

# Desenvolvimento de condições experimentais para fenotipagem de genótipos de sorgo em resposta a simbiose micorrízica arbuscular<sup>1</sup>

Igor Henrique Sena da Silva <sup>(2)</sup>, Sirlene Nunes de Araújo <sup>(3)</sup>, Robert Eugene Schaffert <sup>(4)</sup>,  
Francisco Adriano de Souza <sup>(4)</sup>

<sup>1</sup> Trabalho financiado pelo FAPEMIG

<sup>2</sup> Estudante do Curso de Agronomia da Univ. Fed. de São João del-Rei, Bolsista PIBIC do Convênio FAPEMIG-Embrapa

<sup>3</sup> Bióloga, Bolsista B-DTI FAPEMIG

<sup>4</sup> Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo

## Introdução

O fósforo (P) é um elemento estratégico para a produção agrícola nacional. Ele é um dos macronutrientes mais requeridos em recomendações de adubação no Brasil, por apresentar baixa disponibilidade natural e alta capacidade de fixação nos solos tropicais, resultando em baixa eficiência e uso do P aplicado como fertilizante. O P utilizado para formulação de fertilizantes agrícolas advém essencialmente da exploração de recursos minerais não renováveis e parte do P utilizado pelas plantas é exportada na forma de commodities, e deve ser repostado ao solo para não exaurir seus estoques e conseqüentemente sua capacidade produtiva e qualidade química (Murrel & Fixen, 2006). Uma alternativa para esse problema está no desenvolvimento de plantas que apresentem maior eficiência de aquisição e uso do fósforo.

A eficiência na utilização de P pelas plantas é uma característica ainda pouco elucidada, mas são relatadas diferenças genotípicas quanto a habilidade de adquirir e utilizar fosfato do solo sob condições de estresse por diversas culturas como arroz, milho (Parentoni et al., 1998) e sorgo (Schaffert et al., 2001), indicando a existência de variabilidade genética e fisiológica quanto a aquisição e a eficiência no uso de P por essas culturas.

Plantas absorvem P inorgânico da solução do solo na forma de ortofosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) por dois mecanismos. O primeiro envolve características morfo-anatômicas e fisiológicas do sistema radicular e o segundo requer o estabelecimento da simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (de Souza et al. 2011). O segundo processo é tido como o mais eficiente em condições de baixo P. Assim, pesquisas envolvendo a simbiose micorrízica arbuscular podem ser altamente relevantes para se desenvolver plantas mais eficientes na aquisição de P. Gramíneas como o sorgo estabelecem naturalmente simbiose com FMA. Estes fungos são mais eficientes na aquisição e transporte de P do solo até as raízes do que o sistema radicular das plantas (Smith & Read 2008), principalmente, em condições de baixa disponibilidade que é o caso dos solos brasileiros.

Estudos básicos sobre o entendimento dos mecanismos genéticos envolvidos na simbiose ainda são metodologicamente difíceis de serem conduzidos devido ao biotrofismo obrigatório do

fungo e ao seu desenvolvimento assíncrono (Martin et al., 2008). Porém, têm sido verificados que os genes responsáveis pela formação da simbiose micorrízica são altamente conservados no entre as linhagens evolutivas das plantas (Parniske, 2008). Com isso o presente trabalho tem por objetivo selecionar condições experimentais para avaliação de genótipos de sorgo em larga escala quanto à resposta micorrízica.

