

PLEIOTROPIA DO GENE “D” RELACIONADO A CARACTERES BIOENERGÉTICOS

Dalila Dominique Duarte ROCHA¹

Karine da Costa BERNARDINO²

Lucas Felipe SILVA³

Lucas Moreira MOURA⁴

Ledovan Ferreira de SOUZA⁴

Jurandir Vieira de MAGALHÃES⁵

Maria Marta PASTINA⁵

Robert Eugene SCHAFFERT⁵

RESUMO

O *Sorghum bicolor* (L.) Moench é uma espécie de grande importância agrônômica, que tem se destacado como matéria prima para a produção de biocombustíveis (sorgo sacarino) e para a geração de energia (sorgo biomassa). Em programas de melhoramento, características como a porcentagem de matéria seca e/ou o teor de umidade da biomassa devem ser consideradas para o desenvolvimento de cultivares de sorgo com maior potencial energético. Assim, para o sorgo sacarino, os genótipos devem apresentar maior teor de água no colmo e maior extração de caldo com açúcares fermentescíveis, enquanto que para o sorgo biomassa, utilizados para as tecnologias de etanol de segunda geração e co-geração de energia, são promissores aqueles genótipos com menor teor de umidade, devido a redução nos custos de transporte. Em sorgo, o gene *d* é descrito como responsável pelo teor de umidade na planta, contudo não existem relatos sobre outros genes ou QTLs que possam estar relacionados a esta característica. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo investigar a existência de outros QTLs que possam estar associados ao teor de

¹ Graduada em Biotecnologia; Faculdade Ciências da Vida; Sete Lagoas-MG/ Brasil;

² Doutoranda em Genética e Melhoramento de Plantas; Universidade Federal de Viçosa; Viçosa-MG/Brasil;

³ Graduando em Engenharia Química; Centro Universitário de Belo Horizonte-Uni-BH; Belo Horizonte-MG/Brasil;

⁴ Graduandos em Engenharia Agrônômica; UFSJ-MG/Brasil;

⁵ Pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo; Sete Lagoas-MG/Brasil, email: robert.schaffert@embrapa.br.

umidade na planta, avaliado a partir da porcentagem de matéria seca, e também, a cor de nervura, característica que está altamente correlacionada com o teor de umidade e pode ser utilizada como marcador morfológico para seleção em programas de melhoramento. Para isso, 396 RILs (*Recombinant Inbred Lines*), genotipadas via GBS (*Genotyping-by-Sequencing*), e derivadas do cruzamento entre os genitores BR007B e SC283, foram fenotipadas para cor de nervura e para porcentagem de matéria seca. Os genitores foram incluídos como testemunhas no delineamento experimental e são contrastantes para ambas as características avaliadas (BR007B – cor de nervura turva e colmo suculento; SC283 – cor de nervura branca e colmo seco). As análises dos dados fenotípicos foram realizadas no programa *GenStat* para porcentagem de matéria seca, com base na abordagem de modelos mistos, obtendo-se os componentes de variância e as médias BLUP (*Best Linear Unbiased Predictions*) para cada genótipo. O mapeamento de QTLs foi conduzido no programa R, utilizando modelos lineares generalizados, assumindo distribuição binomial para a característica cor de nervura, e distribuição normal para porcentagem de matéria seca. A herdabilidade observada para a característica porcentagem de matéria seca foi igual a 0,94, indicando que maior parte da variância fenotípica foi devido à variabilidade genética, revelando uma boa precisão experimental. Foram identificados apenas dois QTLs no cromossomo 6, sendo um para porcentagem de matéria seca e outro para cor de nervura, localizados a 51,80 Mpb e 50,64 Mpb, respectivamente. Com base nesses resultados, sugere-se que esses QTLs podem estar relacionados ao gene *d* em sorgo, uma vez que tal gene localiza-se no cromossomo 6, com posição entre 51,80 Mpb e 51,89 Mpb.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*. Bioenergia. *Quantitative Trait Loci*. Gene *d*.

