

Caracterização da tolerância ao alumínio em linhagens de sorgo¹

Débora Éllen Moreira da Silva², Beatriz de Almeida Barros³, Claudia Guimarães Teixeira⁴, Ubiraci Gomes de Paula Lana³, Geraldo Carvalho Jr⁵, Jurandir Pereira Segundo⁵, Claudio Prates Zago⁵, Janio Sebastião Delboni⁵ e **Jurandir Vieira Magalhães⁴**

¹ Trabalho financiado pelo CNPq; ² Estudante do Curso de Biotecnologia da Faculdade Ciências da Vida, Bolsista PIBIC do Convênio CNPq/Embrapa; ³ Analista da Embrapa Milho e Sorgo; ⁴ Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo; ⁵ Pesquisador da Helix Sementes e Mudanças Ltda.

Introdução

O sorgo (*Sorghum bicolor*), espécie domesticada no quadrante nordeste da África, é um cereal com diversas utilizações em todo o planeta, como na produção de grãos e forragem para alimentação animal, na produção de etanol de segunda geração e na alimentação humana. Por ser uma espécie que se adapta melhor a ambientes com temperaturas acima de 20 °C, o sorgo é cultivado em países tropicais e subtropicais, como o Brasil. Entretanto, graças a técnicas de melhoramento genético, o cultivo do sorgo é hoje possível além destas zonas tropicais (Eichholz et al., 2020; Maneira, 2020).

Como uma de suas principais características é a sua adaptabilidade a diferentes ambientes, o sorgo vem sendo alvo de diversas pesquisas visando ao aumento da produtividade e da tolerância ao alumínio (Al) em solos ácidos (pH < 4). Outro foco é o desenvolvimento de cultivares de sorgo mais resistentes a altas temperaturas e ao estresse hídrico, e mais eficientes na utilização de nutrientes (Maneira, 2020).

Em condições de baixo pH do solo (solos ácidos), o Al se dissocia em sua forma fitotóxica, Al³⁺, inibindo o crescimento radicular e a absorção de nutrientes e água pelas culturas, o que provoca grandes perdas de produtividade (Kochian, 1995). A toxicidade de Al é um entrave para a segurança alimentar em nível mundial, uma vez que os solos ácidos correspondem a mais de 50% das terras aráveis em todo o globo (Uexküll; Mutert, 1995).

Em sorgo, o gene *SbMATE*, localizado no loco *Alt_{SB}*, é responsável por cerca de 80% da variação fenotípica para a tolerância ao alumínio em uma população segregante derivada das linhagens BR007 (sensível ao Al) e SC283 (tolerante ao Al) (Magalhães et al., 2004). O gene *SbMATE* codifica uma proteína transportadora localizada na membrana plasmática das células do córtex radicular, que faz parte da família MATE (*Multidrug and toxic compound extrusion*), e promove a liberação de citrato para o ambiente extrarradicular (Magalhães et al., 2007). Na rizosfera, o citrato se liga ao Al

formando um composto estável e não tóxico, que não é absorvido pelo sistema radicular vegetal. Buscando determinar qual o real impacto do alelo superior do gene *SbMATE* na produtividade de sorgo cultivado em solos ácidos, Carvalho Jr. et al. (2016), utilizando avaliações para tolerância ao Al em hidroponia e para produção de grãos em um solo ácido, demonstraram que um QTL (*Quantitative Trait Loci*) de efeito maior, colocalizado com o loco *Alt_{SB}* na região terminal do cromossomo 3 de sorgo, foi responsável por um aumento de produtividade de $\sim 1 \text{ ton ha}^{-1}$ sem qualquer redução detectável na produção de grãos na ausência de toxidez de Al. Assim, a incorporação do alelo superior do gene *SbMATE* em programas de melhoramento para solos ácidos, via retrocruzamento assistido por marcadores moleculares, é uma estratégia extremamente vantajosa para o aumento da produção vegetal do sorgo cultivado em solos ácidos. Assim, o desenvolvimento de cultivares de sorgo tolerantes ao Al se tornou objeto de uma parceria entre a Embrapa Milho e Sorgo e a empresa Helix Sementes e Mudas Ltda.

Nesse sentido, como etapa inicial deste programa, o objetivo desse trabalho foi avaliar a tolerância ao alumínio de 10 linhagens-elite de sorgo provenientes da empresa parceira, nas quais se pretende introgradir o alelo superior do gene *SbMATE*.

Material e Métodos

Material vegetal

Para este estudo foram utilizadas 10 linhagens (RG210004, RG210003, BG210001, BG210005, BG210004, BG210002, BG210003, RG210001, RG210002 e RG210005) de sorgo provenientes da Helix Sementes e Mudas Ltda., parceira da Embrapa Milho e Sorgo. Como controles, foram utilizadas as linhagens SC566 e ATF14B, ambas tolerantes ao Al, e BR007 e BR012, que são altamente sensíveis ao Al.