## **Material e Métodos**

Foram realizados dois ensaios em casa de vegetação no Núcleo de Biologia Aplicada (NBA), Embrapa Milho e Sorgo-Sete Lagoas, MG. (1) O objetivo do primeiro ensaio foi selecionar condições físicas (textura) e químicas (adsorção de P) do substrato adequadas para fenotipagem dos genótipos. Neste sentido, coletou-se solo com alta capacidade de retenção de ânions ( $P_{\text{remanescente}} = 3,89$ ) de um horizonte C na área da Embrapa. O solo foi peneirado, misturados em diferentes proporções com areia e em seguida autoclavado. Foram testados 4 diferentes combinações de solo:areia (50:50; 40:60; 30:70 e 20:80) em 2 genótipos de sorgo BR007 (ineficiente - responsivo) e SC283 (eficiente - não responsivo) quanto à aquisição de P e resposta a inoculação com *Rhizophagus clarus* CNMPS 10, totalizando um esquema fatorial 4 x 2 x 2. Neste ensaio, foi utilizada a dose de P de 40 ppm em todas as unidades experimentais e as plantas foram avaliadas, em uma única época, aos 53 dias após a germinação. (2) O segundo ensaio teve por objetivo estabelecer o nível de P e a época de coleta adequados para fenotipagem de genótipos de sorgo quanto à micorrização. Foi utilizado a textura de 50:50 estabelecida do ensaio anterior. Foram testados 4 níveis de P (20, 40, 60, e 120 mg/dm<sup>3</sup>), os mesmos genótipos e o fungo inoculado em (1) totalizando um esquema fatorial 4x2x2. Foram retirados 3g de raízes para avaliar a taxa colonização radicular (TCR) pelo método de intersecção de quadrantes Giovanetti & Mosse (1980), os outros parâmetros avaliados foram o acúmulo de matéria seca de raiz e parte aérea, acúmulo de P, determinado segundo metodologia de Malavolta (1962). Os resultados de TCR foram previamente transformados (arco seno), todos os outros resultados foram diretamente submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR (2000).

## **Resultados e Discussão**

No experimento 1, foram observadas diferenças significativas para as texturas 40:60 para o BR007 e 50:50 e 40:60 para o SC283 (Fig. 1) . A redução do teor de argila no solo reduziu a diferença entre a produção de matéria seca nos tratamentos micorrizados em relação aos não micorrizados, possivelmente devido ao aumento da disponibilização do P ocasionado pela redução da CTA do substrato (dados não mostrados). No experimento 2, foi observada diferenças

significativas para as variáveis P, inoculação, para as interações genótipo x fungo e P x fungo para os resultados de acúmulo de massa seca da parte aérea (MSPA; Fig. 3A) e da raiz (MSR; Fig. 3B) e para a relação MSR/MSPA (Fig. 4). Estes resultados demonstram que há um comportamento diferenciado da resposta a inoculação nos diferentes níveis de P e da inoculação entre os dois genótipos. A micorrização proporcionou aumentos significativos no desenvolvimento vegetativo e radicular nos dois genótipos (BR 007 – ineficiente/responsivo e SC 283 – eficiente/não responsivo) na menor dose de P (20 mg/dm<sup>3</sup>; Fig. 3A e 3B). O incremento de matéria seca da parte aérea chegou a 130,2 % no BR 007 e a 90,7 % no SC 283. Para as doses de 40, 60 e 120 mg/dm<sup>3</sup> no BR 007 foi observado incremento porém de forma não significativa. Resultados similares de benefícios da micorrização em baixos níveis de P têm sido observados em várias culturas (Chaves & Borges, 2005)

Nos níveis mais baixos de P foi encontrada uma relação MSR/MSPA menor nos materiais inoculados em relação aos não inoculados (Fig. 4). Estes resultados evidenciam que as plantas micorrizadas investem mais energia na produção de parte aérea do que de raiz, “pagando” ao fungo pela aquisição do P. Enquanto que a planta não-micorrizada investe mais em produção de raízes para explorar maiores quantidades de solo na busca por P. Porém nossos resultados demonstram que houve diferença significativa na acumulação de P total na folha, para os dois materiais genéticos testados nos tratamentos inoculados para todos os níveis de P, com exceção para o SC 283 no nível mais alto (Fig. 5). Esses resultados evidenciam o efeito benéfico da micorrização sobre o aumento na aquisição de P para os dois materiais genéticos testados.

A taxa de colonização micorrízica decresceu com o aumento da dose de P (Fig. 2), esse é um comportamento bem conhecido e reportado na literatura especializada (Smith & Read 2008), e reflete a capacidade da planta em modular a presença no fungo em seus tecidos de acordo com a sua necessidade, evitando assim o parasitismo. Assim, verifica-se que mesmo com a redução na colonização as plantas dos dois genótipos responderem significativamente quanto a aquisição de P (Fig. 5), evidenciado o controle que a planta tem sobre a micorrização.

