

## **Análise da morfologia do sistema radicular e da expressão de genes visando a associação com a eficiência na aquisição de fósforo em milho**

Sylvia M. de Sousa<sup>1</sup>, Sidney N. Parentoni<sup>1</sup>, Cláudia T. Guimarães<sup>1</sup>, Jurandir V. de Magalhães<sup>1</sup> e Maria J. V. de Vasconcelos<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 Km 45 – Sete Lagoas – Brasil  
smsousa@cnpmc.embrapa.br, sidney@cnpmc.embrapa.br, claudia@cnpmc.embrapa.br,  
jurandir@cnpmc.embrapa.br, mjose@cnpmc.embrapa.br

Palavras-chave: *Zea mays*, fenotipagem, raiz, PCR em tempo real.

### **Introdução**

O fósforo (P) é um dos nutrientes minerais mais importantes para o crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo o segundo mineral que mais limita a produção de grãos, depois do nitrogênio (ALVES, 2005). Ele compreende cerca de 0,2 % do peso seco da planta, o que pode variar de acordo com o estágio de desenvolvimento, do órgão em questão e da espécie analisada (SCHACHTMAN et al., 1998). O fósforo desempenha um papel-chave como componente de moléculas como ácidos nucleicos, ATP, fosfolipídeos, dentre outros. Diversos processos celulares que dependem de energia, como fotossíntese, estoque de energia e metabolismo de carboidrato, dependem de um suprimento adequado de P (RAGHOTHAMA, 1999; HAMMOND et al., 2004; RAGHOTHAMA; KARTHIKEYAN, 2005).

A falta de fósforo nas plantas se inicia com uma miríade de respostas transcricionais, bioquímicas e fisiológicas que servem para aumentar a habilidade da planta de adquirir P do solo e aumentar a eficiência com a qual a planta utiliza P internamente (HAMMOND; WHITE, 2008; LYNCH, 2007). É provável que as plantas possam detectar tanto o status de P total na planta, aumentando a eficiência do uso de P internamente, quanto variações locais de P, permitindo a proliferação de raízes para regiões ricas em P (FORDE; LORENZO, 2001; AMTMANN et al., 2006).

As plantas desenvolveram inúmeras adaptações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares para se adaptar a condições limitantes de P (VANCE et al., 2003; HAMMOND et al., 2004; RAGHOTHAMA; KARTHIKEYAN, 2005; JAIN et al., 2007; LYNCH, 2007). Mudanças na morfologia e na arquitetura da raiz, acúmulo de antocianinas, secreção de fosfomonoesterases e ácidos orgânicos na rizosfera, melhoram a eficiência da absorção de P (RAGHOTHAMA, 1999). O objetivo final dessas mudanças adaptativas é a maior disponibilização de P na rizosfera, favorecendo a absorção de P e a manutenção do metabolismo da planta. Para explorar ao máximo o P do solo, as plantas aumentam a razão raiz:parte aérea e a superfície das raízes (MARSCHNER, 1995).

Um elaborado sistema de raízes é necessário para a absorção eficiente de água e nutrientes na planta em desenvolvimento. O milho apresenta um sistema radicular complexo formado por diferentes tipos de raízes. Durante a embriogênese, a raiz primária é originada do núcleo polar basal do embrião enquanto um número variável de raízes seminais é formado no escutelo. Estas raízes são relevantes apenas durante os estágios iniciais do desenvolvimento da plântula (HOCHHOLDINGER et al., 2004). Nos estágios posteriores, um extenso sistema de raízes pós-embriônicas desenvolvidas a partir do broto formam a maior parte das raízes da planta adulta. O mutante *rtcs*

(*rootless concerning crown and seminal roots*) de milho (HERTZ et al., 1996) foi identificado por apresentar ausência total de raízes seminais embriônicas e pós-embriônicas formadas a partir do broto. Este mutante tem apenas a raiz primária e suas laterais.

