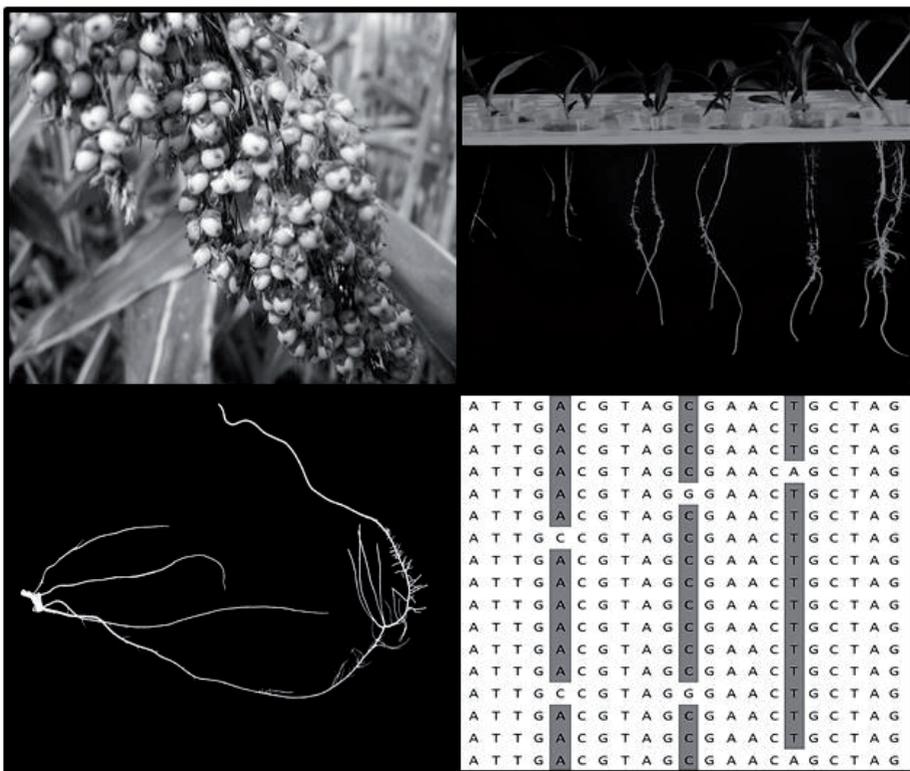


Caracterização de Uma População de Recombinação ao Acaso de Sorgo para a Tolerância ao Alumínio e Eficiência na Utilização de Fósforo



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 148

Caracterização de Uma População de Recombinação ao Acaso de Sorgo para a Tolerância ao Alumínio e Eficiência na Utilização de Fósforo

Karine da Costa Bernardino
Cicero Beserra de Menezes
Maria Marta Pastina
Sylvia Morais de Sousa
Claudia Teixeira Guimarães
Danuza Araújo de Souza
Robert Eugene Schaffert
Jurandir Vieira de Magalhães

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: Karine da Costa Bernardino e montagem: Sylvania Moraes de Sousa e

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

Caracterização de uma população de recombinação ao acaso de sorgo para a tolerância ao alumínio e eficiência na utilização de fósforo / Karine da Costa Bernardino... [et al.]. -- Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2016.
25 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1619-0154; 148).

1. *Sorghum bicolor*. 2. Marcador molecular. 3. Mutação. I. Bernardino, Karine da Costa. II. Série.

CDD 633.174 (21. ed.)

© Embrapa 2016

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	15
Conclusões	20
Agradecimentos	21
Referências	21

Caracterização de Uma População de Recombinação ao Acaso de Sorgo para a Tolerância ao Alumínio e Eficiência na Utilização de Fósforo

Karine da Costa Bernardino¹

Cicero Beserra de Menezes²

Maria Marta Pastina³

Sylvia Moraes de Sousa⁴

Claudia Teixeira Guimarães⁵

Danuzza Araújo de Souza⁶

Robert Eugene Schaffert⁷

Jurandir Vieira de Magalhães⁸

Resumo

Por causa da crescente expansão do cultivo de sorgo em áreas do cerrado brasileiro, cujos solos são altamente intemperizados, resultando em baixo pH, deficiência de fósforo (P) e toxidez causada pelo alumínio (Al), torna-se necessário o desenvolvimento de cultivares adaptadas a essa condição. A tolerância ao Al em sorgo ocorre via exsudação de ácidos orgânicos ativada por Al nos ápices radiculares. Uma vez na rizosfera, o citrato forma um complexo estável com os íons Al^{3+} , reduzindo os efeitos tóxicos do metal no sistema radicular. Ácidos orgânicos como o citrato podem também liberar o P adsorvido nas partículas do solo, facilitando a absorção

¹Doutoranda em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal de Viçosa (UFV); Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, 36570-900, Viçosa, MG, karinecosta23@gmail.com

