

162

Circular  
TécnicaSete Lagoas, MG  
Novembro, 2011

### Autores

Jurandir Vieira  
Magalhães, Eng.-Agr.,  
Ph.D., Embrapa Milho e  
Sorgo, jurandir@cnpms.  
embrapa.br

Fernanda F. Caniato,  
Eng.-Agr., D.S.,  
Embrapa Milho e Sorgo,  
fernandacaniato@bol.  
com.br

Claudia T. Guimarães,  
Eng. Agr., D.S., Embrapa  
Milho e Sorgo, claudia@  
cnpms.embrapa.br

Antônio Carlos  
Oliveira, Eng.-Agr.,  
D.S., Embrapa Milho e  
Sorgo, oliveira@cnpms.  
embrapa.br

Robert Eugene  
Schaffert, Eng. Agr.,  
Ph.D., Embrapa Milho e  
Sorgo, schaffert@cnpms.  
embrapa.br



## Pré-Melhoramento para a Tolerância ao Alumínio em Sorgo

### Tolerância ao Al em Sorgo

A tolerância ao alumínio (Al) é um dos principais alvos do melhoramento de plantas em solos ácidos e tem importância particular em sorgo em vista do importante papel dessa cultura no cenário agrícola nacional. Além disso, o sorgo tem grande importância na segurança alimentar de países tropicais e subtropicais em desenvolvimento, como em vários países da África localizados em áreas de solos ácidos.

Em sorgo, o loco  $Alt_{SB}$ , localizado no cromossomo 3 (MAGALHÃES et al., 2004), tem um importante papel na tolerância ao Al. O gene responsável pela tolerância ao Al controlada pelo loco  $Alt_{SB}$ , denominado  $SbMATE$ , codifica um transportador de citrato ativado por Al, que apresenta maior expressão nos ápices radiculares de plantas tolerantes (MAGALHÃES et al., 2007). A tolerância ao Al codificada pelo gene  $SbMATE$  é atingida pela formação de complexos estáveis entre o citrato e o Al na rizosfera de genótipos tolerantes ao metal.

### Pré-melhoramento para a Tolerância ao Al

A tolerância ao Al é um evento raro em espécies vegetais (GARVIN; CARVER, 2003), e está presente em uma frequência de aproximadamente 5% em sorgo (CANIATO et al., 2011). Portanto, a identificação de acessos tolerantes ao Al requer a fenotipagem de um grande número de acessos, de maneira a se maximizar a probabilidade de identificação de fontes de tolerância na espécie. É importante salientar que a identificação de fontes de tolerância diretamente no germoplasma alvo evita a necessidade de introgessão a partir de materiais não adaptados, com o conseqüente dispêndio de tempo e recursos para a recuperação das características adaptativas originais. Dada a baixa frequência da tolerância ao Al em sorgo, a identificação de fontes de tolerância é análoga ao cenário da “agulha no palheiro” nos bancos de germoplasma (PRADA, 2009), no qual os melhoristas encaram o desafio de analisar milhares de acessos em busca de novas variantes alélicas que controlam características de interesse agrônômico. Para guiar esses esforços no caso da tolerância ao Al em sorgo, nessa circular a relação entre estrutura de população e a distribuição da tolerância ao Al na espécie é descrita. As informações aqui descritas são úteis para a elaboração de estratégias de pré-melhoramento para a identificação mais eficiente de fontes de tolerância ao Al na espécie.

### Estratégia de Ação e Metodologia

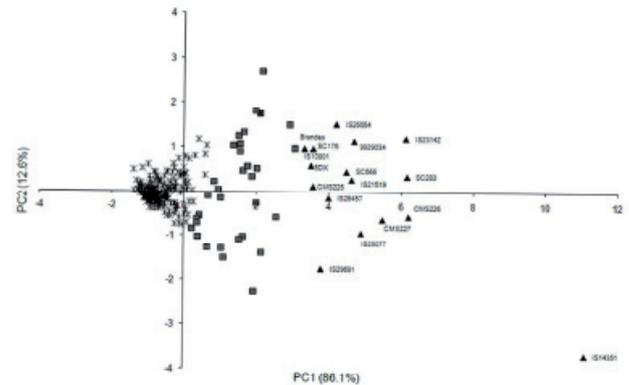
A subestrutura populacional reflete a história evolutiva da espécie e pode ser compreendida como a presença de subgrupos na população original. Vários fatores podem levar à divergência genética dentro de uma população,