O formato da célula, definido pela parede celular, é determinado por meio da combinação da orientação da divisão celular e de sua expansão. O formato da célula é importante para a sua função e a alteração da sua forma pode ocorrer devido a respostas aos sinais bióticos e abióticos. O gene *bk2*, que pertence à família gênica COBRA, está envolvido no processo de biossíntese e expansão da parede celular. Este gene parece estar envolvido com a formação da parede celular secundária. Já o outro membro da família COBRA, *bk2l3*, que também está envolvido com expansão celular, parece atuar na formação de parede celular primária. Existem na literatura dados que mostram que membros específicos desta família respondem diferencialmente a tratamentos de hormônios e a estresses (BRADY et al., 2007). Já o gene *scarecrow (scr)* é necessário para a segunda divisão assimétrica da célula que dá origem a endoderme (HELARIUTTA et al., 2000), conferindo o padrão radial das raízes.

A percepção de baixo P na rizosfera e o aumento da produção de etileno pode aumentar a formação e a elongação dos pelos radiculares (ZHANG et al., 2003), que aumenta significativamente o volume de solo explorado. Nas plantas cultivadas, os pelos radiculares contribuem com até 77% da área total de raiz, maximizando o volume de solo a ser explorado com um mínimo de biomassa possível. Eles são um instrumento para aquisição de nutrientes, água, ancoragem e interação com micro-organismos (GILROY; JONES, 2000). Os pelos radiculares, que são unicelulares, são uma das poucas células das plantas superiores que usam o crescimento por meio do ápice (KROPFT et al., 1998). A deposição de polímeros de parede celular ocorre via exocitose polar, dando origem aos pelos radiculares. A exocitose é um evento fundamental de tráfico de membrana que media a incorporação de proteínas e lipídeos para a membrana plasmática recém-formada, sendo responsável pelo crescimento e pela polaridade celular (HSU et al., 1999). No milho, três mutantes para a formação de pelos radiculares, *roothairless1, 2, e 3 (rth1, rth2, rth3)*, foram identificados por afetar a elongação dos pelos radiculares, porém exibem iniciação normal da formação do pelo radicular (WEN; SCHNABLE, 1994). Mutantes com defeitos na formação de pelos radiculares têm menor capacidade na aquisição de P e crescem menos do que os genótipos selvagens (HOCHHOLDINGER; TUBEROSA, 2009).

O presente trabalho buscou padronizar os critérios de caracterização fenotípica de genótipos contrastantes de milho em câmara de crescimento e realizar estudos de expressão gênica. A integração das técnicas de fisiologia e biologia avançada poderá auxiliar os programas de melhoramento genético à medida que informações úteis forem geradas, uma vez que as características em questão são de grande interesse para os melhoristas e de difícil seleção.

## **Material e Métodos**

### **1. Materiais genéticos**

Os genótipos de milho utilizados foram provenientes do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo. As linhagens (L3 e L22) utilizadas neste projeto já foram avaliadas em condições de campo por Parentoni (2008).

### **2. Caracterização morfológica do sistema radicular**

As sementes dos genótipos de milho foram desinfetadas com hipoclorito de sódio (0,5% por 5 minutos) e germinadas em papel de germinação (BRASIL et al., 2007; LIU et al., 1998). Após a germinação por quatro dias, plântulas uniformes foram selecionadas para posterior retirada do endosperma remanescente nas sementes, visando eliminar as reservas nutricionais da planta e garantir o estresse de P nos tratamentos com baixo nível do nutriente. Foi utilizada solução nutritiva de Hoagland's modificada com pH ajustado para 5,65, que foi trocada a cada três dias, baseada no uso de pastas de arquivo forradas com papel de germinação (LIU et al., 1998). Os genótipos de milho eficiente (L3) e ineficiente (L22) a P foram avaliados em diferentes concentrações de P (0, 2,5, 150 e 250  $\mu$ M) em câmara de crescimento sob condições de iluminação e temperatura controladas. As plântulas de milho foram analisadas com 3, 6, 9, 12 e 15 dias após a aplicação dos tratamentos, sendo a solução trocada a cada três dias.

