

## VARIAÇÃO ALÉLICA DE DOIS GENES DE TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM TRIGO E SUA ASSOCIAÇÃO COM CRESCIMENTO RADICULAR

Jorge Fernando Pereira<sup>1</sup>, Diliane Barichello<sup>2</sup>, Jéssica Rosset Ferreira<sup>3</sup>, Jorge González Aguilera<sup>1</sup>, Luciano Consoli<sup>1</sup>, José Pereira da Silva Jr<sup>1</sup>, Sandro Bonow<sup>4</sup>, Adelião Cargini<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Trigo, Rodovia BR 285, km 294, CEP 99001-970, Passo Fundo - RS. E-mail: jorge.pereira@embrapa.br; <sup>2</sup>Instituto Agronômico do Paraná, Rodovia Celso Garcia Cid, km 375, CEP 86047-902, Londrina - PR; <sup>3</sup>Universidade de Passo Fundo, Rodovia BR 285, CEP 99052-900, Passo Fundo - RS; <sup>4</sup>Embrapa Clima Temperado, Rodovia BR 392 km 78, CEP 96001-970, Pelotas - RS; <sup>5</sup>Embrapa Uva e Vinho, Rua Livramento 515, CEP 95700-000, Bento Gonçalves - RS.

A acidez do solo é um fator que limita a produção agrícola, sendo que, no Brasil, a maioria dos solos utilizados na agricultura é naturalmente ácido. Nestes solos ocorre a solubilização do alumínio trivalente ( $Al^{3+}$ ) que, em alta concentração, se torna um importante estresse sendo responsável pela redução do crescimento radicular que pode, conseqüentemente, diminuir a absorção de água e nutrientes pelas plantas. A exsudação de ácidos orgânicos (malato e citrato) pelo ápice radicular é um dos mecanismos de tolerância ao  $Al^{3+}$  em trigo, sendo que estes ácidos se ligam ao  $Al^{3+}$  presente no solo diminuindo seu efeito tóxico. Dois genes que conferem tolerância ao  $Al^{3+}$  já foram identificados em trigo: o *TaALMT1*, que codifica um transportador de malato (Sasaki et al., 2006), e o *TaMATE1B*, que codifica um transportador de citrato (Tovkach et al., 2013). Para estes dois genes, a presença de diferentes repetições/elementos na região promotora está correlacionada com um aumento na expressão gênica que, conseqüentemente, é associada com maior exsudação de ácido orgânico e maior tolerância ao  $Al^{3+}$  (Sasaki et al., 2006; Tovkach et al., 2013). Os diferentes alelos da região promotora podem ser discriminados pela técnica de PCR (Sasaki et al., 2006; Garcia-Oliveira et al., 2014).

Neste trabalho, uma coleção de 300 genótipos de trigo, pertencentes à diferentes instituições brasileiras (Tabela 1), foi avaliada com o objetivo de identificar os alelos dos genes *TaALMT1* e *TaMATE1B* presentes nestes materiais. Para tanto, o DNA das plantas foi extraído e amplificado conforme protocolos publicados previamente (Sasaki et al., 2006; Tovkach et al., 2013). Além disso, 33 genótipos foram aleatoriamente selecionados para análise do crescimento radicular com intuito de identificar as combinações alélicas presentes nos materiais com melhor crescimento. Para estas análises, foi utilizado solo ácido coletado na Embrapa Trigo (latitude -28,216979, longitude -52,408428) com pH 4,2 e alumínio trocável representando 78,9% da capacidade total de troca de cátions. Parte do solo foi corrigido com calcário, o que aumentou o pH para 6,2 e reduziu o alumínio solúvel para 0%. Cinco sementes germinadas foram transferidas para vasos (25 cm de altura x 5 cm de diâmetro) contendo 450 g de solo e incubadas em casa de vegetação por 8 dias. Ao final do experimento, o comprimento da raiz mais longa de cada plântula foi medido e o CRR (crescimento relativo da raiz) foi estimado como (comprimento radicular no tratamento com solo ácido / comprimento da raiz em solo corrigido) x 100.