²Eng.-Agrôn., D.Sc. Genético e Melhoramento de Plantas, Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG, cicero.menezes@embrapa.br

³Eng.-Agrôn., Ph.D., Pesquisadora em Genética e Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG, marta.pastina@embrapa.br

⁴Bióloga, Ph.D. em Biologia Molecular, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG, sylvia.sousa@embrapa.br

⁵Eng.-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

⁶Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, Pós-doutoranda pela Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG, danuzza19@yahoo.com.br

⁷Doutorado 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, Cx. Postal 151, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG, robert.schaffert@embrapa

⁸Eng.-Agrôn., PhD, Pesquisador em Genética Molecular e Genômica de Plantas, Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG, jurandir.magalhaes@embrapa.br

pelas raízes. A Embrapa Milho e Sorgo gerou marcadores gene-específicos para o gene *SbMATE*, que codifica um transportador de citrato-ativado por Al, bem como para genes *phosphorus starvation tolerance 1* em sorgo (*SbPSTOL1*), que codificam quinases associadas com maior desenvolvimento radicular e absorção de P em solos tropicais. Este trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar uma população de recombinação ao acaso de sorgo para seleção de progênies tolerantes ao Al e eficientes na utilização de P, bem como estimar os efeitos de marcadores gene-específicos controlando essas características. Para esse fim, uma população de recombinação ao acaso de sorgo foi constituída com o uso de esterilidade genética (*male sterility locus, Ms₃/ms₃*), genotipada com marcadores gene-específicos para os genes *SbMATE* e *SbPSTOL1* e fenotipada para características relacionadas à adaptação a solos ácidos. Os resultados indicam que a população apresenta variabilidade genética para os locos marcadores e variabilidade fenotípica para diferentes características relacionadas com adaptação a solos ácidos. Os resultados preliminares indicam que a população de recombinação é adequada, tanto para a estimativa dos efeitos dos marcadores quanto para a seleção de doadores para a futura confecção de híbridos adaptados ao cerrado brasileiro.

Termos para indexação: *Sorghum bicolor*, alumínio, fósforo, marcadores moleculares.

Characterization of a Random Recombination Population of Sorghum for Aluminum Tolerance and Efficiency in Phosphorus Use

*Karine da Costa Bernardino*¹

*Cicero Beserra de Menezes*²

*Maria Marta Pastina*³

*Sylvia Morais de Sousa*⁴

*Claudia Teixeira Guimarães*⁵

*Danuza Araújo de Souza*⁶

*Robert Eugene Schaffert*⁷

*Jurandir Vieira de Magalhães*⁸

Abstract

Developing sorghum cultivars adapted to highly weathered acid soils with aluminum (Al) toxicity and low phosphorus (P) availability, such as those in the Brazilian Cerrado, is needed due to growing expansion of the sorghum crop into those areas. Al tolerance in sorghum is conferred by Al-activated citrate release from the root apex. Once in the rhizosphere, citrate detoxifies Al by forming stable compounds with Al³⁺ ions. In addition, organic acids such as citrate can also mobilize P from the soil clays, enhancing P uptake in low P soils. Embrapa Maize and Sorghum has generated gene-specific markers for the Al tolerance gene, *SbMATE*, and for *phosphorus starvation tolerance1* genes, which encode kinase proteins that enhance sorghum root development and P uptake in a tropical soil. This study aimed at developing and characterizing a sorghum random mating population for selecting Al tolerant and P efficient progeny and estimating the effect of gene-specific markers underlying those traits. A random mating population was constructed using genetic male sterility (male sterility

locus, *Ms3/ms3*), genotyped with gene-specific markers for *SbMATE* and *SbPSTOL1* and phenotyped for different traits related to acid soil adaptation. We detected genetic variation both for the different marker loci and for different traits related to sorghum adaptation to acid soils. Our results indicate that this population is adequate both to estimate marker effects and to select progeny for producing hybrids adapted to the soils found in the Brazilian Cerrado.

Index terms: *Sorghum bicolor*, aluminum, phosphorus, molecular markers.

Introdução

Os estresses abióticos em solos ácidos, que são caracterizados por pH inferior a 5,5, são uma das principais limitações para a produção agrícola mundial (KOCHIAN et al., 2004), com destaque para as culturas em que o produto final é o grão. Aproximadamente 30% de toda área terrestre e 50% das terras potencialmente agricultáveis no mundo são constituídas por solos ácidos (UEXKÜLL; MUTERT, 1995) com toxidez de alumínio (Al), manganês (Mn) e ferro (Fe) e deficiência de nutrientes essenciais como o fósforo (P) (KOCHIAN et al., 2004).

