW; CLARK 1995; ROSENOW et al., 1997). No entanto, a fase mais crítica do estresse de seca é o pós-florescimento, podendo resultar em impactos negativos na produção da cultura.

O sorgo é considerado um dos cereais com maior tolerância à seca, o que se deve em parte a mecanismos como o *stay green*, que é caracterizado pela manutenção de caules e folhas verdes sob estresse de seca após o florescimento (SUBUDHI et al., 2000). A adaptação ao estresse de seca no pós-florescimento está relacionada com o fenótipo de *stay green* em sorgo. De fato, vários QTLs (do inglês, *Quantitative Trait Loci*) que controlam *stay green* foram identificados, que conferem efeitos positivos na produção de grãos sob seca (HARRIS et al., 2007). A fonte mais comum de *stay green* tem sido historicamente a linhagem BTx642 (inicialmente chamada de B35), pertencente à raça Durra. Estudos prévios identificaram quatro QTLs de efeito maior para *stay green*, designados *Stg1*, *Stg2*, *Stg3* e *Stg4* (revisado por SABADIN et al., 2012). *Stg1* e *Stg2* estão localizados no cromossomo 3 de sorgo, explicando 20 e 30% da variação fenotípica para a característica, respectivamente. *Stg3* está localizado no cromossomo 2 e *Stg4* no cromossomo 5, respondendo por 16 e 10% da variação fenotípica, respectivamente.

Um impacto positivo da seleção para *stay green* na produção de grãos em condições de seca foi relatado em diferentes estudos (BORRELL et al., 2000; JORDAN et al., 2003; KASSAHUN et al., 2009). Entretanto, poucos estudos relatam a colocalização de QTLs de produção de grãos com QTLs de *stay green*. O aprofundamento desses estudos é necessário para embasar futuros esforços de seleção assistida com base em *stay green* com vistas à maior produção de grãos de sorgo sob estresse de seca.

Uma população de linhagens recombinantes de sorgo, desenvolvida na Embrapa Milho e Sorgo, foi utilizada para

o mapeamento de QTLs relacionados à tolerância à seca em Janaúba (MG) (SABADIN et al., 2012). Os resultados, também descritos na Circular Técnica nº 182, indicaram um efeito de confundimento de características fenológicas (i.e. tempo de florescimento e altura de plantas) na detecção de QTLs de tolerância à seca. Os principais genes responsáveis por esse efeito foram o gene de maturidade, *Ma5*, bem como *Sb-HT9-1* e *Dw2*, que influenciam altura de plantas (SABADIN et al., 2012). Entretanto, QTLs de tolerância à seca, independentemente de fenologia, foram detectados nos cromossomos 2, 3, 6, 8 e 10 para produção de grãos e nos cromossomos 3, 4, 8 e 10 para *stay green*.

O objetivo do presente trabalho foi identificar regiões do genoma do sorgo associadas com características relacionadas à tolerância à seca via escaneamento genômico (i.e. *genome wide scan*) em um painel de sorgo de origem diversa. Sorgo é uma planta de dias curtos, portanto sensível ao fotoperiodismo, uma vez que noites longas são necessárias para o seu florescimento (em geral, a duração do dia deve ser menor do que 12 horas e 20 minutos para que haja florescimento). Por serem insensíveis ao fotoperiodismo e de porte baixo, muitas das linhagens do painel têm potencial como fontes de tolerância à seca, com pronta utilização no programa de melhoramento de sorgo da Embrapa Milho e Sorgo.

Metodologia

Material Genético

Linhagens utilizadas no programa de melhoramento de sorgo da Embrapa foram adicionadas a um subconjunto do painel

de associação descrito por CASA et al. (2008), que contém linhagens convertidas para insensibilidade ao fotoperiodismo e porte baixo. O painel final possui 243 linhagens de sorgo com porte 3-anão. Linhagens tropicais convertidas foram produzidas pela introgressão nas linhagens exóticas de regiões genômicas que conferem florescimento precoce e porte baixo (*dwarfing genes*), a partir de um doador elite (STEPHENS et al., 1967). As linhagens do painel foram selecionadas para representar de forma ampla a diversidade genética do sorgo cultivado. As linhagens de melhoramento são comumente utilizadas em programas de melhoramento de sorgo do Brasil e dos Estados Unidos.