Sete alelos do promotor do gene *TaALMT1* (designados de I a VII) foram detectados (Tabela 1) com base no tamanho dos produtos de PCR. Os alelos mais comuns foram o Tipo V e VI (71,3% e 11,9%, respectivamente) sendo que estes alelos são geralmente associados com níveis mais elevados de expressão do gene e maior tolerância ao Al<sup>3+</sup> (Sasaki et al., 2006). Os promotores de Tipo I e Tipo II, geralmente associados com sensibilidade ao Al<sup>3+</sup>, foram detectados em 12,2% dos genótipos. Uma inserção no promotor do gene *TaMATE1B* (aqui designada com o símbolo "+") que é associada a uma maior resistência ao Al<sup>3+</sup> (Tovkach et al., 2013) foi identificada em 80 genótipos (Tabela 1). A combinação entre os alelos permitiu a separação em 12 haplótipos, onde apenas 68 dos 300 genótipos analisados apresentaram os alelos superiores dos dois genes (Tipos V e VI para o gene *TaALMT1* juntamente com a inserção no promotor do gene *TaMATE1B*). No entanto, o haplótipo mais representado foi Tipo V sem a inserção (aqui designada com o símbolo "-").

O experimento para análise do crescimento radicular, realizado em 33 genótipos que representam os 12 haplótipos, revelou que o CRR mais elevado foi observado em alguns genótipos apresentando os promotores Tipo V ou VI do gene *TaALMT1* juntamente com a inserção no promotor de *TaMATE1B* (Figura 1). Entretanto, estas mesmas combinações também foram detectadas em outros materiais que não apresentaram crescimento radicular significativamente maior. Quando os genótipos dentro do mesmo haplótipo são comparados, verifica-se uma tendência de maior crescimento radicular naqueles contendo a inserção no promotor do gene *TaMATE1B*, como pode ser observado para os genótipos Fortaleza, IAS 14, Aliança e IAC 21. Esta tendência de maior crescimento é significativa para alguns genótipos e não para outros. No mínimo, os materiais que apresentam a inserção na região promotora de *TaMATE1B* são estatisticamente similares aos que não a contem.

Em conclusão, uma elevada proporção de alelos superiores para o gene *TaALMT1* foi encontrada ainda que a maioria dos genótipos não apresentou a inserção no promotor do gene *TaMATE1B*. Uma vez que há uma tendência de maior crescimento radicular em materiais contendo esta inserção, é interessante aumentar a frequência deste alelo em genótipos brasileiros de trigo.

### **Referências bibliográficas**

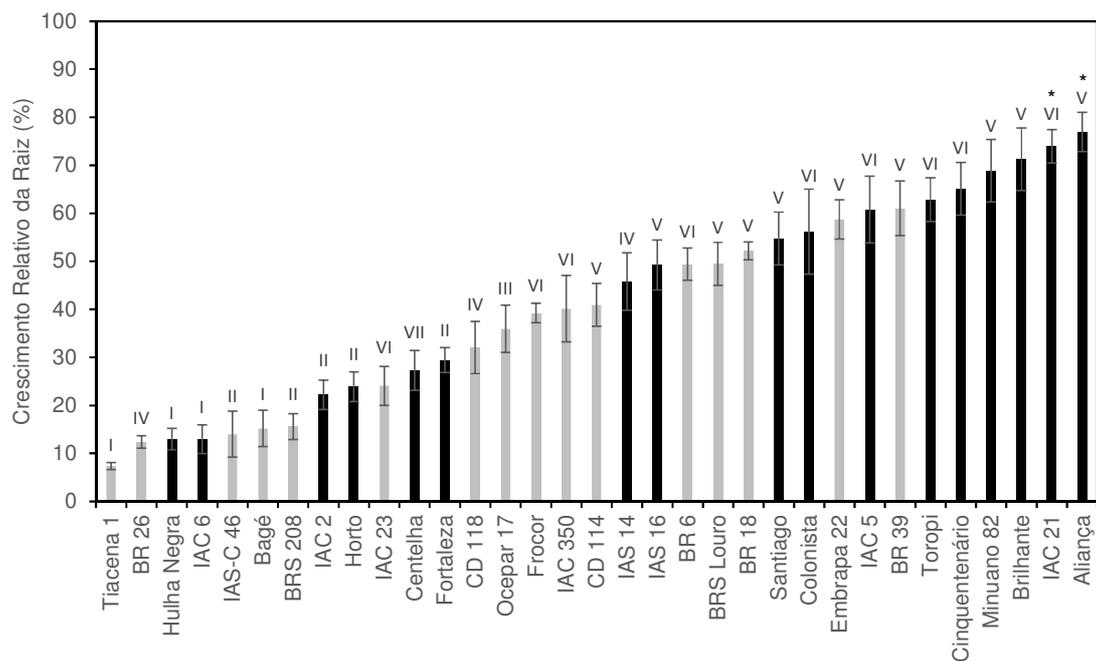
GARCIA-OLIVEIRA AL, MARTINS-LOPES P, TOLRÁ R, et al. (2014) **Molecular characterization of the citrate transporter gene *TaMATE1* and expression analysis of upstream genes involved in organic acid transport under Al stress in bread wheat (*Triticum aestivum*)**. *Physiologia Plantarum* 152:441-452