## **Conclusões**

A redução do teor de argila em relação a areia resultou em decréscimo do benefício da micorriza para os dois genótipos de sorgo testados, sendo as relações solo:areia 50:50 e 40:60 as que melhor diferenciaram o efeito da inoculação micorrízica nos dois genótipos testados;

O nível de 20 mg/dm<sup>3</sup> foi o que melhor diferenciou as plantas micorrizadas das não micorrizadas, podendo ser recomendado para a condução de experimentos visando a avaliação de progênies quanto a resposta a micorriza;

A acumulação de P foi maior nos tratamentos inoculados com *Rhizophagus clarus* CNPMS10 em todas as doses de P e genótipos avaliados, com exceção do genótipo SC283 na dose de 120 mg/dm<sup>3</sup> para a qual não houve diferença entre os tratamentos.

### Agradecimentos

À FAPEMIG e Embrapa pelo apoio.

### Referências bibliográficas

BANBA, M., GUTJAHR, C.; MYIAO, A, Hirochika H, Paszkowski U, Kouchi H, Imaizumi-Anraku H. 2008. Divergence of Evolutionary Ways Among Common sym Genes: CASTOR and CCaMK Show Functional Conservation Between Two Symbiosis Systems and Constitute the Root of a Common Signaling Pathway. **Plant and Cell Physiology** 49: 1659-1671.

CHAVES, L. F. C.; BORGES, R. C. G. Eficiência micorrízica na produção de jacarandá-da-bahia cultivada em diferentes doses de fósforo. **Acta Scientiarum Agronomy**, 27: 587-594, 2005.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: **REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA**, 45., 2000, São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GIOVANETT, M.; MOSSI, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, London, v.84, p.489- 500, 1980.

JAVOT H, PENMETSA RV, TERZAGHI N, COOK DR, HARRISON MJ. 2007. A Medicago truncatula phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 104: 1720-1725.

MARTIN, F.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; HIJRI, M.; LAMMERS, P.; REQUENA, N.; SANDERS, I.R.; SHACHAR-HILL, Y.; SHAPIRO, H.; TUSKAN, G.A.; YOUNG, J.P.W.; 2008. The long hard road to a completed Glomus intraradices genome. **New Phytologist** 180: 747-750.

MURREL, T.S.; FIXEN, P.E. **Improving fertilizer phosphorus effectiveness: challenges for the future**. In: International symposium on phosphorus dynamics in the soil-plant continuum, 3., 2006, Uberlândia. Anais. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. p.150-151.

MALAVOLTA, E; GOMES, F.P. Foliar diagnosis in Brazil. In: Reuther, W. (Ed.) Plant analysis and fertilizer problems, Washington: **American Institute Biological Science**, 1962. p.232-245.

PARENTONI, S.N.; ALVES, V.M.C.; SANTOS, M.X.; GAMA, E.E.G.; LOPES, M.A.; GUIMARÃES, P.E.O.; PACHECO, C.A.P.; BAHIA FILHO, A.F.C.; MEIRELES, W.F.; SOUZA, I.R.P.; CORREA, L.A. **Identificação de genótipos padrões para eficiência na utilização de P em milho**. In. XXII Congresso Nacional de Milho e Sorgo-Recife-PE, 6- 11/09/98, RESUMOS pg.22; 1998 1 CD ROM.

SCHAFFERT, R.E.; ALVES, V.M.C.; PITTA, G.V.E.; BAHIA FILHO, A.F.C.; SANTOS, F.G., 2001. Genetic variability in sorghum for P efficiency and responsiveness, In: **Plant Nutrition** –

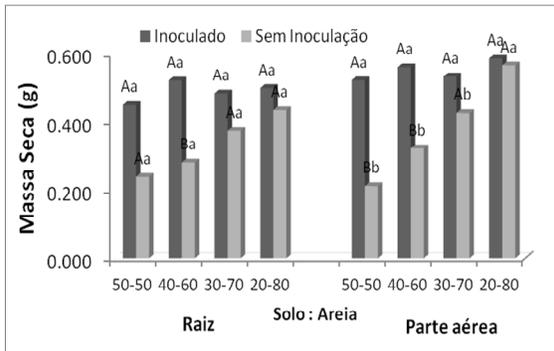


Figura 1- Massa seca de raiz e parte aérea de sorgo inoculado com fungo micorrízico *Rhizophagus clarus* CNPAB10 em diferentes texturas de solo no experimento (1). Médias de dois genótipos de sorgo (BR 007 e SC 283). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula ou minúscula não deferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, respectivamente para inoculação e relação solo:areia.