O P é um elemento essencial à vida por ser necessário à formação dos ácidos nucléicos e dos fosfolipídios, por atuar no metabolismo do carbono e na ativação de várias enzimas (LAMBERS et al., 2006). Nas plantas, o P está vinculado a processos como a fotossíntese, a respiração e a função celular em geral (STAUFFER; SUELEWKI, 2004). No entanto, mais da metade das terras agricultáveis existentes no mundo apresentam solos caracterizados pela baixa disponibilidade de P

(LYNCH, 2011), em razão da sua fixação aos minerais presentes na argila do solo (SHEN et al., 2011), como os óxidos de Fe e Al. Por causa da utilização ineficiente do P suprido pela adubação fosfatada, a baixa disponibilidade de P aumenta os custos de produção, o que pode inviabilizar a produção para pequenos produtores e limitar o patamar de produção em condições de alta tecnologia.

Há respostas adaptativas importantes à baixa disponibilidade de P como alterações na morfologia do sistema radicular, que podem levar a maior eficiência na absorção de P (LAMBERS et al., 2006; LYNCH, 2011; SHEN et al., 2011; SOUSA et al., 2012). Gamuyao et al. (2012) identificaram em arroz o gene *phosphorus-starvation tolerance 1* (*OsPSTOL1*), localizado na região do QTL (*Quantitative Trait Loci*) *phosphorus uptake 1* (*PUP1*). A superexpressão desse gene levou ao aumento do crescimento radicular nos primeiros estágios de desenvolvimento da planta e também ao aumento da produção de grãos em condições de baixa disponibilidade de P (Gamuyao et al., 2012). Seguindo essa linha de pesquisa, Hufnagel et al. (2014) identificaram em sorgo homólogos do gene *PSTOL1* (*SbPSTOL1*), que aumentam a superfície radicular e a produção de grãos sob baixa disponibilidade de P no solo.

Nos solos que compõem o cerrado brasileiro, a toxidez causada pelo Al iônico e a baixa disponibilidade de P representam uma barreira para a expansão do sorgo (SCHAFFERT et al., 2001). Investigando a base genética e molecular da tolerância ao Al, Magalhães et al. (2007) isolaram o gene *SbMATE*, localizado no loco *Al_{t_{SB}}* (MAGALHÃES et al., 2004), que confere tolerância ao Al pela ação de um transportador de citrato ativado por Al, que está localizado na membrana plasmática das células

do ápice radicular. A exsudação de citrato pode também estar relacionada com a solubilização de fosfatos fixados nos minerais de argila na rizosfera (LEISER et al., 2014).

Este trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar uma população de recombinação ao acaso de sorgo, bem como utilizá-la para, simultaneamente, estimar os efeitos dos diferentes marcadores gene-específicos na adaptação de sorgo a solos ácidos e selecionar progênies para a futura confecção de híbridos de sorgo para cultivo no cerrado brasileiro.

Materiais e Métodos

Material Genético

Para obtenção da população constituída por 200 progênies em ciclo S_2 , inicialmente foram conduzidos cruzamentos entre plantas estéreis (ms_3ms_3 , sendo ms o loco que confere esterilidade genética) de uma população de base genética ampla da Embrapa Milho e Sorgo, BRP3R, e 24 linhagens restauradoras (R) (Tabela 1). Plantas F_1 foram autofecundadas originando a geração F_2 e sementes F_2 foram semeadas em campo para o primeiro ciclo de recombinação.

Plantas estéreis e férteis foram identificadas em cada ciclo de recombinação e as sementes colhidas das plantas macho-estéreis foram combinadas em um composto que foi utilizado para o próximo ciclo de recombinação. Após o terceiro ciclo de recombinação, cerca de 600 plantas S_0 férteis foram obtidas e autofecundadas, seguindo-se a caracterização das famílias S_1 para a tolerância alumínio. Para isso, 14 sementes S_1 provenientes de cada planta S_0 foram avaliadas e 3 a 9 plantas

tolerantes foram autofecundadas (no caso de plantas férteis) ou cruzadas com uma amostra composta de pólen da população (no caso de plantas estéreis), totalizando cerca de 1.000 plantas.

Sementes de cerca de 600 plantas selecionadas foram então semeadas em campo isolado, colhendo-se as sementes das plantas macho-estéreis ($ms_3 ms_3$). Portanto, essa etapa de recombinação deu origem ao ciclo S_0 da população denominada BRP13R, que foi a base para a validação dos marcadores gene-específicos para tolerância ao Al e eficiência na absorção de P. O desenvolvimento da população de recombinação e as etapas de validação desses marcadores estão mostradas na Figura 1.

Tabela 1. Linhagens restauradoras e respectivos cruzamentos realizados para obtenção da população multiparental constituída por 200 progênies em ciclo S_2 .

