

# **Seleção assistida para a tolerância ao alumínio aplicada ao desenvolvimento de cultivares de sorgo**

**Paula Márcia Abreu Moura**

Belkiss Cristina França Silva Oliveira  
Claudia Teixeira Guimarães  
Robert Eugene Schaffert  
Jurandir Vieira de Magalhães

## **Introdução**

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma gramínea de origem africana pertencente à família Poaceae, que apresenta adaptação a uma gama de ambientes. É o quinto cereal mais produzido no mundo, depois do trigo, do arroz, do milho e da cevada (FAO, 2009).

A acidez do solo é um dos principais fatores que limitam a produção agrícola. O alumínio (Al) é tóxico para a grande maioria das espécies de plantas cultivadas, promovendo a paralisação do crescimento radicular e, conseqüentemente, prejudicando o desenvolvimento das plantas (CANÇADO et al., 2001). O loco *Alt<sub>SB</sub>*, que controla a tolerância ao Al em sorgo, foi mapeado no cromossomo 3 por Magalhães et al. (2004). A seleção assistida por marcadores moleculares é uma estratégia útil para aumentar a eficiência na transferência de genes de interesse para materiais genéticos sensíveis ao metal. O método do retrocruzamento é o mais utilizado para transferência de um ou poucos genes que conferem características de interesse agrônômico de genótipos não adaptados ou espécies selvagens para genótipos elite, deficientes na característica a ser introgridida (LORENCETTI et al., 2006). Quando associados a diferentes características de importância econômica, os marcadores moleculares permitem a seleção precoce de características desejáveis em gerações segregantes (GUIMARÃES et al., 2009), acelerando a recuperação do genoma original. Em vista disso, há um crescente interesse na seleção de plantas tolerantes que possam ser utilizadas em áreas que apresentam problemas de toxidez de Al (FOY, 1993). Com o objetivo de obter um acesso tolerante ao Al, a seleção assistida por marcadores moleculares foi utilizada para introgridir o gene *Alt<sub>SB</sub>* em sorgo e acelerar a recuperação do genoma recorrente.

## Material e Métodos

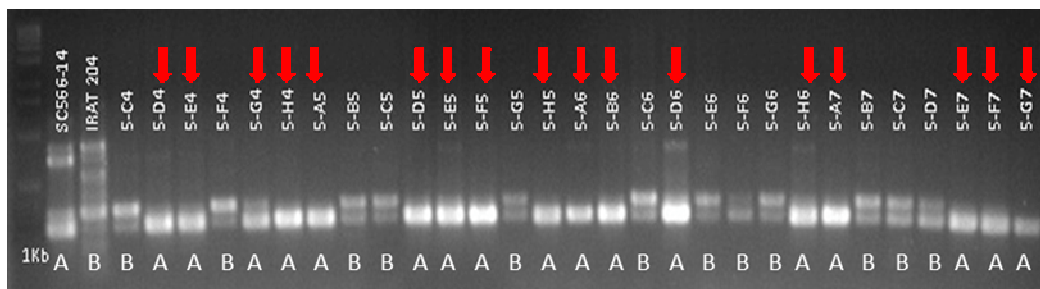
Este trabalho foi conduzido no Núcleo de Biologia Aplicada da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas/MG. O programa de retrocruzamento assistido foi estabelecido tendo como parental recorrente o acesso IRAT-204 proveniente do *Institute National de La Recherche Agronomique Du Niger* (INRAN, Niger), e teve como doador o acesso tolerante ao Al SC566. Plantas F1 foram cruzadas com o parental recorrente obtendo-se progênies RC1F1. Posteriormente, indivíduos RC1F1 foram selecionados com o marcador HB5519, ligado ao gene de tolerância, e em seguida com o marcador M17624, que flanqueia o gene de tolerância, para redução do arraste genético. Finalmente, foi feita a seleção com 43 marcadores distribuídos ao longo do genoma do sorgo para acelerar a recuperação do genoma recorrente. Os indivíduos RC1F1 foram retrocruzados com o parental recorrente, repetindo-se o mesmo procedimento em progênies RC2F1.

As sementes foram germinadas em rolos de papel toalha e transplantadas para substrato em Casa de Vegetação. Após duas semanas, procedeu-se à coleta de tecido para isolamento de DNA genômico de acordo com o procedimento operacional padrão (POP)–Isolamento de DNA Genômico Miniprep (Tecido Liofilizado) GENO/GRINDER 2000. A seleção assistida para o gene *Alt<sub>SB</sub>* foi feita com base nos marcadores moleculares não fluorescentes e com fluorescência. As reações de amplificação por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foram realizadas com as amostras advindas do retrocruzamento. Os produtos de amplificação foram resolvidos no sequenciador automático de DNA ABI Prism 377 (*Applied Biosystems*) para os marcadores fluorescentes. Os marcadores não fluorescentes foram resolvidos em gel de agarose e fotografados no fotodocumentador.