Avaliação da tolerância ao alumínio

O experimento para avaliação da tolerância ao alumínio das linhagens em estudo foi realizado em câmara de crescimento, onde a temperatura foi mantida a 27 °C durante o dia e 21 °C no período da noite, com fotoperíodo de 12 horas e $18.330 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

As sementes foram desinfectadas com solução de NaOCl a 5% (v/v) por 5

minutos sob agitação e enxaguadas oito vezes com água deionizada. Em seguida, as sementes foram transferidas para papel de germinação umedecido e mantidas por 24 horas em germinador a 30 °C. Posteriormente, as sementes foram transferidas para câmara de crescimento, permanecendo nela por mais três dias.

Após a germinação, plântulas uniformes e sem danos visíveis nas raízes foram colocadas em copos dosadores de polietileno de 10 mL, contendo perfurações em sua base para acomodar a raiz seminal de cada plântula, e mantidas em solução nutritiva com pH ajustado para 4,0 com aeração contínua. Após 24 horas de aclimatação em solução nutritiva sem Al, o comprimento inicial da raiz (CI) foi medido. Metade das plântulas foi mantida em solução sem Al e a outra metade foi então transferida para a mesma solução, mas com a adição de 27 μM de atividade de Al^{3+} . Após cinco dias o comprimento final da raiz (CF) foi medido. O crescimento líquido da raiz (CLR) foi obtido pela diferença entre o CF e o CI de cada plântula nas soluções com e sem Al. O crescimento relativo da raiz seminal (CRR) foi calculado pela razão entre o CLR das plântulas na solução contendo Al e o CLR em condições controle (sem Al). Além disso, foi realizada uma avaliação visual de danos nos ápices radiculares de cada planta, que foi qualificada aplicando-se uma nota que variou de 1 a 5, onde 1 representa ausência de danos e 5 representa presença severa de danos causados pelo Al.

Resultados e Discussão

Os resultados de tolerância ao Al estão apresentados na Tabela 1 e nas Figuras 1 e 2. Dentre as 10 linhagens avaliadas, sete (RG210004, RG210003, BG210001, BG210005, BG210004 e BG210002) apresentaram CRR e nota de danos semelhantes aos controles BR012 e BR007. Foi possível verificar, até mesmo visualmente, uma redução acentuada no tamanho das raízes expostas ao estresse de Al. Sendo assim, essas linhagens foram classificadas como altamente sensíveis à toxidez de Al. Já as linhagens RG210001 e RB210002 apresentaram tolerância ao Al intermediária, com CRR de 52,25% e 53,28% e nota visual de dano de 4 e 1, respectivamente. Já a linhagem RG210005, com ápices radiculares saudáveis (nota de dano = 1) e CRR de 192,12%, mostrou-se altamente tolerante ao Al. Outra característica notável dessa linhagem é a acentuada proliferação de raízes secundárias na ausência de Al. Como essa linhagem já apresenta tolerância ao Al, a introgressão assistida do alelo favorável do gene *SbMATE* não se faz necessária.



Figura 1. Análise fenotípica da tolerância ao alumínio em linhagens de sorgo cultivadas em solução nutritiva sem (-Al) e com $27\mu\text{M}$ de atividade de Al^{3+} (+Al). Em (A) estão representadas as linhagens SC566 (controle tolerante) e BR012 (controle sensível). São mostradas as raízes das linhagens classificadas como sensível (B), de tolerância intermediária (C) e tolerante ao Al (D).

Tabela 1. Avaliação da tolerância ao alumínio em 10 linhagens da Helix Sementes e Mudas Ltda. para compor o programa de introgressão assistida do gene *SbMATE*.

| | RNRG (%) | | Avaliação de dano visual | Tolerância ao Alumínio |
|----------|----------|----------|--------------------------|------------------------|
| | Média | \pm DP | | |
| BR007* | 16,69 | 0,5 | 5 | Sensível |
| BR012* | 24,55 | 1,1 | 4 | Sensível |
| RG210004 | 13,06 | 0,6 | 4 | Sensível |
| RG210003 | 15,88 | 0,6 | 4 | Sensível |
| BG210001 | 16,80 | 1,3 | 5 | Sensível |
| BG210005 | 19,16 | 2,5 | 4 | Sensível |
| BG210004 | 24,04 | 1,2 | 4 | Sensível |
| BG210002 | 25,40 | 7,3 | 4 | Sensível |
| BG210003 | 26,05 | 1,6 | 4 | Sensível |
| RG210001 | 52,25 | 2,6 | 4 | Intermediária |
| RG210002 | 58,38 | 3,7 | 1 | Intermediária |
| RG210005 | 192,12 | 22,0 | 1 | Tolerante |
| SC566** | 152,13 | 5,7 | 1 | Tolerante |
| ATF14B** | 80,33 | 2,5 | 1 | Tolerante |