	Linhagens restauradoras	Cruzamentos
1	BR 005 R (SC326)	BRP3R * BR 005 R
2	BR 012 R (SC748*SC326)	BRP3R * BR 012 R
3	CMSXS 173 R(SC748)	BRP3R * CMSXS 173 R
4	(BR 012 * SC 549)	BRP3R * (BR 012 * SC 549)
5	(BR 012 * 5DX 61/6/2)	BRP3R * (BR 012 * 5DX 61/6/2)
6	CMSXS 225 R (RTxx430*156-P-5-2-1)	BRP3R * CMSXS 225 R
7	CMSXS 226 R (SC286*SC326)	BRP3R * CMSXS 226 R
8	CMSXS 110 R (RTx430)	BRP3R * CMSXS 110 R
9	CMSXS 106 R (RTx2536)	BRP3R * CMSXS 106 R
10	CMSXS 108 R (TAM428)	BRP3R * CMSXS 108 R
11	CMSXS 179 (BRP3R*SC326)	BRP3R * CMSXS 179
12	CMSXS 180 (BRP3R*SC326)	BRP3R * CMSXS 180
13	9929044	BRP3R * 9929044
14	9929048	BRP3R * 9929048
15	9930002	BRP3R * 9930002
16	GR 1-1-1	BRP3R * GR 1-1-1
17	BR 501 R (Brandes)	BRP3R * BR 501 R
18	QL 3	BRP3R * QL 3
19	IPA 1011	BRP3R * IPA 1011
20	156-8-5 Serere	BRP3R * 156-8-5 Serere
21	SC 103	BRP3R * SC 103
22	9929052	BRP3R * 9929052
23	CMSXS 169 RTx2536 derivativo.)	BRP3R * CMSXS 169
24	CMSXS 184 (SC326 derivativo.)	BRP3R * CMSXS 184

O desenvolvimento da população prosseguiu com duas gerações de autofecundação, gerando progênes S_1 e S_2 . Plantas estéreis e férteis foram identificadas e houve seleção para plantas baixas, dando origem a uma população final com 200 progênes S_2 . O processo de obtenção da população está mostrado esquematicamente na Figura 1.

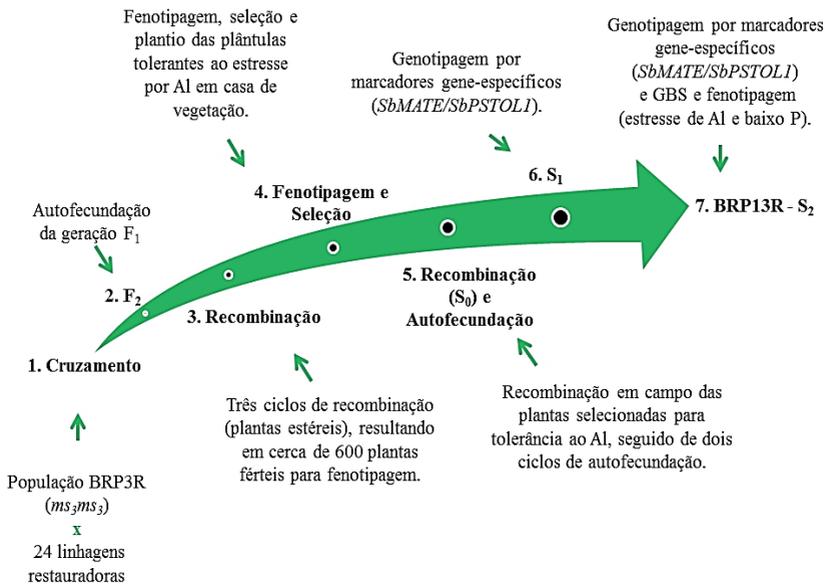


Figura 1. Esquema para obtenção da população BRP13R em ciclo S_2 .

Destaca-se que as famílias S_1 foram genotipadas para marcadores gene-específicos para os genes *SbPSTOL1* e *SbMATE*, sendo utilizadas seis plantas de cada família para isolamento de DNA. As famílias S_2 foram genotipadas tanto com marcadores gene-específicos quanto pela técnica de GBS (*Genotyping by sequencing* – ELSHIRE et al., 2011). Para isso, 8 plantas representativas de cada família S_2 foram utilizadas.

A população S₂ foi também avaliada em campo e em solução nutritiva sob baixa disponibilidade de P, bem como em solução nutritiva com estresse de Al.

Avaliação em Área Experimental com Baixa Disponibilidade de P

As 200 famílias S₂ foram divididas em dois látices 10x10, no qual cada parcela experimental correspondia a 2 fileiras de 3 m, com 0,45 m de espaçamento entre fileiras. Cada látice continha três repetições e em cada bloco havia duas testemunhas adicionais, BR007 e SC283. Foram coletados os dados referentes a florescimento (em dias), altura de planta (cm), matéria fresca de grãos (g), matéria fresca da planta (MFPlanta, g), número de panículas colhidas, estande, teor de P na planta (folhas e colmo, g.kg⁻¹) e teor de P no grão (g.kg⁻¹).

