



ANAIS
2022

Aloisio Alcantara Vilarinho
Organizador

Comissão Organizadora da XXXIII Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada

33ª Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada
Passo Fundo, 02 e 03 de agosto de 2022

ANAIS

Aloisio Alcantara Vilarinho
Organizador

Passo Fundo, RS
2023

Capa e diagramação
Aloisio Alcantara Vilarinho

Logo da capa
DZ Gráfica

Organização dos originais
Aloisio Alcantara Vilarinho

Publicação digital (2023)
PDF

1ª edição
PDF

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

CIP – Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

R444a Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada (33. : 2022 : Passo Fundo, RS)
Anais da XXXIII Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada [Recurso eletrônico] /
Aloisio Alcantara Vilarinho, organizador. - Passo Fundo : Acervus, 2023.
6 MB ; PDF.

ISBN: 978-65-81266-67-7.

1. Cevada - Cultivo - Congressos. 2. Cultivos agrícolas. 3. Melhoramento genético.
I. Vilarinho, Aloisio Alcantara, org. II. EMBRAPA Trigo. III. Título.

CDU: 633.16

Catálogo: Bibliotecária Jucelei Rodrigues Domingues – CRB 10/1569

Observação:

A Comissão organizadora do XXXIII Congresso Nacional de Pesquisa de Cevada exime-se de qualquer garantia, seja expressa ou implícita, quanto ao uso destas informações técnicas. Destaca que não assume responsabilidade por perdas ou danos, incluindo-se, mas não se limitando, a tempo e dinheiro, decorrentes do emprego das mesmas, uma vez que muitas causas não controladas em agricultura podem influenciar no desempenho das tecnologias indicadas.

Comissão Organizadora

Presidente

Adriana Favaretto

Membros

Aloisio Alcantara Vilarinho

Noemir Antoniazzi

Promoção

Embrapa

Agrária

Ambev

Introgressão do alelo favorável do gene de resistência ao alumínio HvAACT1 em cultivares de cevada cervejeira

Elene Yamazaki Lau¹, Júlia dos Santos de Britto², Jorge Fernando Pereira³, José Pereira da Silva Júnior⁴, Euclides Minella⁵ e Aloisio Alcântara Vilarinho⁶

¹Engenheira florestal, Dra., pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS; ²Acadêmica do curso de Agronomia – UPF, ex-estagiária da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS; ³Biólogo, Dr., pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG; ⁴Engenheiro agrônomo, Dr., pesquisador da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS; ⁵Engenheiro agrônomo, Ph.D, pesquisador aposentado da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS; ⁶Engenheiro agrônomo, Dr., pesquisador da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

Resumo – A cevada é um dos cereais mais sensíveis ao Al³⁺, cuja toxicidade reduz o crescimento radicular em solos ácidos. O alelo do gene *HvAACT1*, que possui uma inserção na região promotora, está ligado à resistência ao Al³⁺ em cevada, à sua maior expressão gênica no ápice radicular e à maior exsudação de citrato. Nenhuma cultivar de cevada obtida por programas de melhoramento no Brasil possui este alelo, portanto, este trabalho objetivou introgridi-lo em cultivares brasileiras e avaliar o impacto na resistência ao Al³⁺. Para tanto, a cultivar americana Dayton (portadora do alelo favorável) foi cruzada com as cultivares brasileiras sensíveis ao Al³⁺ BRS Cauê, BRS Itanema e MN 6021. Após quatro ciclos de retrocruzamento, com seleção deste alelo via marcador molecular, as plantas foram avaliadas em experimento de curta duração em solo ácido. O alelo favorável do gene *HvAACT1* promoveu aumento na resistência em cultivares mais sensíveis ao Al³⁺.

Termos para indexação: *Hordeum vulgare*, solo ácido, melhoramento, seleção assistida por marcadores.