* Controles Sensíveis ** Controles Tolerantes

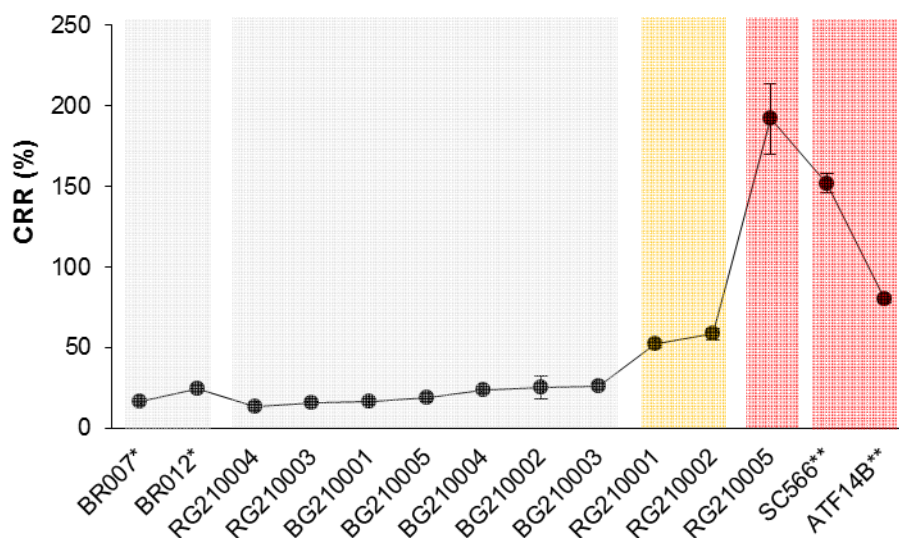


Figura 2. Tolerância ao alumínio em linhagens de sorgo da Helix Sementes e Mudas Ltda. avaliada com base no crescimento relativo da raiz (CRR) em solução nutritiva contendo {27} μM Al em solução nutritiva com $\text{pH} = 4,0$. Linhagens classificadas como sensíveis estão destacadas de cinza, enquanto que de amarelo e vermelho estão destacadas as linhagens com tolerância intermediária e tolerantes, respectivamente. As barras representam o desvio padrão das médias de CRR.

*Controles sensíveis ao Al: BR007 e BR012.

**Controles tolerantes ao Al: SC566 e ATF14B.

Conclusão

Foi possível determinar o fenótipo de tolerância ao alumínio das linhagens selecionadas pela Helix Sementes e Mudas Ltda. As nove linhagens classificadas como sensíveis ou com tolerância intermediária podem ser convertidas para linhagens tolerantes ao Al via introgressão do alelo superior do gene *SbMATE* de uma fonte doadora.

Referências

CARVALHO JR., G.; SCHAFFERT, R. E.; MALOSETTI, M.; VIANA, J. H. M.; MENEZES, C. B.; SILVA, L. A.; GUIMARÃES, C. T.; COELHO, A. M.; KOCHIAN, L. V.; EEUWIJK, F. A. van; MAGALHÃES, J. V. Back to acid soil fields: the citrate transporter *SbMATE* is a major asset for sustainable grain yield for sorghum cultivated on acid soils. **G3 Genes, Genomes, Genetics**, v. 6, p. 475-484, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1534/g3.115.025791>.

EICHOLZ, E. D.; BREDEMEIER, C.; BERMUDEZ, F.; MACHADO, J. R. de A.; GARRAFA, M.; BISPO, N. B.; AIRES, R. F. (ed.). **Informações técnicas para o cultivo do milho e sorgo na região subtropical do Brasil: safras 2019/20 e 2020/21**. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2020. 219 p. 1ª MISOSUL.

KOCHIAN, L. V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 46, p. 237-260, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.46.060195.001321>.

MAGALHÃES, J. V.; GARVIN, D. F.; WANG, Y. H.; 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**, v. 167, n. 4, p. 1905-1914, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1534/genetics.103.023580>.

MAGALHÃES, J. V. de; LIU, J.; GUIMARÃES, C. T.; LANA, U. G. de P.; ALVES, V. M. C.; WANG, Y-H.; SCHAFFERT, R. E.; HOEKENGA, O. A.; PINEROS, M. A.; SHAFF, J. E.; KLEIN, P. E.; CARNEIRO, N. P.; COELHO, C. M.; TRICK, H. N.; KOCHIAN, L. V. A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum. **Nature Genetics**, v. 39, n. 9, p. 1156-1161, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng2074>,

MANEIRA, R. Manejo do sorgo para altas produtividades. **Informativo Técnico Nortox**, p. 1-4, dez. 2020.

UEXKÜLL, H. R. von; MUTERT, E. Global extent, development and economic impact of acid soils. **Plant Soil**, v 171, p. 1-15, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00009558>.