Foram então obtidas estimativas de produção de grãos (ProdG, em kg.ha⁻¹), porcentagem de matéria seca de grãos (%MSG), porcentagem de matéria seca da planta (%MSPlanta), teor de P na matéria seca de grãos (TPG, g.kg⁻¹), teor de P na matéria seca da planta (TPPlanta, g.kg⁻¹), matéria seca de grãos ($MSG = ProdG \times \%MSG$, kg.ha⁻¹), matéria seca da planta ($MSPlanta = MFPlanta \times \%MSPlanta$, kg.ha⁻¹), conteúdo de P no grão ($CPG = (MSG \times TPG) / 1000$, kg.ha⁻¹), conteúdo de P na planta ($CPPlanta = (MSPlanta \times TPPlanta) / 1000$, kg.ha⁻¹), conteúdo de P total ($CPTotal = CPG + CPPlanta$, kg.ha⁻¹), índice de colheita de P ($ICP = CPG / CPTotal$, kg.kg⁻¹) e quociente de utilização de P ($QUTIL = MSG / CPG$, kg.kg⁻¹). Além dessas estimativas foram calculados os índices de eficiência de aquisição ($EAQ = CPTotal / PSolo$, kg.kg⁻¹), utilização interna ($EUTIL = MSG / CPTotal$, kg.kg⁻¹) e uso

$(EUSO = (CPTotal / PSolo) \times (MSG / CPTotal))$ ou $EUSO = MSG / PSolo$ de P.

Avaliação em Solução Nutritiva com Baixa Disponibilidade de Fósforo

Para avaliação das progênes em solução nutritiva com baixa disponibilidade de P, utilizou-se a solução nutritiva de Magnavaca modificada, com pH 5,6 (Magnavaca et al., 1987) com 2,5 μM de P (estresse de P). O experimento, conduzido em condições controladas, foi delineado com três repetições e duas testemunhas adicionais, BR007 e SC283. As características morfológicas do sistema radicular foram obtidas seguindo a metodologia descrita por Sousa et al. (2012). São essas: comprimento (cm), área projetada (cm^2), área de superfície (cm^2), diâmetro médio (mm), comprimento/volume ($\text{cm} \cdot \text{m}^{-3}$), volume da raiz (cm^3), "*tips*", "*forks*", "*crossins*", comprimento de raízes com diâmetro entre 0-1 mm, 1-2 mm e 2-4,5 mm (cm), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0-1 mm, 1-2 mm e 2-4,5 mm (cm^2), área projetada de raízes com diâmetro entre 0-1 mm, 1-2 mm e 2-4,5 mm (cm^2), volume de raízes com diâmetro entre 0-1 mm, 1-2 mm e 2-4,5 mm (cm^3), *tips* de raízes com diâmetro entre 0-1 mm, 1-2 mm e 2-4,5 mm, matéria seca da parte aérea (g), matéria seca da raiz (g), matéria seca total (g), razão entre a matéria seca da raiz e da parte aérea, teor de P na parte aérea ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), teor de P na raiz ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), conteúdo de P da parte aérea (g), conteúdo de P da raiz (g) e conteúdo de P total (g).

Avaliação em Solução Nutritiva com Estresse de Alumínio

Para a avaliação da população quanto à tolerância ao Al, sete plântulas de cada linhagem foram expostas a solução nutritiva de Furlani e Clark (1981) modificada (Magnava et al., 1987) com 27 μM de Al, enquanto outras sete plântulas foram inseridas em recipiente contendo solução nutritiva sem Al. Nesse experimento também foram utilizadas como testemunhas as linhagens BR007 e SC283 como testemunhas.

A partir das medições do comprimento radicular, valores de crescimento líquido relativo foram calculados como descrito em Caniato et al. (2014). Para isso, o crescimento líquido com 5 dias de exposição ao Al foi obtido, tanto para plantas submetidas a 27 μM de Al^{3+} (atividade livre de Al) quanto para aquelas cultivadas na ausência de Al. O crescimento líquido relativo foi calculado pela razão entre o crescimento líquido na presença e na ausência de Al.

Análises Estatísticas

Inicialmente, com as estimativas de EAQ, EUTIL e EUSO por parcela, foram calculadas as importâncias relativas da EUTIL e da EAQ na EUSO de acordo com as adaptações propostas por Parentoni e Souza Júnior (2008) para os índices propostos por Moll et al. (1982).

Para as análises fenotípicas dos dados coletados em campo e em solução nutritiva com baixa disponibilidade de P utilizouse o programa GenStat (PAYNE et al., 2012), adotando a abordagem de modelos mistos. Para o ensaio de campo foi ajustado modelo estatístico para as seguintes características:

produção de grãos (ProdG), conteúdo de P na planta (CPPlanta), conteúdo de P no grão (CPG), conteúdo de P total (CPTotal), índice de colheita de P (ICP), quociente de utilização interna de P (QUTIL), eficiência de aquisição de P (EAQ), eficiência de utilização de P (EUTIL) e eficiência de uso de P (EUSO).