Foram avaliados diferentes aspectos da raiz. A avaliação foi feita com o software Winrhizo v. 4.0 (Regent Systems, Quebec, Canadá), acoplado ao escâner Epson XL 10000 equipado com unidade de luz adicional (TPU). Foi também avaliado a proporção raiz:parte aérea. A parte aérea e a raiz foram secas separadamente a 65°C até peso constante.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. Para cada tratamento foram usadas três plantas. Foram feitos três experimentos em épocas diferentes, totalizando nove repetições para o estabelecimento da concentração de P e tempo de coleta. Foi feita análise de variância ( $p < 0,05$ ) e comparações de médias pelo teste de t de Student (LSD) ( $p < 0,05$ ) para os resultados de produção de matéria seca e características de morfologia de raiz.

### 3. Quantificação de fósforo

A análise de fósforo da parte aérea e raízes foi feita no laboratório de análises químicas de plantas da Embrapa Milho e Sorgo utilizando o método espectrofotométrico de análise com azul de molibdênio (MALAVOLTA et al., 1989; SILVA, 1999).

### 4. Análise de expressão gênica

A expressão gênica foi feita utilizando-se PCR quantitativo em tempo real. A análise dos genes foi realizada em plantas crescidas em baixo e alto P (2,5 e 250  $\mu$ M) e coletadas com 12 dias após o início do tratamento. As raízes foram coletadas, imersas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C até o momento da extração do RNA total.

O RNA total foi extraído por TRI Reagent (Sigma), seguindo as recomendações do fabricante em conjunto com os tubos "phase-lock" (Eppendorf, Hamburg, Germany). A concentração de RNA obtida foi determinada pela leitura de absorbância a 260, 280 e 320  $\eta$ m e a sua qualidade foi verificada por eletroforese em gel de agarose.

Para a análise de RT-PCR quantitativo, a síntese do cDNA complementar foi realizada utilizando-se 1  $\mu$ g de RNA total, previamente tratados com DNase I. A síntese de cDNA foi realizada com o kit "High Capacity cDNA Reverse Transcription" (ABI).

As condições de PCR foram otimizadas em função dos *primers* específicos para o gene de interesse e para o controle (18S ribossomal - 5rRNA18S\_RT: CGTCCTAGTCTCAACCATAAACG, 3rRNA18S\_RT: CCCCCGAACCCAAAGACT). As análises de RT-PCR quantitativo foram realizadas no equipamento ABI7500 utilizando as técnicas de SybrGreen, segundo as recomendações do fabricante.

Foram desenhados e analisados *primers* específicos para os genes relacionados com estrutura de raiz: *roothairless* 1 (5rth1\_RT: CAACCGGAAAGTTGACGAAT, 3rth1\_RT: ACAACTCGTCGGAGGTCAGT), *roothairless* 3 (5rth3\_RT: TGGGTCCGACTACCTTGTTTC, 3rth3\_RT: AAGCCATCTCCAGCAACAAC), *brittle stalk-2-like* protein 3 (5bk2l3\_RT: AACCCAAGTGGGTCAAACCTG,

3bk213\_RT: ATTGTACAAGGGGCTGACCA), *brittle stalk-2* (5bk2\_RT: AAGGACCTTCACCTTCAGCA, 3bk2\_RT: GCAGGTAGGGGTAGGAGTC) , *rootless concerning crown e seminal lateral roots* (5rtcs\_RT: CGCCGTCACCATCTCCTAC, 3rtcs\_RT: GGGTCATAACCTGCTGCTGT), *scarecrow* (5SCR\_RT: CTCGCTCTACGACGTCCTG, 3SCR\_RT: CGCCGAGTAGTAGTGGATGG).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições. Para cada tratamento foram usadas três plantas. A significância dos resultados foi feita a análise de variância ( $p < 0,05$ ) e comparações de médias pelo teste de t de Student (LSD) ( $p < 0,05$ ).