Fenotipagem para a Tolerância à Seca

Os experimentos de tolerância à seca foram conduzidos em Janaúba (MG), nos anos de 2010 e 2012, e em Teresina (PI), em 2010. A área experimental de Janaúba (MG) está localizada a 15° 45' de latitude sul e 43° 16' de longitude oeste e 535,37 m de altitude, enquanto o sítio de Teresina (PI) localiza-se a 5° 05' de latitude sul, 42° 48' de longitude oeste e 74,4 m de altitude. Ambos os locais possuem estação chuvosa muito bem definida, possibilitando manejar a irrigação para imposição do estresse desejado. Os ensaios de Janaúba foram sempre realizados de maio a setembro, e os de Teresina de setembro a dezembro, que compreendem as épocas de seca nestas regiões.

Foram instalados experimentos em condições controle e sob estresse de seca em pós-florescimento. A irrigação foi aplicada duas vezes por semana, em sistema de aspersão com 12 m x 12 m (espaçamento entre aspersores) e 17 mm h⁻¹ de água. As condições controle foram obtidas pela aplicação de água, até

a maturação fisiológica dos grãos, para repor completamente a água perdida com base na taxa de evapotranspiração, pela equação modificada de Penman-Monteith. O estresse hídrico foi obtido com base na curva de retenção de água do solo, pela interrupção da irrigação na fase de emborrachamento das plantas, aproximadamente 12 dias antes do florescimento, de maneira que a água do solo fosse reduzida para uma condição de estresse hídrico após o florescimento.

Cada parcela consistiu de duas fileiras de 3 m, com 0,5 m entre fileiras e 10 plantas por metro. As 243 linhagens foram distribuídas em três ensaios de 81 linhagens por ensaio. Adotou-se o delineamento em látice triplo 9x9, com testemunhas adicionais. Os três ensaios de linhagens foram alocados de maneira justaposta em campo. Para que as comparações entre grupos pudessem ser realizadas, duas testemunhas em comum (ATF13B e ATF14B) foram adicionadas aos blocos do delineamento. Esta estrutura experimental foi repetida para as condições controle (com irrigação) e estresse hídrico. Foram avaliados produção de grãos (ton ha^{-1}), *stay green* (% de folhas verdes estimada visualmente, Tabela 1), altura de planta (média da distância entre a superfície do solo e a ponta da panícula) e florescimento (número de dias contados da emergência até 50% de florescimento (i.e., período no qual pelo menos 50% das plantas dentro de cada parcela apresentavam 50% de flores abertas).

Tabela 1. Escala de notas para avaliação da característica *stay green*.

Nota	Proporção de folhas vivas
1	0 - 20%
2	21 - 40%
3	41 - 60%
4	61 - 80%
5	81 - 100%

Genotipagem por Sequenciamento

A genotipagem do painel foi realizada por meio da tecnologia de genotipagem por sequenciamento (GBS, *Genotyping-by-Sequencing*, ELSHIRE et al., 2011). Os dados de marcadores estão publicamente disponíveis em <http://www.morrislab.org/data>. A imputação de dados perdidos foi feita utilizando-se o software NPUTE (ROBERTS et al., 2007). SNPs com frequência alélica mínima (*minor allele frequency*, MAF) < 5% foram excluídos das análises.