Introdução

A cevada (*Hordeum vulgare* spp. *vulgare*) é um dos cereais mais sensíveis ao alumínio tóxico (Al³⁺). Como resultado desta sensibilidade, o desenvolvimento do sistema radicular é prejudicado pela presença de Al³⁺, cuja concentração aumenta em solos com pH < 5,0 (Kochian et al., 2015). A redução do crescimento radicular leva à redução da absorção de nutrientes e água, tornando a planta mais propensa a doenças e estresse hídrico, reduzindo seu potencial produtivo.

O locus *Alp* no cromossomo 4 é o principal condicionante da resistência ao Al³⁺ em cevada e foi identificado por Minella e Sorrels (1992; 1997) na cultivar americana Dayton (CI 9517). O gene

localizado neste locus é denominado *HvAACT1* (*Hordeum vulgare aluminum-activated citrate transporter*) (Furukawa et al., 2007) ou *HvMATE* (*Hordeum vulgare multidrug and toxic compound extrusion protein*) (Wang et al., 2007). Este gene codifica um transportador de membrana responsável por exsudar citrato pelos ápices das raízes. Ao ser liberado pelas raízes, o citrato forma um complexo com Al^{3+} , minimizando seus efeitos negativos (Zhao et al., 2003). O *HvAACT1* é expresso constitutivamente nas raízes e a exsudação de citrato é ativada pela presença de Al^{3+} , existindo uma correlação positiva entre a exsudação de citrato e a resistência ao Al^{3+} (Zhao et al., 2003; Furukawa et al., 2007).

Uma inserção de cerca de 1 kb na região promotora de *HvAACT1* é encontrada apenas em genótipos de cevada cultivada resistentes ao Al^{3+} (Fujii et al., 2012; Ferreira et al., 2018). Esta inserção está relacionada à maior expressão de *HvAACT1* no ápice radicular, à maior quantidade de citrato exsudada pela raiz e conseqüente maior resistência ao Al^{3+} (Zhao et al., 2003; Wang et al., 2007; Fujii et al., 2012). Assim, o alelo que contém a inserção é considerado favorável. Ao investigar a variação alélica de *HvAACT1* em 50 cultivares e linhas de cevada de diferentes programas de melhoramento no Brasil, este alelo não foi detectado (Ferreira et al., 2018). Conseqüentemente, a resistência ao Al^{3+} em cevada brasileira é inferior quando comparada a genótipos com a inserção, tal como Dayton, cultivar amplamente usada como controle resistente ao Al^{3+} em cevada (Ferreira et al., 2018).

Neste contexto, este trabalho objetivou introgridir o alelo favorável do gene *HvAACT1* de tolerância a Al^{3+} , da cultivar americana Dayton, em três cultivares brasileiras de cevada cervejeira e avaliar a resistência ao Al^{3+} .

Material e métodos

Os cruzamentos foram realizados de 2014 a 2019, na Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS. A cultivar Dayton foi o parental masculino e as cultivares brasileiras BRS Cauê, BRS Itanema e MN 6021, sensíveis ao Al^{3+} , os parentais femininos. As plantas portadoras deste alelo foram os parentais masculinos até obter plantas RC1 do recorrente MN 6021, e até RC2 com BRS Cauê e BRS Itanema. Os genótipos recorrentes foram os parentais masculinos nos ciclos seguintes de retrocruzamentos (RC), até RC4. A seguir, as plantas foram autofecundadas por duas a cinco gerações para identificar plantas homozigotas. Para tanto, a cada geração, de 12 a 15 sementes foram semeadas para verificar a segregação do alelo superior. O alelo foi detectado por PCR nos RC e autofecundações, usando os primers TGCTTTTAGAGTGGCCAACA e CTCTCGATGCAGCAAGTCAG. Após obter as plantas homozigotas (quando todas as plantas testadas de uma população foram PCR positivas), estas foram submetidas a teste de curta duração em solo ácido. O solo, coletado na área experimental da Embrapa Trigo, foi ajustado para pH 4,4 e teor de alumínio trocável de 37,8 mmolc/dm³, correspondendo a 63% da CTC efetiva (solo ácido), e para pH 5,2 e 0,5 mmolc/dm³ de alumínio trocável (solo corrigido). As