## Resultados e Discussão

Neste trabalho foi analisada a morfologia das raízes. Inicialmente, buscou-se analisar o melhor tempo e a melhor dose de P para diferenciar os genótipos contrastantes para determinar uma condição ideal de triagem de plantas precoces para eficiência a P. Nos cereais, o sistema primário radicular domina na fase inicial do desenvolvimento, enquanto nos estágios tardios o sistema adventício predomina e ambos os sistemas são modulados por condições ambientais. Deste modo é necessário tentar estabelecer uma conexão entre os estádios precoce e tardio de desenvolvimento da planta tentando encontrar a melhor condição de avaliação de estresse que a planta pode sofrer, para assim selecionar plantas mais eficientes de forma mais rápida.

As raízes e partes aéreas foram analisadas quanto ao conteúdo de P. Além disso foi feita a proporção raiz:parte aérea após a obtenção do peso seco constante. A análise por meio do software Whinrhizo forneceu 34 medidas de diferentes aspectos da morfologia da raiz, sendo elas comprimento (cm), área projetada ( $\text{cm}^2$ ), superfície total ( $\text{cm}^2$ ), média de diâmetro (mm), comprimento total por metro cúbico de solo ( $\text{cm}/\text{m}^3$ ), volume total ( $\text{cm}^3$ ), número de pontas, número de intersecções e número de ramificações. Além de comprimento de raiz (L), área de superfície (SA), área projetada (PA), volume (V) e número de pontas (T) dividido nos seguintes diâmetros  $0,000 < X, \leq 1,000$ ,  $1,000 < X, \leq 2,000$ ,  $2,000 < X, \leq 3,000$ ,  $3,000 < X, \leq 4,000$ ,  $4,000 < X, > 4,500$ .

Baseando-se nas informações obtidas pelas análises estatísticas observou-se uma diferença significativa entre os genótipos contrastantes, sendo uma maior quantidade das seguintes características no genótipo L3 (eficiente): conteúdo de P na parte aérea, peso seco, volume de raiz, número de pontas, L2, SA2, PA2, V2, T1, T2 e T3. Estas diferenças entre os genótipos independentemente da dose de P para estas características corroboram com o que foi observado por Brasil et al. (2007) e Cantão et al. (2008). Para o fator dose foi observado um maior conteúdo de P na parte aérea do genótipo L3. Para o fator tempo, com exceção de L3, SA3, PA3, V3, T3, T4 e T5, todas as características foram significativas, o que mostrou um aumento de raízes mais finas, o que corrobora com o desenvolvimento de raízes laterais, coronais e adventícias conforme as plântulas vão se desenvolvendo.

Em relação às interações genótipo\*tempo foi significativo o diâmetro médio, L2, SA2, PA2 e V2, e para genótipo\*dose SA2, PA2 e V2 foram significativas. Foi verificado que para interação genótipo\*tempo a diferença entre os genótipos foi observada em 12 e 15 dias de tratamento. A partir desse resultado foi feita uma análise genótipo\*dose em 12 dias de tratamento, que mostrou uma diferença significativa entre os genótipos na dose 2,5 uM de P para as características SA2, PA2 e V2, que são relativas à área de superfície, área projetada e volume no diâmetro  $1,000 < X, \leq 2,000$

mm (Figura 1). Analisando-se estas características aos 12 dias após o início do tratamento foi observado uma diferença significativa entre L3 e L22 com a dose 2,5  $\mu$ M (baixo P). Porém não foi observada uma diferença em alta dose de P (150 e 250  $\mu$ M) e com 0  $\mu$ M P. É interessante notar as quantidades de raízes finas neste tempo, pois em alto P não houve diferenciação dos genótipos e sim em baixo P, assim como observado por Parentoni (2008), quando comparou-se os genótipos quanto ao critério de eficiência de aquisição e utilização de P para produção de grãos. O fato de não ter sido observada diferença com 0  $\mu$ M pode ser devido ao fato de não ter havido estímulo de P ou ao fato do estresse ser muito alto com dose nula de P, indicando que uma dose baixa pode ser melhor para diferenciar os genótipos quanto à eficiência do que uma dose nula. O diâmetro de raiz  $1,000 < X, \leq 2,000$  parece ser relativa às raízes seminais ou adventícias, porém um estudo mais detalhado precisa ser feito.