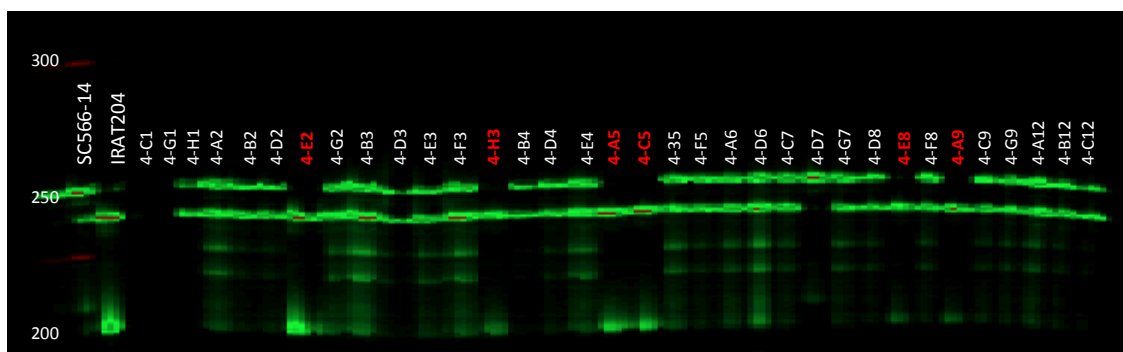
## Resultados e Discussão

Para análise das progênies RC1F1 foi utilizado um marcador alelo-específico, HB 5519 (Figura 1), desenvolvido para o gene *Alt<sub>SB</sub>* por Hufnagel (2009). Dos 159 indivíduos analisados, 79 revelaram heterozigose para o loco *Alt<sub>SB</sub>*, ou seja, segregaram na proporção de 1:1. Para redução do arraste genético foi utilizado o marcador M17624, com o qual foram selecionados 10 indivíduos homozigotos para o parental recorrente (Figura 2). Esses indivíduos foram genotipados com os 43 marcadores microssatélites distribuídos ao longo do genoma do sorgo.

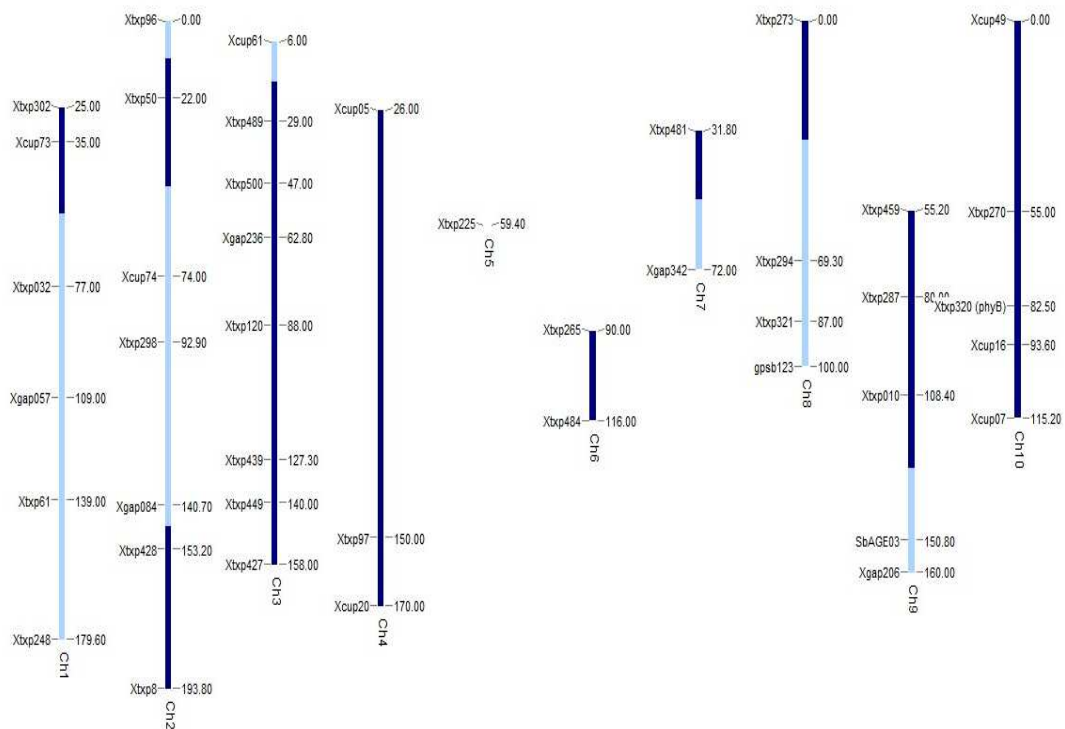
Com a utilização do programa GGT 2.0 foram obtidos os genótipos gráficos para os indivíduos selecionados (Figura 3 e Tabela 1). Constatou-se que, dentre os 10 indivíduos selecionados com o marcador M17624, 2 indivíduos, 5-G4 e 4-E8, apresentaram recuperação de 82,5% e 75,9%, respectivamente, do genoma recorrente. Esta recuperação é superior aos 75% esperados para esta geração RC1F1.