sementes foram colocadas sobre papel germitest umedecido com água, mantidas a 4 °C por quatro dias, pré-germinadas por 24h a 23 ± 2 °C e semeadas. Em cada repetição, foram semeadas cinco sementes/tubo (25 cm de altura e 5 cm de diâmetro), dois tubos/genótipo, sendo um com 450 g de solo ácido e outro de solo corrigido. Os tubos foram cortados ao meio na longitudinal, colados e tampados embaixo com um copo de plástico de 200 mL. Os solos foram umedecidos a 80% da capacidade de campo e a água evapotranspirada foi repostada a cada dois dias. O experimento teve três repetições (blocos) em câmara de crescimento com fotoperíodo de 16h, 18 °C dia e 14 °C noite. Seis (1ª e 2ª repetições) ou sete (3ª repetição) dias após a semeadura, as raízes foram lavadas, fotografadas e a mais longa foi medida utilizando-se o software ImageJ (Schneider et al, 2012). O comprimento relativo das raízes (CRR) foi calculado pela proporção do crescimento radicular na presença de alumínio em relação ao crescimento na ausência de alumínio (comprimento da raiz em solo ácido/comprimento da raiz em solo corrigido) x 100. O erro relacionado foi estimado pela fórmula $SE_{CRR} = CRR[(SE_x/x)^2 + (SE_y/y)^2]^{1/2}$, onde x é a média do comprimento das raízes em solo corrigido e y, em solo ácido (Zhou et al., 2013). O experimento foi realizado no delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial e os dados de comprimento foram submetidos à análise de variância usando o pacote ExpDes.pt no software R (R Core Team version 4.2.0).

Resultados e discussão

A análise da resistência ao Al³⁺ em testes de curta duração em solo parece apresentar uma boa correlação com o desempenho das plantas em condições de campo (Pereira, 2018). Este teste já foi usado previamente para cevada, evidenciando diferenças significativas entre Dayton e cultivares nacionais de cevada (Ferreira et al., 2018). Entretanto, no experimento aqui realizado, houve alguma discrepância entre as repetições, pois as proporções de crescimento radicular tenderam a ser menores no primeiro bloco e maiores no terceiro.

Mesmo assim, BRS Itanema e MN 6021 foram inferiores ao controle positivo de resistência ao Al³⁺ (Dayton) em todas as repetições. Para estas duas cultivares foram obtidas linhagens homozigotas para o alelo favorável do gene *HvAACT1* e linhagens de retrocruzamento sem este alelo. Nestes casos, foram obtidas linhagens homozigotas contendo o alelo favorável que apresentaram crescimento relativo maior que linhagens sem o alelo superior. Destacaram-se as linhagens IxD F4RC4-7-138-247-85 e IxD F4RC4-7-138-249-46 (BRS Itanema) e MxD F5RC45-132-183-155-52 e MxD F5RC4-5-132-183-155-53 (MN 6021).

Não houve consistência de resposta nas avaliações conduzidas com as linhagens derivadas dos cruzamentos envolvendo a cultivar BRS Cauê. O crescimento relativo da raiz de BRS Cauê foi superior ao de Dayton na primeira repetição, similar na segunda e inferior na terceira. No entanto, o crescimento

das raízes de BRS Cauê em solo corrigido na primeira repetição foi menor do que nos outros tratamentos, indicando alguma possível intercorrência. Não foi verificado aumento significativo no comprimento relativo das raízes em solo ácido devido à introgressão do alelo superior nas linhagens derivadas desta cultivar. Uma das razões pode ser a segregação do gene nas linhagens testadas ou alguma variação não intencional dentre as repetições. Entretanto, a linhagem CxD F2RC4-198-42, que apresentou crescimento da raiz maior que o da cultivar BRS Cauê nas repetições 2 e 3, destacou-se como promissora.