INTRODUÇÃO

O *Sorghum bicolor* (L.) Moench é considerado uma das espécies mais importantes agronomicamente, por apresentar boa tolerância ao estresse hídrico, e considerável quantidade de matéria seca e de grãos, e é o quinto cereal mais produzido no mundo. Na seleção de cultivar elite de sorgo, caso ocorra correlação entre a cor de nervura relacionada com o teor de umidade, poderá seguramente ser utilizado para queima e geração de energia, pois tal cultivar terá propriedades de interesse comercial, como por exemplo, menor gasto no transporte (PARRELLA; TARDIN, 2014).

O conhecimento das associações de nível genético relacionado às análises fenotípicas em plantas de sorgo apresenta-se como ferramenta muito útil no auxílio aos programas de

melhoramento genético desta cultura (MAGALHÃES *et al.*, 2013). Swanson e Parker (1931) atribuíram às letras “D” sendo um alelo que codifica característica de colmo seco e cor de nervura branca, e “d” para colmos suculentos e com cor de nervura turva. Nos programas de melhoramento convencional da EMBRAPA, a seleção dos genótipos que apresentam características desejáveis é realizada com base nas informações fenotípicas dos indivíduos, através da identificação de genes diretamente envolvidos na expressão de fenótipos de interesse e sua co-localização com *Quantitative trait locus* (QTLs) (EMBRAPA, 2014).

OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo verificar se existem outros QTLs, que não estão descritos em literatura, responsáveis pelo controle genético do teor de umidade através da realização de uma avaliação fenotípica das características cor de nervura e porcentagem de matéria seca e da análise dos dados genotípicos destes materiais através de ferramentas estatísticas que auxiliem na elucidação desta hipótese. Sendo assim foi levantada a questão norteadora: É possível desenvolver cultivares de sorgo para cogeração (queima) com teor de umidade inferior a 50? Existem outros QTLs, além do gene “D.d”, que influenciam nesta característica?

METODOLOGIA

As RILs foram avaliadas em uma área experimental com baixa disponibilidade de fósforo, utilizando quatro experimentos. Cada experimento foi delineado em quatro látices em esquema 10x10 com três repetições, sendo as parcelas representadas por fileiras de três metros, com 0,45 metros de espaçamento entre elas. As parcelas experimentais foram constituídas por 12 fileiras de três metros de comprimento, totalizando 1440 entradas, contendo todos os experimentos.

As características avaliadas foram à cor de nervura central e a porcentagem de matéria seca em cada planta por parcela. Para a característica cor da nervura, a fenotipagem foi realizada diretamente no campo, no início do florescimento, através de análise visual, sendo descritas como turvas (T) ou brancas (B). O material genético necessário para a análise de mapeamento de QTL foi obtido através da extração do DNA coletado das folhas do sorgo. O mesmo 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).

Os dados obtidos foram submetidos à análise através da metodologia de modelos mistos, para obtenção das médias BLUP (*Best Linear Unbiased Prediction*). Ressalta-se que a análise estatística foi realizada com o auxílio do programa GenStat (PAYNE *et al.*, 2012).

Também foi obtido o valor do Coeficiente de Variação (CV), que reflete a precisão experimental. Para a análise de regressão entre porcentagem de matéria seca (PMS) e cor de nervura (CN). A análise de mapeamento de QTL para PMS foi realizada utilizando o pacote “*OneQTL*” do software “R” (R CORE TEAM, 2014). Os dados genotípicos utilizados são os referentes aos SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) (CHO *et al.*, 1999) obtidos pela técnica de GBS (ELSHIRE *et al.*, 2011).