Um elaborado sistema de estoque de raízes é necessário para a absorção eficiente de água e nutrientes na planta em desenvolvimento. O milho apresenta um sistema complexo composto por diferentes tipos de raízes formados durante as diferentes fases do desenvolvimento. As raízes seminais são relevantes apenas durante os estágios iniciais do desenvolvimento da plântula de milho (HOCHHOLDINGER et al., 2004). Nos estágios posteriores, um extenso sistema de raízes pós-embriônicas saídas do broto formam a maior parte das raízes estoques da planta adulta. Este tipo de raiz parece ser o diferencial entre os genótipos contrastantes a P, visto que foi encontrado um maior número de raízes com diâmetro entre 1-2 mm, que parece ser relativo a este tipo de raiz, e foi observada uma maior expressão do gene *rtcs* no genótipo eficiente (L3) (Figura 2).

O formato da célula da planta é alcançado por meio de uma combinação de orientação da divisão e expansão celular e é definida pela parede celular. O formato da célula é importante para sua função e a alteração da sua forma pode ocorrer devido a respostas a sinais bióticos e abióticos. O gene *bk2*, que pertence à família gênica COBRA, está envolvido no processo de biossíntese e expansão da parede celular e foi mais expresso no genótipo eficiente (Figura 2). Este gene parece estar envolvido com a formação da parede celular secundária. Já o outro membro da família COBRA, *bk2l3*, que também está envolvido com expansão celular, não apresentou diferença entre os genótipos (Figura 2). Existem na literatura dados que mostram que membros específicos desta família respondem diferencialmente a tratamentos de hormônios e estresse (BRADY et al., 2007). Já o gene *scarecrow (scr)* é necessário para a segunda divisão assimétrica da célula que dá origem a endoderme (HELARIUTTA et al., 2000), conferindo o padrão radial das raízes. Este gene não apresentou diferença entre os genótipos (Figura 2).

Os pelos radiculares aumentam a superfície da raiz para ajudar na absorção de água e nutrientes e para interação com a rizosfera biótica e abiótica. O gene *rth1*, que codifica uma proteína do tipo SEC-3, não apresentou diferença entre os genótipos (Figura 3). O gene *rth3*, que codifica uma proteína do tipo COBRA, se apresentou mais expresso no genótipo eficiente (L3) em baixo P, o que pode indicar pelos radiculares mais longos e mais abundantes (Figura 2). É sabido que este gene tem a expressão mais elevada em raízes primárias jovens (HOCHHOLDINGER; ZIMMERMANN, 2008), que é a principal raiz encontrada em plântulas, como as que foram utilizadas neste trabalho.

## Conclusões

Existe uma diferença significativa entre os genótipos contrastantes utilizando-se 2,5 uM de P a partir de 12 dias de tratamento.

As principais características fenotípicas para distinguir os genótipos foram o volume radicular, conteúdo de P na parte aérea, proporção raiz:parte aérea e quantidade de raízes com 1-2 mm de diâmetro.

Os experimentos de expressão em tempo real mostraram que os genes *rth3*, *bk2* e *rcts* foram os mais eficientes para se diferenciar os genótipos contrastantes em baixo P.