Embora as cultivares brasileiras BRS Cauê, BRS Itanema e MN 6021 sejam consideradas mais sensíveis ao Al^{3+} quando comparadas com Dayton, existe variabilidade genética entre elas para a resistência ao Al^{3+} (Ferreira et al., 2018). Possivelmente por MN 6021 ser mais sensível que as demais, a introgressão do alelo favorável tenha gerado uma resposta mais significativa de resistência ao Al^{3+} nas linhagens derivadas desta cultivar.

Considerações finais

A introgressão do alelo favorável do gene *HvAACT1* em cultivares de cevada brasileira promove aumento na resistência ao Al^{3+} em testes de curta duração em solo ácido. A resposta parece ser mais eficiente em cultivares muito sensíveis ao Al^{3+} (MN 6021). Estudos adicionais são recomendados tanto para testar esta hipótese quanto para verificar o impacto do alelo favorável na produtividade dos materiais em condições de campo ou em testes de longa duração, especialmente nas linhagens que se destacaram.

Agradecimento

À equipe de apoio da Embrapa Trigo, composta por Andréa Morás, Lucimére de Fátima Morelo, Ademir Paulo Vicari, Darci Veronese e Agostinho Pavan, pela sua valiosa contribuição.

Referências

- FERREIRA, J.R.; MINELLA, E.; DELATORRE, C.A.; DELHAIZE, E.; RYAN, P.R.; PEREIRA, J.F. Conventional and transgenic strategies to enhance the acid soil tolerance of barley. **Molecular Breeding**, v. 38, n. 12, 2018.
- FUJII, M.; YOKOSHO, K.; YAMAJI, N.; SAISHO, D.; YAMANE, M.; TAKAHASHI, H.; SATO, K.; NAKAZONO, M.; MA, J.F. Acquisition of aluminium tolerance by modification of a single gene in barley. **Nature Communications**, v. 3, n. 713, 2012.
- FURUKAWA, J.; YAMAJI, N.; WANG, H.; MITANI, N.; MURATA, Y.; SATO, K.; KATSUHARA, M.; TAKEDA, K.; MA, J.F. An aluminum-activated citrate transporter in barley. **Plant and Cell Physiology**, v. 48, n. 8, p. 1081–1091, Ago. 2007.
- KOCHIAN, L.V.; PIÑEROS, M.A.; LIU, J.; MAGALHÃES, J.V. Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, p. 571–598, 2015.
- MINELLA, E.; SORRELLS, M.E. Aluminium tolerance in barley: genetic relationships among genotypes of diverse origin. **Crop Science**, v. 32, p. 593–598, 1992.
- MINELLA, E.; SORRELLS, M.E. Inheritance and chromosome location of *Alp*, a gene controlling aluminium tolerance in 'Dayton' barley. **Plant Breeding**, v. 116, n. 5, p. 465–469, 1997.
- PEREIRA, J.F. Initial root length in wheat is highly correlated with acid soil tolerance in the field. **Scientia Agricola**, v. 75, p. 79-83, 2018.
- SCHNEIDER, C.A.; RASBAND, W.S.; ELICEIRI, K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671-675, 2012.
- WANG, J.; RAMAN, H.; ZHOU, M.; RYAN, P.R.; DELHAIZE, E.; HEBB, D.M.; COOMBES, N.; MENDHAM, N. High-resolution mapping of the *Alp* locus and identification of a candidate gene *HvMATE* controlling aluminium tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 115, n. 2, p. 265–276, 2007.
- ZHAO, Z.; MA, J.F.; SATO, K.; TAKEDA, K. Differential Al resistance and citrate secretion in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Planta**, v. 217, n. 5, p. 794–800, 2003.
- ZHOU, G.; DELHAIZE, E.; ZHOU, M.; RYAN, P.R. The barley MATE gene, *HvAACT1*, increases citrate efflux and Al(3+) tolerance when expressed in wheat and barley. **Annals of Botany**, v. 112, n. 3, p. 603-612, 2013.