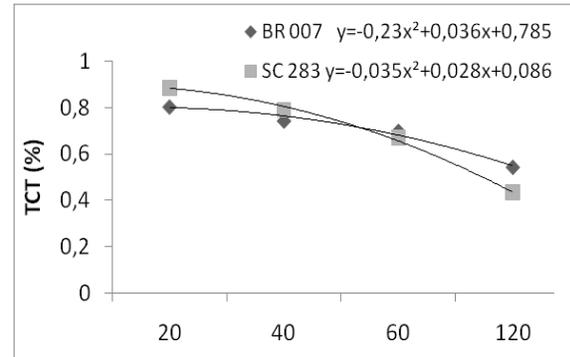


Figura 2. Taxa de Colonização Total de raízes de dois genótipos de sorgo (BR007 e SC 283) inoculados com *Rhizophagus clarus* em resposta a diferentes doses de fósforo.

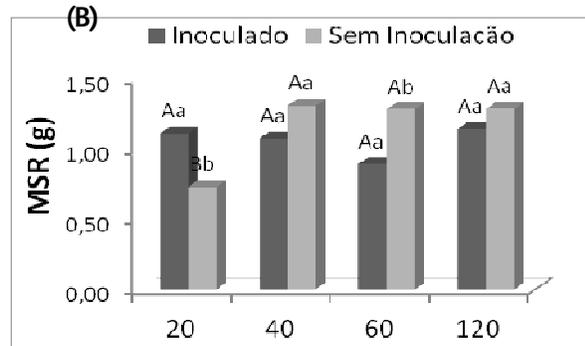
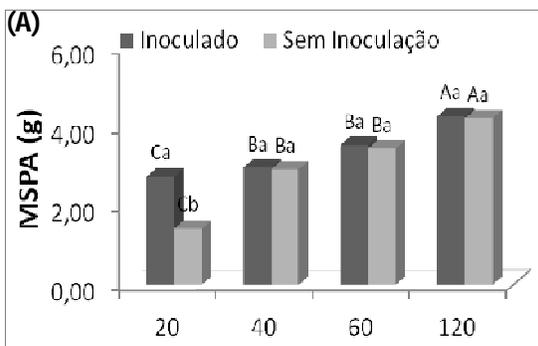


Figura 3. Efeitos da Inoculação do fungo micorrízico *Rhizophagus clarus* em diferentes níveis de P (20, 40, 60 e 120 mg/dm³). Média de dois genótipos de sorgo (BR 007 e SC 283). (A) MSPA- Massa seca de parte aérea; (B) MSR – Massa seca de raiz. Médias seguidas de mesma letra maiúscula ou minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, respectivamente para nível de P e inoculação.

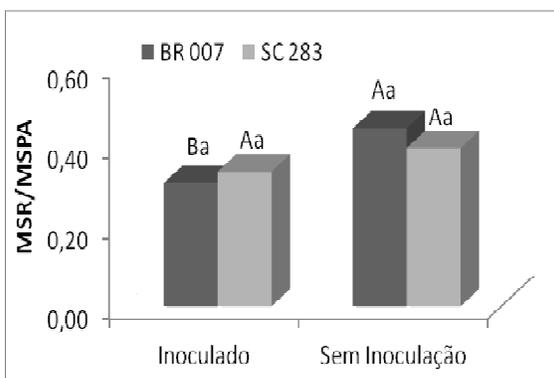


Figura 4. Relação entre a produção de matéria seca de raiz/parte aérea em dois genótipos de sorgo (BR007 e SC283) inoculados ou não com FMA *Rhizophagus clarus*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula ou minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, respectivamente, para inoculação e genótipo.

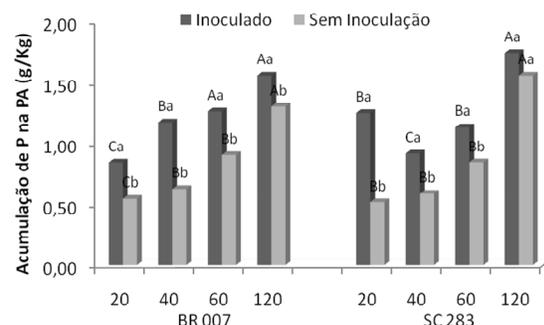


Figura 5. Acúmulo de P na parte aérea de dois genótipos de sorgo (BR007 e SC283) inoculado ou sem inoculação do FMA *Rhizophagus clarus* em diferentes níveis de P. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula ou minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, respectivamente, para níveis de P e inoculação dentro de um mesmo nível de P.