## Referências

ALVES, V. M. C. Mechanisms of plant adaptations to low phosphorus conditions. In: WORKSHOP, 2005, Brasília, DF. **Advances in improving acid soil adaptation of tropical crops and forages, and management of acid soil**. Cali: CIAT, 2005. p. 3-4. Disponível em: <[http://webapp.ciat.cgiar.org/forrajes/pdf/acid\\_soils\\_brazil\\_workshop\\_abstracts\\_05.pdf](http://webapp.ciat.cgiar.org/forrajes/pdf/acid_soils_brazil_workshop_abstracts_05.pdf)>. Acesso em: 20 maio 2010.

AMTMANN, A.; HAMMOND, J. P.; ARMENGAUD, P.; WHITE, P. J. Nutrient sensing and signaling in plants: potassium and phosphorus. **Advances in Botanical Research**, New York, v. 43, p. 209-256, 2006.

BRADY, S. M.; SONG, S.; DHUGGA, K. S.; RAFALSKI, A.; BENFEY, P. N. Combining expression and comparative evolutionary analysis: the COBRA gene family. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 143, p. 172-187, 2007.

BRASIL, E. C.; CARVALHO, V. M.; MARRIEL, I. E.; PITTA, G. V. E.; CARVALHO, J. G. Matéria seca e acúmulo de nutrientes em genótipos de milho contrastantes quanto a aquisição de fósforo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 704-712, 2007.

CANTÃO, F. R. O.; DURAES, F. O. M.; OLIVEIRA, A. C.; SOARES, A. M.; MAGALHAES, P. C. Morphological attributes of root system of maize genotypes contrasting in drought tolerance due to phosphorus stress. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 7, n. 2, p. 113-127, 2008.

FORDE, B.; LORENZO, H. The nutritional control of root development. **Plant and Soil**, The Hague, v. 232, p. 51-68, 2001.

GILROY, S.; JONES, D. L. Through form to function: root hair development and nutrient uptake. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 5, p. 56-60, 2000.

HAMMOND, J. P.; BROADLEY, M. R.; WHITE, P. J. Genetic responses to phosphorus deficiency. **Annals of Botany**, Oxford, v. 94, p. 323-332, 2004.

HAMMOND, J. P.; WHITE, P. J. Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 59, p. 93-109, 2008.

HELARIUTTA, Y.; FUKAKI, H.; WYSOCKA-DILLER, J.; NAKAJIMA, K.; JUNG, J.; SENA, G.; HAUSER, M. T.; BENFEY, P. N. The SHORT-ROOT gene controls radial patterning of the Arabidopsis root through radial signaling. **Cell**, Cambridge, v. 101, p. 555-567, 2000.

HERTZ, W.; HOCHHOLDINGER, F.; SCHWALL, M.; FEIX, G. **Plant Journal**, Oxford, v. 10, p. 845-857, 1996.

HOCHHOLDINGER, F.; TUBEROSA, R. Genetic and genomic dissection of maize root development and architecture. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 12, n. 2, p. 172-177, 2009.

HOCHHOLDINGER, F.; WOLL, K.; SAUER, M.; DEMBINSKY, D. Genetic dissection of root formation in maize (*Zea mays*) reveals root-type specific development programmes. **Annals of Botany**, Oxford, v. 93, p. 359-368, 2004.

HOCHHOLDINGER, F.; WEN, T. J.; ZIMMERMANN, R.; CHIMOT-MAROLLE, P.; COSTA E SILVA, O. da; BRUCE, W.; LAMKEY, K. R.; WIENAND, U.; SCHNABLE, P. S. The maize (*Zea mays* L.) *roothairless3* gene encodes a putative GPI-anchored, monocot-specific, COBRA-like protein that significantly affects grain yield. **Plant Journal**, Oxford, v. 54, p. 888-898, 2008.

HOCHHOLDINGER, F.; ZIMMERMANN, R. Conserved and diverse mechanisms in root development. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 11, p. 70-74, 2008.

HSU, S. C.; HAZUKA, C. D.; FOLETTI, D. L.; SCHELLER, R. H. Targeting vesicles to specific sites on the plasma membrane: the role of the sec6/8 complex. **Trends in Cell Biology**, Oxford, v. 9, p. 150-153, 1999.