Análises Fenotípicas

Inicialmente, foram realizadas análises estatísticas individualizadas por localidade/ano e tratamento (estresse hídrico/controle), com o objetivo de avaliar a qualidade dos experimentos. O modelo para as análises individuais tendo genótipo como fator aleatório foi: *variável resposta = intercepto + látice + repetição dentro de látice + bloco dentro de repetição dentro de látice + genótipo + erro*. Em seguida, foi ajustado um modelo estatístico para a análise conjunta dos tratamentos controle e de estresse hídrico. Os modelos fenotípicos finais incluíram o efeito das testemunhas e as variáveis fenológicas,

altura de planta e florescimento, quando significativas, foram também incluídas como cofatores para produção de grãos como variável resposta. Foram obtidas médias ajustadas para as diferentes características fenotípicas. Essas análises foram feitas com o software GenStat (PAYNE et al., 2012).

Escaneamento Genômico

A análise de estrutura populacional foi feita pela estratégia de componentes principais (PRICE et al., 2006) e a matriz de parentesco (K) foi construída a partir do coeficiente de similaridade de Jaccard (JACCARD, 1901). Os estudos de escaneamento genômico foram conduzidos com o modelo misto para múltiplos locos descrito por Segura et al. (2010) utilizando o pacote R (www.r-project.org).

Resultados e Discussão

Um total de 265.487 SNPs distribuídos ao longo dos 10 cromossomos do sorgo (Tabela 2) foi utilizado para o escaneamento genômico. Cada cromossomo contém, em média, 26.549 SNPs, com densidade de um SNP para cada 2.545 pares-de-bases (pb). A maior saturação foi observada no cromossomo 1 (1 SNP/2.028 pb), que também apresentou a maior quantidade de SNPs (36.414) dentre todos os cromossomos. A menor densidade foi observada no cromossomo 7 (1 SNP/3.255 pb), que também apresentou a menor quantidade de SNPs (19.763).

Tabela 2. Distribuição dos marcadores nos dez cromossomos de sorgo. Densidade: número de SNPs/pares-de-bases (pb) do respectivo cromossomo. O comprimento físico de cada cromossomo está mostrado em mega pares-de-bases.

	Cromossomos										Média
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Comprimento	73,83	77,92	74,42	68,02	62,35	62,18	64,32	55,44	59,62	60,97	65,91
Marcadores	36.414	33.146	33.402	28.595	25.824	23.224	19.763	20.066	21.963	23.090	26.549
Densidade	2.028	2.351	2.228	2.379	2.414	2.678	3.255	2.763	2.715	2.641	2.545

A herdabilidade das diferentes características variou de 0,3 - 0,9, com valores mais baixos para produção de grãos (Tabela 3). A redução da produção de grãos foi máxima em Janaúba no ano de 2010, atingindo 57% de redução, e mínima em Teresina (2010). A redução de 23% de produção de grãos causada pelo estresse hídrico em Janaúba no ano de 2012 foi mais baixa do que em 2010.

A estrutura populacional é a principal causa de falsos-positivos nos estudos de mapeamento associativo, produzindo associações não aleatórias entre locos não fisicamente ligados a uma ou mais mutações causativas de um dado fenótipo. Esse problema pode ocorrer quando há divergência fenotípica entre subpopulações. Nesse caso, a presença de alelos de locos marcadores em maior frequência em uma dada população pode resultar em associações falsas, não relacionadas com ligação física com mutações causativas. Para correção de falsos positivos, a estrutura populacional foi investigada com base na análise de componentes principais. A proporção da variância explicada pelos componentes principais está mostrada na Figura 1.

Tabela 3. Herdabilidade e média para as características altura de planta (AP, em centímetros), florescimento (FLOR, em dias), produção de grãos (PG, em toneladas por hectare) e *stay green* (STG, TABELA 1), bem como redução da produção de grãos (%) causada pelo estresse hídrico nos diferentes ambientes. A herdabilidade foi estimada a partir dos modelos estatísticos individuais de cada experimento.