Para o ensaio em solução nutritiva com baixa concentração de P foram ajustados modelos para as seguintes características: comprimento; área de superfície total (AS); diâmetro médio (DM); volume radicular (VR); área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm (AS2); volume de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm (V2); matéria seca da parte aérea (MSPA); matéria seca da raiz (MSR); teor de fósforo da parte aérea (TPPA); teor de fósforo da raiz (TPR); conteúdo de fósforo da parte aérea (CPA); conteúdo de fósforo da raiz (CPR) e comprimento específico (C.especifico).

A partir do ajuste dos modelos estatísticos foram estimadas as médias BLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*) para genótipos, o componente de variação genotípico ($\hat{\sigma}_G^2$), o componente de variação residual ($\hat{\sigma}^2$), o coeficiente de variação experimental (CV) e a herdabilidade (h^2).

Resultados e Discussão

Importância Relativa

A EAQ apresentou maior importância relativa na EUSO do que a EUTIL (Tabela 2), indicando que a capacidade da planta em converter o fósforo disponível no solo em matéria seca de grãos foi mais influenciada pela sua habilidade em adquirir o fósforo do que pela sua capacidade em transformar o fósforo adquirido

em matéria seca de grãos, como observado em outros estudos (PARENTONI; SOUZA JÚNIOR, 2008; MENDES, 2010; SILVA, 2012).

Tabela 2. Importância relativa (IR) da eficiência de aquisição (EAQ) e da eficiência de utilização (EUTIL) na eficiência de uso (EUSO) de fósforo em uma população S_2 de sorgo.

Característica	$r_{x_i, y}$	Desvio (S)	S_{x_i}/S_y	IR na EUSO (%)
Eficiência de Aquisição - EAQ (x_1)	0,89	0,19	0,94	0,83
Eficiência de Utilização - EUTIL (x_2)	0,37	0,10	0,47	0,17
Eficiência de Uso - EUSO (y)		0,21		

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

Análise Estatística para Ensaio em Campo

Foi constatada variância genética significativa para todas as características estudadas, com herdabilidade variado de ~0.3 a 0.6 (Tabela 3). O menor coeficiente de variação estimado foi para o ICP (11,28%) e o maior para CPPLANTA (40,74%), enquanto a herdabilidade máxima observada foi de 0,59 para QUTIL. Para PRODG, característica diretamente afetada pela deficiência de P, o coeficiente de variação e a herdabilidade foram, respectivamente, 24,96% e 0,47 (Tabela 3).

Tabela 3. Componentes de variância genética e residual, herdabilidade (h^2), coeficiente de variação (CV) e outras estatísticas descritivas para características relacionadas à eficiência na utilização de P em uma população S_2 avaliada em campo sob baixa disponibilidade de P.

Características	Componentes		Média	Mínimo	Máximo	Testemunhas		CV (%)	h^2
	Genético	Residual				BR007	SC283		
ProdG (kg.ha ⁻¹)	73071	242747	1974,14	722,22	3261,11	1932,49	2029,44	24,96	0,47
CPPlanta (kg.ha ⁻¹)	0,12	0,70	2,06	0,72	5,46	1,89	1,64	40,74	0,34
CPG (kg.ha ⁻¹)	0,36	1,48	4,40	1,63	7,52	4,04	5,13	27,63	0,42
CPTotal (kg.ha ⁻¹)	0,58	3,16	6,45	2,80	12,31	5,94	6,79	27,54	0,35
ICP	$1,01 \times 10^{-3}$	$5,89 \times 10^{-3}$	0,68	0,50	0,80	0,67	0,75	11,28	0,34
QUTIL	924	1891	414,84	291,87	552,33	449,61	373,57	10,48	0,59
EAQ	$5,83 \times 10^{-3}$	0,03	0,67	0,25	1,09	0,62	0,69	27,37	0,34
EUTIL	656	1670	280,66	189,12	394,54	300,71	280,97	14,56	0,54
EUSO	660	2661	187,82	59,65	330,45	186,17	192,38	27,46	0,43

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.

Análise Estatística para Ensaio em Solução Nutritiva com Baixa Disponibilidade de P

Assim como observado para o experimento em condições de campo, todos os componentes de variância genética

referentes ao ensaio em solução nutritiva com baixo P foram significativos, indicando que há variabilidade genética para morfologia radicular na população estudada. O coeficiente de variação mínimo estimado foi de 3,63% (DM) e o máximo foi de 44,76% (MSR). O maior valor de herdabilidade foi 0,72 para a característica DM, que apresentou o menor CV (Tabela 4).