**Figura 1:** Perfil de amplificação obtido com o marcador HB 5519. Destacados com setas vermelhas, estão os indivíduos heterozigotos para o loco *Alt<sub>SB</sub>*.



**Figura 2:** Perfil de amplificação obtido com o marcador M17624. Destacados em vermelho, estão os indivíduos homozigotos para o alelo proveniente do parental recorrente, IRAT-204.



Ind no:10 [5-G4] -

**Figura 3:** Genótipo gráfico da progênie que apresentou maior proporção do genoma recorrente (82,5%). Em azul-escuro, está representado o genoma homocigoto para o parental recorrente e em azul-claro, os alelos em heterocigose.

**Tabela 3:** Dados estatísticos obtidos com o Programa GGT 2.0. Destacados em amarelo, estão os indivíduos que obtiveram maior recuperação do genoma recorrente. O indivíduo 5-G4 alcançou recuperação de 82,5% do genoma recorrente, valor este superior aos 75% esperados para esta geração.

Estatística - RC1F1 IRAT-204					
Indivíduo	Identificação	A* (%)	B* (%)	H (%)	Recuperação (B + 1/2 H)
1	SC566-14	100.0	0.0	0.0	
2	IRAT204	0.0	100.0	0.0	
3	4-E2	0.0	32.5	64.4	64,7
4	4-H3	0.0	36.9	43.7	58,8
5	4-A5	0.0	46.0	50.8	71,4
6	4-C5	0.0	38.0	58.8	67,4
7	4-E8	0.0	53.7	44.4	75,9
8	4-A9	0.0	48.2	42.1	69,3
9	5-E2	0.0	47.1	52.9	73,6
10	5-G4	0.0	65.0	35.0	82,5
11	5-E5	19.1	17.7	52.1	43,8
12	5-H6	0.0	39.2	57.4	67,9

Legenda:
<b>A*</b> (%) = PORCENTAGEM DE INDIVÍDUOS HOMOZIGOTOS PARA A.
<b>B*</b> (%) = PORCENTAGEM DE INDIVÍDUOS HOMOZIGOTOS PARA B .
H (%) = PORCENTAGEM DE INDIVÍDUOS HETEROZIGOTOS.
<b>A*</b> = PARENTAL DOADOR - SC566-14
<b>B*</b> = PARENTAL RECORRENTE – IRAT-204

## Conclusão

A seleção assistida por marcadores permitiu, na primeira geração de retrocruzamento, a seleção de uma progênie que recuperou 82,5% do genoma recorrente. Essa proporção é significativamente maior do que a média esperada após uma geração de retrocruzamento (75%), sendo compatível com aquela esperada após duas gerações de retrocruzamento.

Pode-se dizer que a utilização de marcadores moleculares em seleção assistida para tolerância ao alumínio em sorgo tem uma grande e promissora perspectiva, uma vez que é possível eliminar ciclos de seleção em um programa de retrocruzamento para característica de interesse.

## Referências

CANÇADO, G. M. A.; CARNEIRO, N. P.; CARNEIRO, A. A.; PURCINO, A. A. C.; GUIMARÃES, C. T.; ALVES, V. M. C.; PARENTONI, S. N.; SOUZA, I. R. P.; PAIVA, E. Novas perspectivas para adaptação de culturas ao Cerrado: pesquisa contribuição da biologia molecular na compreensão e solução dos efeitos tóxicos do alumínio em plantas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, ano 4, n. 23, p. 56-61, nov./dez. 2001.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAO statistical database**. 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 22 nov. 2011.

FOY, C. D.; DUNCAN, R. R.; WASKOM, R. M.; MILLER, D. R. Tolerance of sorghum genotypes to an acid, aluminum toxic tatum subsoil. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 16, p. 97-127, 1993.

GUIMARÃES, C. T.; SCHUSTER, I.; MAGALHÃES, J. V.; SOUZA JÚNIOR, C. L. de. Marcadores moleculares no melhoramento. In: BOREM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2009. cap. 4, p. 129-175.

HUFNAGEL, B. **Mineração e caracterização de alelos do gene de tolerância ao alumínio *Alt<sub>SB</sub>* em sorgo**. 2009. 77 p. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

LORENCETTI, C.; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de; VALÉRIO, I. P.; HARTWIG, I.; MARCHIORO, V. S.; VIEIRA, E. A. Retrocruzamentos como uma estratégia de identificar genótipos e desenvolver populações segregantes promissoras em aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1118-1125, jul./ago. 2006.

MAGALHÃES, J. V.; GARVIN, D. F.; WANG, Y.; 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**, Austin, v. 167, p. 1905-1914, 2004.

OLIVEIRA, B. C. F. S.; MOURA, P. M. A.; MACIEL, B. H.; GUIMARAES, C. T.; CANIATO, F. F.; FONSECA JÚNIOR, S. C.; JARDIM, S. N.; MAGALHAES, J. V. **Utilização de marcadores moleculares na seleção assistida para tolerância ao alumínio em sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 7 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 155).