Após a etapa de determinação em cada regressão sobre qual o SNP estava associado com as características discutidas no trabalho, foram feitas novas análises de regressão inserindo os SNPs identificados como variável X, determinando qual o valor do R² para cada expressão da regressão. Ou seja, quanto cada SNP, para PMS e CN, explicam essas características. Para avaliar o grau de associação entre as características PMS e CN foi calculado o coeficiente de correlação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da análise fenotípica para avaliação da cor de nervura central das plantas de sorgo evidenciou que houve ampla distribuição destas características, sendo que dos 396 materiais fenotipados, 218 RILs apresentaram cor de nervura branca, e 178 apresentaram cor de nervura turva. O material BR007 apresenta alto teor de umidade, como pode ser visualizado no colmo de cor turva, e apresenta o gene “*dd*” (homozigoto recessivo). O genitor SC283 possui baixo teor de umidade, conseqüentemente, alto teor de porcentagem de matéria seca, devido à presença do gene “*DD*” (homozigoto dominante), que possui efeito dominante sobre o alelo “*d*”. Diante destes dados pode-se verificar que para o coeficiente de determinação (R²) obteve-se o valor de 0,7452, isto significa que 74,52% da variável dependente (cor de nervura) consegue ser explicada pelos regressores presentes no modelo. Pelo fato de tais componentes serem ambos correlacionados, foi possível fazer uma associação entre eles. Em outras palavras, plantas com maior PMS (devido à presença de colmos secos, com baixo teor de umidade), apresentam cor de nervura branca (há correlação positiva entre PMS e CN).

Ressalta-se que para ambas as características, cor de nervura e porcentagem de matéria seca, foram detectados picos máximos de QTL por volta de 50 Mpb do cromossomo 6, o que é relevante, pois tal evidência foi relatado por Mace e Jordan (2010).

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos na presente pesquisa sobre o local do QTL que controla a porcentagem de matéria seca em sorgo, associado ao conhecimento de que a fenotipagem para cor de nervura é um bom marcador morfológico para esta característica. Diante dos resultados expostos, é possível selecioná-las com base na cor de nervura turva, que indica cultivares com alto teor de umidade e cruzá-las com outros genótipos com a mesma característica.

Conclui-se que existe efeito pleiotrópico no gene “D.d”, devido o fato de que ambos os caracteres em estudo foram mapeados em regiões muito próximas 50,64 Mpb e 51,80 Mpb, o que corrobora com a conclusão de que o mesmo gene controla ambas as características.

REFERÊNCIAS

CHO, R. J. *et al.* Genome mapping with biallelic markers in *Arabidopsis thaliana*. **Nature Genetics**. v. 23, 1999.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA MILHO E SORGO). **Cultivo do sorgo**. Brasília, 2014.

ELSHIRE, R. J. *et al.* A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. **Plos One**, v. 6, n. 5. 2011.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 14^a ed. Piracicaba – SP: Editora da Universidade de São Paulo, p. 477, 2000.

HILSON, G.R. Sobre a herança de certos personagens-tronco em sorgo. **Agriculture Journal of Índia**, v. 11, n. 150, 1916.

MACE E. S.; JORDAN D. R. Location of major effect genes in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Theor Appl Genet.**, 121:1339–1356, 2010.

MAGALHÃES, J. V. *et al.* Mapeamento de QTLs para a Tolerância à Seca em Sorgo com Ajustes para Características Fenológicas. **EMBRAPA - Circular Técnico**. 2013.

MORAIS, L. Novas rotas para o melhoramento de plantas. **Rev. XXI- Ciência para a vida, Semeando água**. 8. ed. 2014.

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

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, p. 175-240, 1928.

PARRELLA, R. TARDIN, F. Avaliação do comportamento de genótipos de sorgo sacarino cultivados em Sinop, Mato Grosso. **EMBRAPA**. 2014.

PAYNE, R. *et al.* **Introduction to GenStat for window**. VSN International, ed. 15, Hemel Hempstead, 2012.

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.

SWANSON, A. F.; PARKER, J.H. Inheritance of smut resistance and juiciness of stalk in the sorghum cross, red amber X feterita. **Journal of Heredity**, v. 22, p. 51-56, 1931.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, p.496, 1992.

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, p. 426-481, 1943.