SASAKI T, RYAN PR, DELHAIZE E, et al. (2006) **Sequence upstream of the wheat (*Triticum aestivum* L.) *ALMT1* gene and its relationship to aluminum resistance**. *Plant Cell Physiology* 47:1343-1354

TOVKACH A, RYAN PR, RICHARDSON AE, et al. (2013) **Transposon-mediated alteration of *TaMATE1B* expression in wheat confers constitutive citrate efflux from root apices**. *Plant Physiology* 161:880-892

**Tabela 1.** Variação alélica da região promotora dos genes *TaALMT1* e *TaMATE1B* em uma coleção de trigo brasileiro.

| Genótipos   | Alelo<br><i>TaALMT1</i> | Alelo<br><i>TaMATE1B</i> |
|---|-------------------------|--------------------------|
| Bagé, Branco Ligeiro, BRS 264, Caçador 2, CD 104, Embrapa 10 - Guajá, Glória, IAC 22 - Araguaia, IAC 287 - Yaco, IAS 30 - São Sepé, Negroz 11-45, Ocepar 7 - Baturina, Palotina, Pampa, Tiacena 1, Trigo Libanes, e Veadeiros   | I                       | -                        |
| Hulha Negra, IAC 6 - Brasil, Tiacena 2, e Tiacena 3   | I                       | +                        |
| BRS 208, Candiota, Dom Marco, Esteana 11 a 42, Herval, IAS 58, IAS-C 46 - Curitiba, Minuano, Rio Sulino, e Trintani   | II                      | -                        |
| Fortaleza, Horto, IAC 2 - Kibeiro, IAPAR 33 - Guarapuava, IAS 15 - Campeiro, e Trintecincos   | II                      | +                        |
| Ocepar 17   | III                     | -                        |
| B 20, CD 118, BRS 207, IAPAR 28 - Igapó, IAPAR 29 - Cacatu, Ocepar 18, Ocepar 19, PAT 24, Trigo BR 20 - Guató, Trigo BR 26 - São Gotardo, e Trigo BR 31 - Miriti  | IV                      | -                        |
| IAS 14 - Contestado   | IV                      | +                        |
| Aceguá, Alegrete, B 5, B 8, B 15, Beckman, BH 1146, Branco Pelado, BRS 49, BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS 220, BRS 229, BRS Angico, BRS Camboatã, BRS Gaivota, BRS Guabiju, BRS Guamirim, BRS Louro, BRS Tangará, BRS Timbaúva, BRS Umu, Butuí, Candeias, Carazinho, CD 105, CD 114, Centidor 2118-46 B, CEP 11, CEP 13 - Guaíba, CEP 14 - Tapes, CEP 17 - Itapua, CEP 19 - Jatai, CEP 21 - Campos, CEP 24 - Industrial, CEP 27 - Missoes, Charrua, Cincana, CNT 2, CNT 3, CNT 4, CNT 5, CNT 7, CNT 8, CNT 9, CNT 10, Confiança, Cotiporã, Embrapa 21, Embrapa 22, Embrapa 24, Embrapa 27, Embrapa 41, Embrapa 42, Embrapa 52, Encruzilhada, Farrapo, Floreana, Florestana, Frontana, Fronteira, Fundacep 29, Fundacep 30, Garibaldi Vermelho, General Vargas, Giruá, IAC 1 - Cacique, IAC 7 - Bartira, IAC 17 - Maracá, IAC 18 - Xavantes, IAC 24 - Tucuruí, IAC 160 - Juruá, IAC 161 - Taiamã, IAC 227 - Anhumas, IAPAR 3 - Aracatu, IAPAR 6 - Tapejara, IAPAR 18 - Marumbi, IAPAR 21 - Taquari, IAPAR 22 - Guaraúna, IAPAR 32 - Guaratã, IAPAR 40 - Mirim, IAPAR 41 - Tamacoré, IAPAR 42 - Ibiara, IAPAR 60, IAPAR 78, IAS 2, IAS 6, IAS 13 - Passo Fundo, IAS 20 - IASSUL, IAS 23, IAS 24, IAS 