Tabela 4. Componentes de variância genética e residual, herdabilidade (h^2), coeficiente de variação (CV) e outras estatísticas descritivas para morfologia do sistema radicular em uma população avaliada em solução nutritiva com baixa concentração de fósforo.

Características	Componentes		Média	Mínimo	Máximo	Testemunhas		CV (%)	h^2
	Genético	Residual				BR007B	SC283		
Comprimento (cm)	3486	9275	369,33	198,41	604,71	210,27	206,53	26,08	0,53
AS (cm ²)	226,10	814,40	108,18	54,21	166,69	57,62	64,23	26,38	0,45
DM (mm)	$9,90 \times 10^{-4}$	$1,18 \times 10^{-3}$	0,95	0,81	1,18	0,92	1,00	3,63	0,72
VR (cm ³)	0,09	0,75	2,59	1,21	4,29	1,29	1,61	33,48	0,27
AS2 (cm ²)	29,80	126,80	37,93	17,27	58,19	17,42	24,93	29,68	0,41
V2 (cm ³)	0,04	0,15	1,30	0,55	2,06	0,56	0,88	30,18	0,43
MSPA (g)	$1,08 \times 10^{-5}$	$2,48 \times 10^{-5}$	0,02	0,01	0,04	0,01	0,01	24,76	0,57
MSR (g)	$9,80 \times 10^{-6}$	$7,52 \times 10^{-5}$	0,02	0,01	0,08	0,02	0,01	44,76	0,28
TPPA (g.k ⁻¹)	0,09	0,91	3,96	2,37	5,77	5,50	4,77	24,13	0,23
TPR (g.k ⁻¹)	0,09	0,37	2,08	1,13	3,77	3,20	3,77	29,11	0,43
CPPA (g)	$1,82 \times 10^{-4}$	$2,66 \times 10^{-4}$	0,08	0,04	0,14	0,05	0,06	21,59	0,67
CPR (g)	$9,04 \times 10^{-5}$	$2,53 \times 10^{-4}$	0,04	0,02	0,13	0,05	0,05	39,10	0,52
C.específico (cm.g ⁻¹)	4987375	14902079	19945	10563	31445	13394	15033	19,35	0,50

AS – Área de superfície total; DM – Diâmetro médio; VR – Volume radicular; AS2 – Área de superfície de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm; V2 – Volume de raízes com diâmetro entre 1 mm e 2 mm; MSPA – Matéria seca da parte aérea; MSR – Matéria seca da raiz; TPPA – Teor de fósforo na parte aérea, TPR – Teor de fósforo na raiz; CPPA – Conteúdo de fósforo da parte aérea; CPR – Conteúdo de fósforo da raiz; C.específico – Comprimento específico.

Marcadores Gene-Específicos

As 200 progêneses S_2 foram genotipadas com marcadores gene específicos desenvolvidos para os genes *SbMATE* (CANIATO et al., 2014) e *SbPSTOL1* (HUFNAGEL et al., 2014) utilizando o sistema KASP (LGC Genomics, <https://www.lgcgroup.com/products/kasp-genotyping-chemistry/>).

As frequências alélicas mínimas para os diferentes locos marcadores variaram de 0,04 a ~0.50. Entretanto, as frequências alélicas foram relativamente balanceadas entre os alelos de menor e maior frequência para a maioria dos locos avaliados. Isso indica que a população S_2 é adequada para a validação dos marcadores gene-específicos.

A substituição alélica no marcador gene-específico 2141, dentro do gene *SbPSTOL1*, Sb03g006765, foi associada a um aumento na produção de grãos de 3%, sendo o alelo T associado com aumento na expressão fenotípica. Esses resultados são consistentes com aqueles descritos por Hufnagel et al. (2014), nos quais o alelo T foi também significativamente associado com um aumento na produção de grãos de 180 Kg/ha em um painel associativo de sorgo cultivado sob baixa disponibilidade de P no solo. O alelo A do marcador 6083 no gene *SbMATE* foi associado a um aumento de 44% na tolerância ao Al. Esse resultado é consistente com o efeito positivo desse alelo em um painel associativo, como descrito por Caniato et al. (2014). A detecção de efeitos alélicos consistentes com aqueles estimados em painéis associativos (HUFNAGEL et al., 2014; CANIATO et al., 2014) indicam estabilidade de efeito entre populações, com expressão fenotípica consistente na população de recombinação ao acaso de sorgo. Esses resultados indicam que os marcadores gene-específicos são úteis em programas de

seleção assistida direcionados para escolha de cultivares com performance superior em condições de baixa disponibilidade de P e estresse de Al.