dentre eles a adaptação local, a seleção e a deriva genética (HEDRICK, 2005), e esses fatores podem levar à distribuição não aleatória de características agronômicas. No sorgo cultivado, os padrões de diversidade genética são influenciados por origem racial e geográfica (DEU et al., 2006), resultando em subgrupos que podem ser estudados quanto à distribuição da tolerância ao Al em sorgo. Utilizando um painel de acessos de sorgo que captura grande parte da diversidade genética da espécie (DEU et al., 2006), e que contém acessos que compõe o programa de melhoramento de sorgo da Embrapa (CANIATO et al., 2007), no presente estudo foi conduzida uma análise de estrutura populacional com base no modelo Bayesiano implementado no software STRUCTURE (PRITCHARD et al., 2000), com base em dados genotípicos obtidos com marcadores microssatélites (*Simple Sequence Repeats*, SSRs) uniformemente distribuídos no genoma do sorgo ([http://sat.cirad.fr/sat/sorghum\\_SSR\\_kit/](http://sat.cirad.fr/sat/sorghum_SSR_kit/)). O painel de sorgo foi também fenotipado para a tolerância ao Al em solução nutritiva seguindo-se os procedimentos descritos em Caniato et al. (2007), utilizando-se 27  $\mu\text{M}$   $\text{Al}^{3+}$  de atividade livre de Al em solução nutritiva. Finalmente, o modo de ação gênica para a tolerância ao Al foi determinado pela razão entre os efeitos de dominância (d) e aditividade (a). Para isso, acessos altamente tolerantes ao Al foram cruzados com um parental comum, sensível ao Al, denominado BR007, permitindo a fenotipagem conjunta dos acessos parentais e dos respectivos híbridos F1. Os detalhes completos da metodologia utilizada nesse estudo podem ser encontrados em Caniato et al. (2011).

## Tolerância ao Alumínio no Painel de Sorgo

A Figura 1 mostra os resultados de uma análise de componentes principais com base em características relacionadas à tolerância ao Al, sendo que o componente principal 1 (PC1) representa um índice geral de tolerância ao Al e explica a maior parte da variação para a tolerância ao Al. A grande maioria dos acessos de sorgo mostraram escores baixos

para o PC1, confirmando que a tolerância ao Al é um evento raro em sorgo. A frequência de acessos altamente tolerantes ao Al foi de aproximadamente 5% nesse painel.

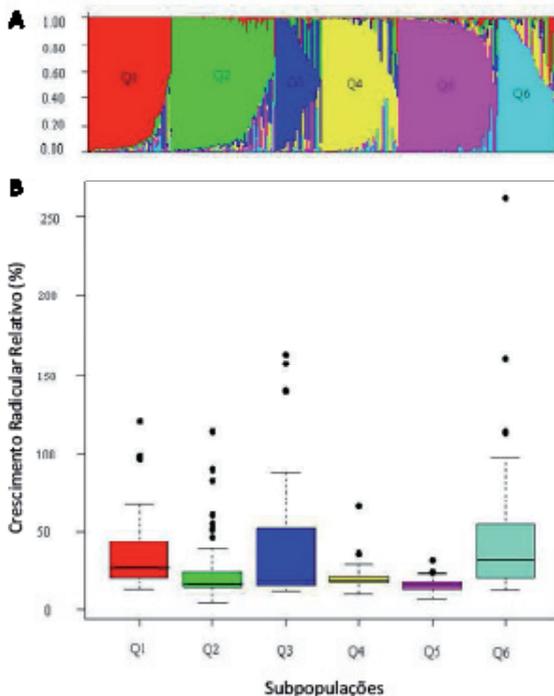


**Figura 1.** Análise de componentes principais com base em três características relacionadas à tolerância ao Al. O componente principal 1 (PC1) representa um índice geral de tolerância enquanto o PC2 representa um índice de indução de crescimento radicular ao longo de diferentes períodos de exposição ao Al. Números entre parênteses indicam a fração da variação para a tolerância ao Al explicada por cada componente. Os triângulos representam acessos altamente tolerantes ao Al, os quadrados representam acessos intermediários e acessos sensíveis ao Al estão representados por asteriscos.