	CONTROLE				ESTRESSE HÍDRICO			
	Janaúba - 2010							
	AP	FLOR	PG	STG	AP	FLOR	PG	STG
h^2	0,64	0,69	0,42	-	0,64	0,78	0,33	0,37
Média	95,23	70,0	7,07	-	83,8	67,7	3,04	1,74
Redução de produção (%)	57							
	Janaúba - 2012							
	AP	FLOR	PG	STG	AP	FLOR	PG	STG
h^2	0,88	0,72	0,50	-	0,87	0,80	0,48	0,47
Média	115,7	63,8	4,51	-	108,4	60,8	3,47	2,77
Redução de produção (%)	23							
	Teresina - 2010							
	AP	FLOR	PG	STG	AP	FLOR	PG	STG
h^2	0,86	0,73	0,65	-	0,82	0,75	0,31	-
Média	93,8	59,7	3,22	-	96,3	55,9	3,03	-
Redução de produção (%)	6							

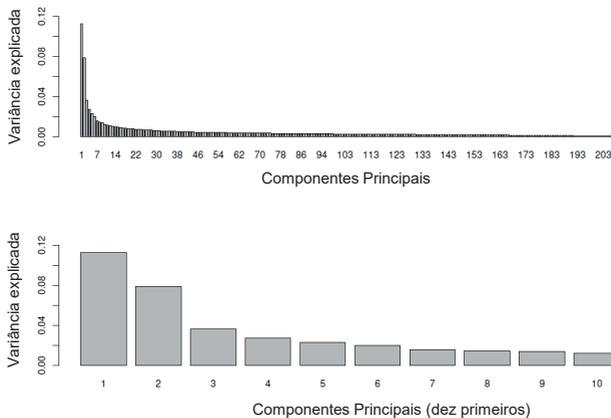


Figura 1. Variância explicada por 209 componentes principais e variância explicada pelos 10 primeiros componentes.

Nota-se que o primeiro componente principal explicou 11% de toda variação, enquanto o segundo e o terceiro explicaram 8% e 4%, respectivamente. Os demais componentes explicaram menos de 2% da variação. Os três primeiros componentes, que explicaram 23% da variância total, foram selecionados como cofatores nas análises preliminares de associação genômica, juntamente com a matriz de relacionamento.

Para todas as características fenotípicas, o mapeamento associativo foi realizado individualmente para cada ambiente (definido como a combinação de local, ano e condição hídrica), a partir da abordagem de modelos mistos, considerando-se um modelo genético-estatístico que incorpora, simultaneamente, múltiplos locos e a informação de estrutura populacional e relacionamento genético entre linhagens. Ao todo, 32 associações significativas foram detectadas (Tabela 4).

Tabela 4. Resultado do mapeamento associativo para *stay green*, tempo de florescimento, altura de plantas e produção de grãos. Para declaração dos SNPs significativos, foram considerados os seguintes critérios de correção para múltiplos testes: Bonferroni (*mBonf*) e informação Bayesiana expandida (*extBIC*) (SEGURA et al., 2010).

Variável	Local	Condição	<i>mBonf</i>	<i>extBIC</i>	
<i>Stay Green</i>	Janaúba-2010	estresse hídrico	S5_5036649 ¹	S5_5036649	
	Janaúba-2012	estresse hídrico	S5_9003461	S5_9003461	
Florescimento	Janaúba-2010	controle	S1_1218282	S1_1218282	
			S1_51420808	S1_51420808	
			S4_24022384	S4_24022384	
		estresse hídrico	S7_4093383	S7_4093383	
			S4_19795855	S4_19795855	
			-	S4_66346747	
	Teresina-2010	controle	-	S6_59063409	
			-	S10_8594712	
			S4_61518311	S4_61518311	
		estresse hídrico	S4_24022384	S4_24022384	
			-	S4_59925955	
			-	S8_53113582	
Altura de Plantas	Janaúba-2010	controle	S1_72994676	S1_72994676	
			-	S6_50623585	
	Janaúba-2010	estresse hídrico	S6_44564709	S6_44564709	
			S6_42677569	S6_42677569	
	Janaúba-2012	controle	S6_42677569	S6_42677569	
			S9_57240454	S9_57240454	
	Teresina-2010	controle	S9_56808675	S9_56808675	
			S6_44986404	S6_44986404	
		estresse hídrico	S9_58234581	S9_58234581	
			-	-	
	Produtividade	Janaúba-2010	controle	S6_58839242	S6_58839242
				estresse hídrico	S3_6320942
Janaúba-2012		controle	S2_59041556	-	
			S3_72285266	-	
			S4_53214655	-	
			S7_4371422	-	
			S9_1170675	-	
			S9_3654355	-	
			-	-	
			-	-	
Teresina-2010		estresse hídrico	S3_7293348	S3_7293348	

¹O nome do SNP indica a posição em que ele se localiza no genoma. Por exemplo, S5_5036649 localiza-se no cromossomo cinco, na posição 5.036.649 pares-de-bases.