Tabela 5. Aumento percentual na produção de grãos associado aos locos marcadores, 2141 no gene *SbPSTOL1*, *Sb03g006765*, e na tolerância ao Al associada ao loco marcador, 6083, no gene *SbMATE*. A tolerância ao Al foi medida pelo crescimento líquido relativo com 27 uM Al em solução nutritiva pH 4,0 (CANIATO et al., 2014). Alelos positivos (alelo +), que aumentam a expressão fenotípica, foram discriminados.

Gene	Loco	Alelos/frequência	Alelo (+)	Aumento (%)	Fenótipo
Sb03g006765	2141	T(0,49)/G(0,51)	T	3	Produção de grãos
<i>SbMATE</i>	6083	A(0,45)/C(0,55)	A	44	Tolerância ao Al

Conclusões

A população BRP13R apresenta variabilidade genética para todas as características coletadas em condições de baixa disponibilidade de P e é polimórfica para diferentes locos marcadores nos genes *SbMATE* e *SbPSTOL1*. Associações entre os marcadores gene-específicos e características relacionadas com a tolerância ao Al e à produção de grãos sob baixo P indicam que os marcadores gene-específicos podem ser utilizados para a geração de cultivares adaptadas ao cultivo em solos ácidos. As melhores 40 famílias S₁ selecionadas para presença de ambos os genes, *SbMATE* e *SbPSTOL1*, e para produtividade de grão foram recombinadas em casa de vegetação isolada. Plantas estéreis e férteis foram identificadas em cada e as sementes colhidas das plantas macho-estéreis

foram combinadas em um composto para o próximo ciclo de recombinação e seleção.

Agradecimentos

À Embrapa Milho e Sorgo, à FAPEMIG e ao CNPq, pelo apoio financeiro na realização e divulgação dos resultados.

Referências

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_{SB}*. **Plos One**, San Francisco, v. 9, p. 1-12, Jan. 2014.

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, n. 5, p. 1-10, May 2011.

FURLANI, P. R.; CLARK, R. B. Screening sorghum for aluminium tolerance in nutrient solution. **Agronomy Journal**, Madison, v. 73, p. 587-594, 1981.

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 Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. **Nature**, London, v. 488, p. 535-539, Aug. 2012.

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**, Bethesda, v. 166, p. 659-677, 2014.

Kochian, L. V.; Hoekenga, O. A.; Pinerôs, M. A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 459-493, June 2004.

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**, London, v. 98, n. 4, p. 693-713, 2006.

LEISER, W.; RATTUNDE, H. F. W.; WELTZIEN, E.; CISSE, N.; ABDU, M.; DIALLO, A.; TOURÈ, A. O.; MAGALHÃES, J. V.; HAUSSMANN, B. I. Two in one sweep: aluminum tolerance and grain yield in P-limited are associated to the same genomic region in West African sorghum. **BMC Plant Biology**, v. 14, p. 1-13, 2014.

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

MAGALHÃES, J. V.; GARVIN, D. F.; WANG, Y.; SORRELLS, M. E.; KLEIN, P. E.; SCHAFFERT, R. E.; LI, L.; KOCHIAN, L. V. Comparative mapping of a major aluminum

tolerance gene in sorghum and other species in the Poaceae. **Genetics**, Austin, v. 167, p. 1905-1914, 2004.

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**, New York, v. 39, n. 9, p. 1156-1162, Sept. 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: Kluwer, 1987. p. 201-212.

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.

Parentoni, S. N.; Souza Júnior, C. L. Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, DF, v. 43, n. 7, p. 893-901, jul. 2008.

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

SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C.; PITTA, G. V. E.; BAHIA, A. F. C.; SANTOS, F. G. Genetic variability in sorghum for P efficiency and responsiveness. In: HORST, W. J.; SCHENK, M. K.; BURKERT, A.; CLAASSEN, N.; FLESSA, H.; FROMMER, W. B.; GOLDBACH, H.; OLFS, H.-W.; ROMHELD, V.; SATTELMACHER, B.; SCHMIDHALTER, U.; SCHUBERT, S.; WIREN, N. V.; WITTENMAYER, L. (Ed.). **Plant nutrition: food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied research**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. p. 72-73.

SHEN, J.; YUAN, L.; ZHANG, J.; LI, H.; BAI, Z.; CHEN, X.; ZHANG, W.; ZHANG, F. Phosphorus dynamics: from soil to plant. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 156, p. 997-1005, 2011.

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.

SOUSA, S. M. de; CLARK, R. T.; MENDES, F. F.; OLIVEIRA, A. C. de; VASCONCELOS, M. J. V. de; PARENTONI, S. N.; KOCHIAN, L. V.; GUIMARAES, C. T.; MAGALHAES, J. V. A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition

efficiency in maize. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 39, n. 11, p. 925-935, 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.

Uexküll, H. R. von; Mutert, E. Global extent, development and economic impact of acid soils. **Plant and Soil**, The Hague, v. 171, n. 1, p. 1-15, 1995.