## Relação entre Estrutura Populacional e Tolerância ao Al em Sorgo

A análise de estrutura populacional permitiu a identificação de 6 subpopulações, que são consistentes com origem racial e geográfica, como indicado na Figura 2. Claramente, a tolerância ao Al não é distribuída de forma aleatória no contínuo de diversidade da espécie. A maior prevalência de acessos tolerantes nas subpopulações Q1 e Q6, ambas formadas por acessos da raça guinea do oeste e do sul da África, respectivamente, indica uma relação estreita entre a tolerância ao Al em sorgo e a diversificação racial e geográfica. Os resultados também indicam que subpopulações da raça caudatum (Q2) também podem ser um repositório relevante de genes de tolerância

ao Al em sorgo, ainda que em menor extensão em comparação à raça guinea. A presença de acessos tolerantes na subpopulação Q3 reflete o fato de que vários acessos nessa subpopulação, formada por linhagens de melhoramento, foram propositalmente selecionados para tolerância ao Al. Um teste de  $\chi^2$  considerando os diferentes tamanhos de população e a frequência das classes de tolerância indicou claramente que a distribuição racial de tolerância não pode ser explicada simplesmente pela diferença em tamanhos populacionais, portanto divergindo significativamente de um padrão aleatório.



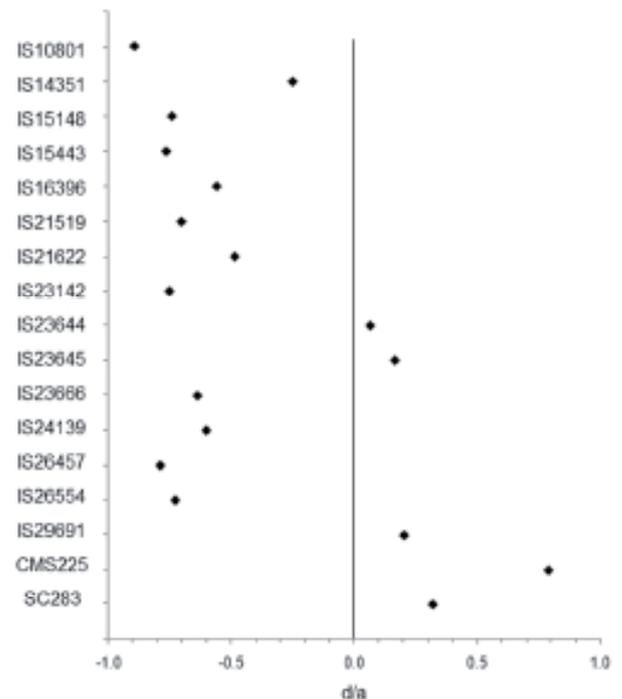
**Figura 2.** Análise de estrutura de população no painel de sorgo (A). Os coeficientes de atribuição de cada um dos acessos do painel estão representados na figura. Guineas do oeste da África e guinea margaritifera (Q1), caudatums da África (Q2), acessos da Embrapa e dos Estados Unidos (Q3), kafir do sul da África (Q4), durra, bicolor e caudatums do leste da África e da Ásia (Q5), guineas do sul da África e da Ásia (Q6). Distribuição da tolerância ao Al nas diferentes subpopulações (B).

Finalmente, devido ao desbalanceamento populacional, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de um teste de diferença mínima significativa (least significant difference, LSD), foi aplicado, como descrito em Caniato et al. (2011). A Tabela 1 confirmou

que as subpopulações Q1, Q3 e Q6 são em geral superiores para características fenotípicas associadas à tolerância ao Al.

