USO DE UM MARCADOR MOLECULAR DO TIPO SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) NO ESTUDO DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM TRIGO CV. TOROPI

Laize F. Espindula[1], Tatiana Boff[2], Euclydes Minella[3] e Sandra C. K. Milach[2,4]

[1]Dep. Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia – UFRGS / Porto Alegre – RS

[2]PPGBCM - UFRGS, [3]CNPT - Embrapa, [4]Pioneer Sementes Ltda.

INTRODUÇÃO

A presença do alumínio tóxico (Al^{3+}) nos solos limita o crescimento e a produtividade das culturas. Em concentrações excessivas na solução do solo o Al^{3+} causa primeiramente redução da elongação das raízes (Figura 1). No entanto, as plantas cultivadas apresentam grande amplitude de variação genética quanto à tolerância ao Al^{3+}. Um gene de efeito principal para tolerância ao alumínio, denominado *Alt*$_{BH}$, foi identificado na cultivar BH1146 de trigo e o marcador do tipo RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphim*) *Xbcd1230* encontrado associado a esse gene (Figura 2). Com base na seqüência da sonda, buscou-se o desenvolvimento de um marcador PCR-específico, o qual, se associado tolerância ao Al^{3+} em Toropi, poderá ser utilizado na seleção assistida por marcadores.

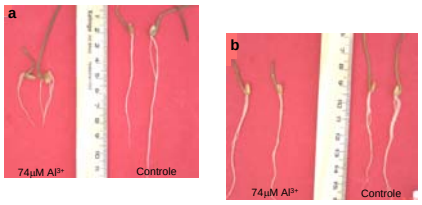

Figura 1- Efeitos do Al^{3+} em raízes de trigo crescidas em solução nutritiva contendo 0 e 74μM Al^{3+}, na forma de $AlCl_3$: a- Anahuac (sensível) ; b- Toropi (tolerante).

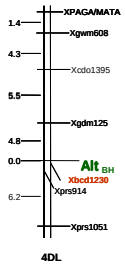

Figura 2- Cromossomo 4DL de trigo (Rodriguez-Milla & Gustafson, 2001), com a localização do gene *Alt*$_{BH}$ para tolerância ao Al^{3+} (verde) e marcador a ele associado (vermelho).

OBJETIVO

Verificar a utilidade do marcador Xbcd*1230* para identificar o gene responsável pela tolerância ao alumínio tóxico na cultivar Toropi de trigo.

METODOLOGIA

- ✓ Material vegetal: genótipos de trigo Toropi (tolerante) e Anahuac (sensível), e 90 linhas da população F_7;
- ✓ Extração de DNA (Murray & Thompson, 1980);
- ✓ PCR (*Polymerase Chain Reaction*) com marcador STS *Xbcd1230*;
- ✓ Clonagem dos amplicons Kit TOPO TA® (Invitrogen);
- ✓ Seqüenciamento ABI PRISM 3100 *Genetic Analyzer*;
- ✓ Análises de Bioinformática: o alinhamento *pairwise* entre as seqüências dos genótipos (EMBOSS) – (Figura 3);
- ✓ Projeção e síntese de *primers* SNP's;
- ✓ Otimização da PCR: temperatura de anelamento e número de ciclos (Figura 4);
- ✓ Validação na população segregante.

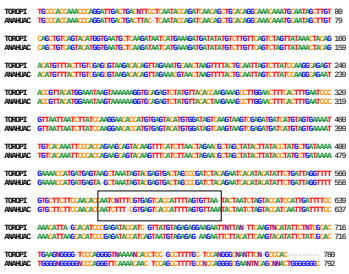

Figura 3- Alinhamento *pairwise* entre Toropi e Anahuac.

RESULTADOS

✓ Após otimização da PCR (temperatura de anelamento: 55,5°C , número de ciclos: 32), obteve-se polimorfismo entre os genótipos Toropi e Anahuac para o marcador *TT1230*, caracterizado pela presença (tolerante) e ausência de fragmento (sensível) (Figura 4);

✓ O marcador desenvolvido e testado na população de linhas recombinantes F_7 do cruzamento Toropi x Anahuac não se mostrou associado à segregação para tolerância ao alumínio em Toropi (χ^2 = 2,747, P = 0,097).

✓ Esse resultado indica que o gene presente em Toropi é distinto do gene *Alt*$_{BH}$ para tolerância ao alumínio em trigo.

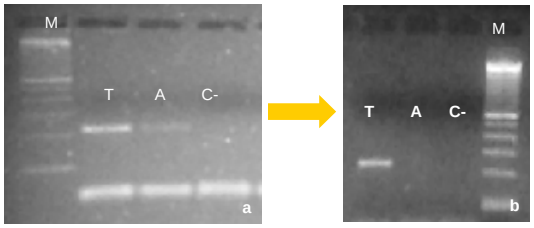

Figura 4- Fragmentos amplificados pelo marcador *TT1230* para genótipos contrastantes. a- PCR não otimizado; b- PCR com temperatura de anelamento e ciclos otimizados. (T- Toropi, A- Anahuac e M- Marcador 100pb).

CONCLUSÃO

O marcador do tipo SNP *TT1230* não está associado à tolerância ao Al^{3+} proveniente da cultivar Toropi de trigo, não sendo útil para identificação desse gene e para seleção assistida dessa característica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

✓ RODRIGUEZ-MILLA, M.A.; GUSTAFSON, J.P. **Genetic and physical characterization of chromosome 4DL in wheat**. **Genome**, Ottawa, v. 44, p. 883-892, 2001.

✓ MURRAY, M.; THOMPSON, W.F. **Rapid isolation of high-molecular-weigth plant DNA**. **Nucleic Acids Research**, New York, v.8, p.4321-4325, 1980.

✓ TANG, Y.; SORRELLS, M.E.; KOCHIAN, L.V.; GARVIN, D.F. **Identification of RFLP markers linked to the barley aluminum tolerance gene *Alp*. Crop Science**, Madison, v. 40, p. 778-782, 2000.

Financiamento: CAPES, CNPq.