Para florescimento, quatro SNPs (S1_1218282, S1_51420808, S4_24022384 e S7_4093383) foram detectados em experimentos sem estresse hídrico em Janaúba-2010, nos cromossomos um (dois SNPs, a uma distância de 50,2 Mpb), quatro e sete. Já para o mesmo local e ano, nos experimentos com estresse hídrico, foram identificados quatro SNPs (S4_19795855, S4_66346747, S6_59063409 e S10_8594712) nos cromossomos quatro, seis e dez. Em Teresina-2010, na condição sem estresse hídrico, foi identificado apenas um SNP significativo no cromossomo quatro (S4_61518311), enquanto que na condição com estresse hídrico foram detectados dois SNPs no cromossomo quatro (S4_24022384 e S4_59925955) e um SNP no cromossomo oito (S8_53113582). Vale ressaltar que o SNP S4_24022384, identificado no cromossomo quatro, manteve-se estável em diferentes locais e condições hídricas (Janaúba-2010, condição sem estresse hídrico; e Teresina-2010, condição com estresse hídrico). Para altura de plantas, foram identificados: dois SNPs (S1_72994676 e S6_50623585) para a condição sem estresse hídrico e um SNP (S6_44564709) para a condição com estresse hídrico em Janaúba-2010; dois SNPs, um no cromossomos seis (S6_42677569) e outro no cromossomo nove (S9_57240454) em Janaúba-2012, sendo que o primeiro deles foi observado nas condições com e sem estresse hídrico, e o segundo somente na condição com estresse hídrico; um SNP no cromossomo nove (S9_56808675) em Teresina-2010 na condição sem estresse hídrico, sendo que este SNP está a 0,43 Mpb do SNP S9_57240454 detectado em Janaúba-2012 para a condição com estresse hídrico; dois SNPs nos cromossomos seis (S6_44986404) e nove (S9_58234581) em Teresina-2010 na condição com estresse hídrico.

Para *stay green*, dois SNPs (S5_5036649 e S5_9003461) foram identificados em experimentos com estresse hídrico em Janaúba-2010 e Janaúba-2012, respectivamente. Ambos os SNPs estão localizados no cromossomo cinco, a uma distância de 3,97 mega pares de bases (Mpb). Finalmente, para produção de grãos, foram identificados dois SNPs nos cromossomos três (S3_6320942) e seis (S6_58839242) em Janaúba-2010 nas condições com e sem estresse hídrico, respectivamente. Em Teresina-2010, na condição com estresse hídrico, foi detectado um único SNP no cromossomo três (S3_7293348) a uma distância de 0,97 Mbp da região mapeada para Janaúba-2010, também para a condição com estresse hídrico. Em Janaúba-2012, na condição sem estresse hídrico, foram identificados seis SNPs significativos, sendo um SNP nos cromossomos dois (S2_59041556), três (S3_72285266), quatro (S4_53214655) e sete (S7_4371422), e dois SNPs no cromossomo nove (S9_1170675 e S9_3654355).

Conclusão

Com base nesses resultados, é possível observar que alguns SNPs apresentaram-se estáveis em ambientes distintos para uma mesma característica, sendo de grande utilidade para uso futuro em programas de seleção assistida para tolerância ao déficit hídrico em sorgo.

Referências

BORRELL, A. K.; HAMMER, G. L.; HENZEL, R. G. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 1037-1048, 2000.