### Modo de Ação Gênica para a Tolerância ao Alumínio

A análise de tolerância nas linhagens tolerantes do painel, no parental sensível comum, BR007, e nos respectivos híbridos indicaram uma extrema plasticidade no modo de ação gênica, que variou de recessividade parcial até dominância parcial, sendo que a maior parte dos acessos mostraram graus variados de recessividade. Ação gênica aditiva foi observada em 4 acessos e somente 3 acessos mostraram dominância parcial. Dentre esses estão duas linhagens comumente utilizadas no programa de melhoramento de sorgo da Embrapa, CMS225 e SC283. A dominância completa não foi observada nesse estudo.



**Figura 3.** Modo de ação gênica nos acessos tolerantes de painel de associação. Foi avaliado o crescimento radicular relativo nas linhagens originais, no parental comum, sensível ao Al, BR007, e nos respectivos híbridos F1. A ação gênica foi avaliada pela razão entre o efeito de dominância (d) e o efeito aditivo (a), sendo que  $d/a=-1$  indica recessividade completa,  $d/a=0$  indica aditividade e dominância completa resulta em  $d/a=1$ .

**Tabela 1.** Análise estatística de características relacionadas com a tolerância ao Al nas diferentes subpopulações definidas com o auxílio do software STRUCTURE. Foram analisados o crescimento radicular relativo aos 3 e 5 dias ( $CRR_{3d}$  e  $CRR_{5d}$ ), o índice de dano visual causado pelo Al e o índice de indução (IIN) do crescimento radicular. Outros detalhes estão descritos em Caniato et al. (2011). Médias seguidas pela mesma letra não são estatisticamente diferentes pelo teste de LSD ( $p < 0.05$ ). N denota o número de indivíduos em cada subpopulação. As subpopulações Q1 a Q6 foram definidas na Figura 2.

Sub Populações	N	$CRR_{3d}$			$CRR_{5d}$			IDV		IIN				
Q1	47	117.7	b	c	d	179.3	a	176.8	a	171.3	a			
Q2	58	103.9	b	c	d	e	106.6	b	c	d	132.1	b	c	
Q3	23	144.3	a	b			134.3	a	b		153.8	a		
Q4	43	119.4	b	c			124.2	b	c		99.8	b	c	
Q5	54	71.6			e	72.2		d	81.8		d	86.7	c	
Q6	29	196.1	a			188.0	a		143.8	a	b	146.1	a	b

## Significância dos Resultados no Melhoramento de Sorgo para Adaptação a Solos Ácidos

A extrema plasticidade para o modo de ação gênica relacionado com a tolerância ao Al influencia as estratégias para a geração de híbridos a partir de novas fontes de tolerância. Dependendo da fonte de tolerância, torna-se necessário gerar híbridos que contenham alelos de tolerância em ambos os parentais, de maneira a se maximizar a tolerância ao Al no híbrido. É bastante interessante o fato de que dois dos três acessos que apresentam maior grau de dominância parcial são linhagens comumente usadas no programa de melhoramento de sorgo para solos ácidos da Embrapa. Isso sugere a possibilidade de seleção concomitante para tolerância ao Al e dominância por parte dos melhoristas, facilitando a produção de híbridos tolerantes ao Al.

As informações geradas nesse trabalho são úteis no direcionamento dos trabalhos de pré-melhoramento visando identificar novas fontes de tolerância ao Al em sorgo. Como a frequência da tolerância ao Al é baixa, torna-se necessário avaliar um grande número de acessos para recuperação de apenas uma pequena fração com razoável probabilidade de