JAIN, A.; POLING, M. D.; KARTHIKEYAN, A. S.; BLAKESLEE, J. J.; PEER, W. A.; TITAPIWATANAKUN, B.; MURPHY, A. S.; RAGHOTHAMA, K. G. Differential effects of sucrose and auxin on localized phosphate deficiency-induced modulation of different traits of root system architecture in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Bethesda v. 144, p. 232-247, 2007.

KROFT, D. L.; BISGROVE, S. R.; HABLE, W. E. Differing roles of cytoskeleton in intercalary growth and tip growth of plant cells. **Current Opinion in Cell Biology**, London, v. 10, p. 117-122, 1998.

LIU, C.; MUCHHAL, U. S.; MUKATIRA, U.; KONONOWICZ, A. K.; RAGHOTHAMA, K. G. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissues by phosphorus. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 116, p. 91-99, 1998.

LYNCH, J. P. Roots of the second green revolution. **Australian Journal of Botany**, Victoria, v. 55, p. 493-512, 2007.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba: Potafos, 1989. 201 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutritional of higher plants**. 2<sup>nd</sup> ed. Boston: Academic Press, 1995.

PARENTONI, S. N. **Estimativas de efeitos gênicos de diversos caracteres relacionados à eficiência e resposta ao fósforo em milho tropical**. 2008. 207 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

RAGHOTHAMA, K. G. Phosphate acquisition. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 665-693, 1999.

RAGHOTHAMA, K. G.; KARTHIKEYAN, A. S. Phosphate acquisition. **Plant and Soil**, The Hague, v. 274, p. 37-49, 2005.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, T. J.; AYLING, S. M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 116, p. 447-453, 1998.

SILVA, F. C. da (Org.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; Rio de Janeiro: Embrapa Solos; Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 1999. 370 p.

TARAMINO, G.; SAUER, M.; STAUFFER, J. L.; MULTANI, D.; NIU, X.; SAKAI, H.; HOCHHOLDINGER, F. The maize (*Zea mays* L.) *RTCS* gene encodes a LOB domain protein that is a key regulator of embryonic seminal and post-embryonic shoot-borne root initiation. **Plant Journal**, Oxford, v. 50, p. 649-659, 2007.

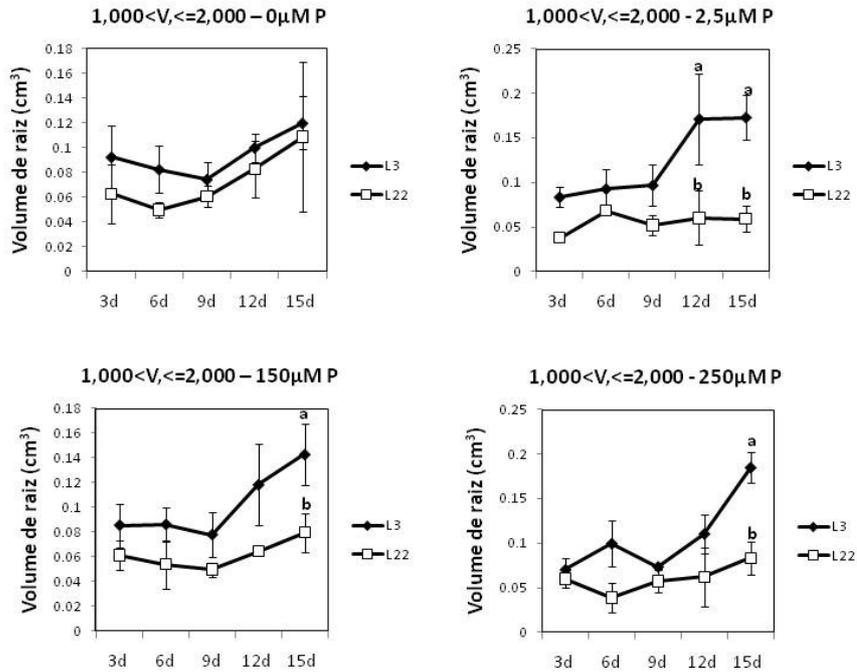
VANCE, C. P.; UHDE-STONE, C.; ALLAN, D. L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. **New Phytologist**, Oxford, v. 157, p. 423-447, 2003.