25, IAS 28 - Ijuí, IAS 36 - Jarau, IAS 49 - Pioneiro, IAS 51 - Albatroz, IAS 54, IAS 55, IAS 56, IAS 59, IAS 62, IAS 64, IAS-C 47 - Florestal, IAS-C 48 - Guarapuava, IPR 84, IPR 85, Jacuí, Lagoa Vermelha, Lanceiro, Londrina, Mascarenhas, MG 1, Milagre, Milanes, Negroz 22-45, Negroz 3028-46, Nova Prata, Ocepar 8 - Macuco, Ocepar 9 - Perdiz, Ocepar 13 - Acauã, Ocepar 15, Ocepar 16, Ocepar 20, Ocepar 23, OR 1, Panda, PAT 18, PAT 7219, PAT 7392, Patriarca, Peladinho, Pinhal Grande, Pitana, Pitoco Pelado, Preludio, Quartzo, S 12, Safira, Sales, Santa Barbara, Sema 220, Serrano, Trigo BR 1, Trigo BR 2, Trigo BR 3, Trigo BR 4, Trigo BR 5, Trigo BR 8, Trigo BR 10 - Formosa, Trigo BR 11 - Guarani, Trigo BR 12 - Aruanã, Trigo BR 13, Trigo BR 14, Trigo BR 15, Trigo BR 16 - Rio Verde, Trigo BR 17 - Caiuá, Trigo BR 18 - Terena, Trigo BR 19, Trigo BR 21 - Nhandeva, Trigo BR 22, Trigo BR 23, Trigo BR 25, Trigo BR 28, Trigo BR 29 - Javaé, Trigo BR 30 - Cadiuéu, Trigo BR 32, Trigo BR 33 - Guará, Trigo BR 34, Trigo BR 38, Trigo BR 39 - Paraúna, Trigo BR 41 - Ofaié, Trigo BR 43, Trigo Chapéu, Tucano, e Veranópolis | V                       | -                        |
| B 4, B 9, Carazinho, Coloncol, Combate, Coxilha, Embrapa 15, Erexim, IAC 72 - Tapajós, IAPAR 34 - Guaraji, IAPAR 46, IAS 16 - Cruz Alta, IAS 17, IAS 22 - Tibaji, IAS 32 - Sudeste, IAS 34 - Xapécó, IAS 53, IAS 57, IAS 60, Londrina, MGS 1 Aliança, MGS 3 Brilhante, Minuano 82, Nobre, Ônix, PAT 1, PAT 9, PAT 19, RS 1 - Fênix, RS 2 - Santa Maria, RS 3 - Palmeira, S 76, Santiago, Surpresa, Trapeano, Trigo BR 7, Trigo BR 24, Trigo BR 27, Vacária, e Vila Rica   | V                       | +                        |
| Frocor, IAC 3 - Anhanguera, IAC 23 - Tocantins, IAC 350, IAPAR 53, Ocepar 10 - Garça, Ocepar 11 - Juriti, e Trigo BR 6  | VI                      | -                        |
| C 33, Cinquentenário, Colonista, Dom Feliciano, IAC 5 - Maringá, IAC 8 - Paraguaçu, IAC 21 - Iguaçú, IAC 286 - Takaoka, IAPAR 30 - Pirata, IAS 3 - São Borja, IAS 7, IAS 8 - Piratini, IAS 9, IAS 50 - Alvorada, IAS 52, Jesuíta, Nordeste, Novo Sulino, Novo Surto, PAT 10, PG 1, Planalto, RS 4 - Ibiraiaras, Seberi, Toropi, Trigo BR 9 - Cerrados, Trigo BR 37, e Trintecincos  | VI                      | +                        |
| Centelha  | VII                     | +                        |



**Figura 1.** Crescimento relativo da raiz (CRR) de 33 cultivares de trigo. As barras representam a porcentagem média do CRR. Números I a VII representam os diferentes alelos do promotor *TaALMT1*. As barras cinzas representam genótipos sem a inserção no promotor do gene *TaMATE1B* enquanto as barras pretas representam genótipos contendo a inserção. Os asteriscos indicam os CRRs significativamente superiores ( $P > 0,05$ ) em relação ao genótipo BR39, que apresentou o melhor CRR entre os materiais que não contém a inserção no promotor do gene *TaMATE1B*.