apresentar o fenótipo desejado. O presente trabalho indica que coleções extensas de germoplasma podem ser primeiro genotipadas com marcadores moleculares, seguindo-se uma análise de estrutura populacional. Considerando os novos métodos de genotipagem em larga escala, que permitem genotipar um grande número de acessos com baixo custo, essa etapa pode ser feita de maneira rápida e eficiente, mesmo em bancos de germoplasma com milhares de acessos. A partir da identificação dos subgrupos alvos, a próxima etapa é a genotipagem com marcadores específicos para genes de tolerância ao Al como o gene *SbMATE*, a exemplo daqueles desenvolvidos por Hufnagel (2009) para identificação de acessos contendo alelos de tolerância. Finalmente, um pequeno subgrupo pode ser fenotipado para a tolerância ao Al em solução nutritiva para a confirmação final do fenótipo. Essa estratégia pode reduzir enormemente o tempo e os recursos necessários para a fenotipagem geral das coleções de germoplasma. Note-se, também, que as classificações raciais com base em forma de panícula são sujeitas a subjetividades. Além disso, tipos intermediários são comuns e dificultam a classificação racial com base em forma de panícula. Dessa forma, a utilização de marcadores moleculares permite uma avaliação mais precisa das relações genéticas, revelando

relacionamentos crípticos, não detectáveis com base somente em forma de panícula. Em resumo, as informações aqui geradas servem como um ponto eficiente de entrada nas vastas coleções de germoplasma da espécie, permitindo a sua utilização eficiente no melhoramento genético vegetal.

## Referências

CANIATO, F. F.; GUIMARÃES, C. T.; HAMBLIN, M.; BILLOT, C.; RAMI, J.-F.; HUFNAGEL, B.; KOCHIAN, L. V.; LIU, J.; GARCIA, A. A. F.; HASH, C. T.; RAMU, P.; MITCHELL, S.; KRESIVICH, S.; OLIVEIRA, A. C. de; AVELLAR, G. de; BORÉM, A.; GLASZMANN, J.-C.; SCHAFFERT, R. E.; MAGALHÃES, J. V. The relationship between population structure and aluminum tolerance in cultivated sorghum. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 6, n. 6, p. e20830, Jun. 2011.

CANIATO, F. F.; GUIMARÃES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C.; KOCHIAN, L. V.; BOREM, A.; KLEIN, P. E.; MAGALHÃES, J. V. Genetic diversity for aluminum tolerance in sorghum. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 114, n. 5, p. 836-876, 2007.

DEU, M.; RATTUNDE, F.; CHANTEREAU, J. A global view of genetic diversity in cultivated sorghums using a core collection. **Genome**, Ottawa, v. 49, p. 168-180, 2006.

GARVIN, D. F.; CARVER, B. F. Role of the genotype in tolerance to acidity and aluminum toxicity. In: RENGEL, Z. (Ed.). **Handbook of soil acidity**. New York: Marcel Dekker, 2003. p. 387-406.

HEDRICK, P. W. **Genetics of populations**. Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers, 2005. 737 p.

HUFNAGEL, B. M. **Mineração e caracterização de alelos do gene de tolerância ao**

**alumínio  $Alf_{SB}$  em sorgo**. 2009. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

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**, New York, v. 39, n. 9, p. 1156-1161, 2007.

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**, Maryland, v.167, n. 4, p.1905-1914, 2004.

PRADA, D. Molecular population genetics and agronomic alleles in seed banks: searching for a needle in a haystack? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, p. 2541-2552, 2009.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, Maryland, v. 155, p. 945-959, 2000.

### Circular Técnica, 162

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Milho e Sorgo**  
**Endereço:** Rod. MG 424 km 45 Caixa Postal 151  
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG  
**Fone:** (31) 3027 1100  
**Fax:** (31) 3027 1188  
**E-mail:** sac@cnpms.embrapa.br  
**1ª edição**  
1ª impressão (2011): on line

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



### Comitê de publicações

**Presidente:** Antônio Carlos de Oliveira.  
**Secretário-Executivo:** Elena Charlotte Landau.  
**Membros:** Flávio Dessaune Tardin, Eliane Aparecida Gomes, Paulo Afonso Viana, João Herbert Moreira Viana, Guilherme Ferreira Viana e Rosângela Lacerda de Castro.

### Expediente

**Revisão de texto:** Antonio Claudio da Silva Barros.  
**Normalização bibliográfica:** Rosângela Lacerda de Castro.  
**Tratamento das ilustrações:** Tânia Mara A. Barbosa.  
**Editoração eletrônica:** Tânia Mara A. Barbosa.