CASA, M.; PRESSOIR, G.; BROWN, P. J.; MITCHELL, S. E.; ROONEY, W. L.; TUINSTRA, M. R.; FRANKS, C. D.; KRESOVICH, S. Community resources and strategies for association mapping in sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 48, p. 30-40, 2008.

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**, San Francisco, v. 6, p. 1-10, 2011.

HARRIS, K.; SUBUDHI, P. K.; BORRELL, A.; JORDAN, D.; ROSENOW, D.; NGUYEN, H.; KLEIN, P.; KLEIN, R.; MULLET, J. Sorghum stay-green QTL individually reduce post-flowering drought-induced leaf senescence. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 58, p. 327-338, 2007.

JACCARD, P. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura". **Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**, Lausanne, v. 37, p. 547-579, 1901.

JORDAN, D. R.; TAO, Y.; GODWIN, I. D.; HENZELL, R. G.; COOPER, M.; MCINTYRE, C. L. Prediction of hybrid performance in grain sorghum using RFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 106, p. 559-567, 2003.

KASSAHUN, B.; BIDINGER, F. R.; HASH, C. T.; KURUVINASHETTI, M. S. Stay-green expression in early generation sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) QTL introgression lines. **Euphytica**, Wageningen, v. 172, p. 351-362, 2009.

PATERSON, A. H.; BOWERS, J. E.; BRUGGMANN, R. et al. The sorghum bicolor genome and the diversification of grasses. **Nature**, London, v. 457, p. 551-556, 2009.

PAYNE, R.; MURRAY, D.; HARDING, S.; BAIRD, D.; SOUTAR, D. **Introduction to GenStat for Windows**. 15th. Hemel Hempstead: VSN International, 2012.

PRICE, A. L.; PATTERSON, N. J.; PLENGE, R. M.; WEINBLATT, M. E.; SHADICK, N. A.; REICH, D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. **Nature Genetics**, New York, v. 38, n. 8, p. 904-909, 2006.

ROBERTS, A.; McMILLAN, L.; WANG, W.; PARKER, J.; RUSYN, I.; THREADGILL, D. Inferring missing genotypes in large SNP panels using fast nearest-neighbor searches over sliding windows. **Bioinformatics**, v. 23, p. 401-407, 2007.

ROSENOW, D. T.; EJETA, G.; CLARK, L. E.; GILBERT, M. L.; HENZELL, R. G.; BORRELL, A. K.; MUCHOW, R. C. Breeding for pre- and post-flowering drought stress resistance in sorghum. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GENETIC IMPROVEMENT OF SORGHUM AND PEARL MILLET, 1996, Lubbock, Texas. **Proceedings...** Cali: ICRISAT/INTSORMIL, 1997. p. 400-411.

ROSENOW, D. T.; CLARK, L. E. Drought and lodging resistance for a quality sorghum crop. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM INDUSTRY RESEARCH CONFERENCE, 5., 1995, Chicago. **Proceedings...** Chicago: American Seed Trade Association, 1995. p. 82-97.

SABADIN, P. K.; MALOSETTI, M.; BOER, M. P.; TARDIN, F. D.; SANTOS, F. G.; GUIMARAES, 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.; EEUWIJK, F. A. van; 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**, Berlin, v. 124, p. 1389-1402, 2012.

SEGURA, V.; VILHJÁLMSSON, B. J.; PLATT, A.; KORTE, A.; SEREN, Ü.; LONG, Q.; NORDBORG, M. An efficient multi-locus mixed-model approach for genome-wide association studies in structured populations. **Nature Genetics**, New York, v. 44, p. 825-830, 2010.

STEPHENS, J.; MILLER, F.; ROSENOW, D. Conversion of alien sorghums to early combine genotypes. **Crop Science**, Madison, v. 7, n. 4, p. 396, 1967.

SUBUDHI, P. K.; ROSENOW, D. T.; NGUYEN, H. T. Quantitative trait loci for the stay green trait in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench): consistency across genetic backgrounds and environments. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 101, p. 733-741, 2000.