WEN, T. J.; HOCHHOLDINGER, F.; SAUER, M.; BRUCE, W.; SCHNABLE, P. S. The *roothairless1* gene of maize encodes a homolog of *sec3*, which is involved in polar exocytosis. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 138, p. 1637-1643, 2005.

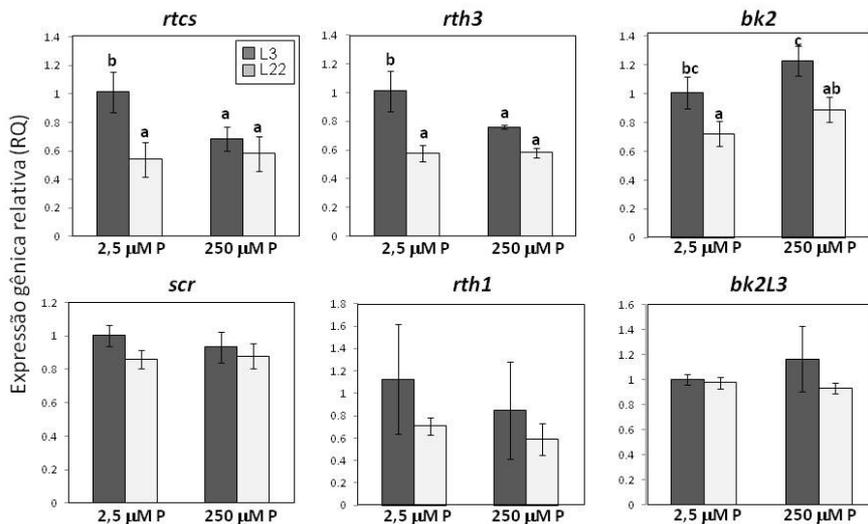
WEN, T. J.; SCHNABLE, P. S. Analyses of mutant of three genes that influence root hair development in *Zea mays* (Gramineae) suggest that root hairs are dispensable. **American Journal of Botany**, Bronx, v. 81, p. 833-842, 1994.

ZHANG, Y. J.; LYNCH, J. P.; BROWN, K. M. Ethylene and phosphorus availability have interacting yet distinct effects on root hair development. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 54, p. 2351-2361, 2003.

Apoio: FAPEMIG



**Figura 1.** Volume de raiz ( $\text{cm}^3$ ) de plântulas de milho com diâmetro entre 1,000 e 2,000 mm. As medidas foram obtidas por meio do software Winrhizo v. 4.0 (Regent Systems, Quebec, Canada). As plântulas de milho foram coletadas com 12 dias após transplante para solução de Hoagland's com 4 doses de P (0, 2,5, 150 e 250  $\mu\text{M}$ ). Foram analisados 2 genótipos contrastantes L3 (eficiente) e L22 (ineficiente) para aquisição de P. As barras de erro correspondem a SEM de 9 repetições com 3 plantas cada. As barras com a mesma ou sem nenhuma letra não diferem pelo teste t de Student (LSD) ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2.** Análise da expressão gênica relativa (RQ) por PCR em tempo real em raízes de plântulas de milho em 2 genótipos contrastantes L3 (eficiente) e L22 (ineficiente) para aquisição de P e duas concentrações de P (2,5 e 250  $\mu\text{M}$ ) aos 12 dias após o início do tratamento. As barras de erro correspondem a SEM de 3 repetições com 3 plantas cada. As barras com a mesma ou sem nenhuma letra não diferem pelo teste t de Student (LSD) ( $p < 0,05$ ).