

Validação de método de seleção individual para tolerância ao Alumínio tóxico em plântulas de sorgo avaliadas em solução nutritiva

Robert E. Schaffert¹, Silvio de C. Fonseca Júnior², Lidianne A. Silva³, Pedro Henrique A. D. Santos⁴ e Karine da C. Bernardino².

¹Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo, schaffer@cnpmc.embrapa.br CP 151, Sete Lagoas-MG.

²Graduando em Ciências Biológicas, UNIFEMM, CP 151, Sete Lagoas-MG, silviocfjr@gmail.com, karinecosta23@gmail.com, ³Doutoranda em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), FCAV-UNESP, CP 151, Sete Lagoas-MG, lidisagro@yahoo.com.br, ⁴Mestrando em Genética e Melhoramento de Plantas, UENF, CP 151, Sete Lagoas-MG, phsantos2004@yahoo.com.br

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*, Al³⁺, solução nutritiva.

Introdução

O sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) é o quinto cereal mais produzido no mundo, depois do milho, do trigo, do arroz e da cevada. A produção mundial de grãos de sorgo, em 2009, foi de aproximadamente 60 milhões de toneladas de grãos, obtidas em uma área plantada de 44,7 milhões de hectares. As maiores áreas cultivadas com sorgo encontram-se nos continentes africano e asiático (RYAN et al., 1993).

No Brasil, 127 milhões de hectares do Cerrado são viáveis para a utilização agrícola e estes são compostos por solos ácidos, dos quais uma das principais limitações à produção vegetal é a toxidez de alumínio. O ápice radicular é o sítio primário da ação tóxica desse metal, que ocasiona uma inibição do crescimento do sistema radicular, restringindo a absorção de água e de nutrientes pela planta.

Apesar de existir práticas agrônômicas capazes de minimizar os efeitos danosos do alumínio, é muito difícil corrigir o problema no subsolo (20-80 cm). A forma mais eficiente e economicamente viável de aumentar a produtividade agrícola e a estabilidade de produção em solos ácidos consiste na prática de calagem na superfície (0-20 cm) e na utilização de cultivares mais tolerantes. Com o propósito de aperfeiçoar o programa de melhoramento de sorgo para a obtenção de genótipos tolerantes a solos ácidos, a Embrapa Milho e Sorgo vem realizando um programa de pesquisa para desenvolver cultivares de sorgo com maior tolerância ao Al tóxico. A tolerância à toxicidade do alumínio em sorgo foi primariamente reportada por Schaffert no ano de 1975, em experimentos realizados em solos ácidos e com altos índices de saturação de alumínio em áreas do Cerrado brasileiro (SCHAFFERT et al., 2009). Estudos posteriores realizados por Magalhães et al. (2004) e Caniato et al. (2007) constataram que o principal mecanismo de resistência ao Al em sorgo é a exsudação do ácido orgânico citrato (C₆H₈O₇) pelo sistema radicular, impedindo que o metal entre em contato com partes sensíveis da raiz. Magalhães et al. (2004) constataram que grande parte da expressão da tolerância ao Al em sorgo (cerca de 80%) é devida, majoritariamente, pelo gene *Alt_{SB}*, mapeado no cromossomo 3 de sorgo. Schaffert et al. (2009) relatam ainda que o gene *Alt_{SB}* foi identificado em estudos anteriores acerca da tolerância ao Al baseados na liberação de citrato, como membro da família *Multidrug and Toxic Compound Extrusion* (Mate) sendo expresso principalmente no ápice radicular do sorgo induzido com a presença de Al³⁺, funcionando como um transportador de ácido cítrico na membrana plasmática.

De acordo com Hill et al. (1989), métodos, usando solução nutritiva, têm sido propostos como alternativas para a seleção rápida de espécies tolerantes. O estudo em solução



nutritiva traz vantagens no sentido de poder controlar as condições de crescimento das plantas, estudar o desenvolvimento do sistema radicular e comparar um número relativamente grande de genótipos em um pequeno espaço físico e em um curto período de tempo; ademais, este método tem-se mostrado mais eficiente que os métodos tradicionais de campo (FURLANI; CLARK, 1981). Entretanto, se faz necessária a escolha correta dos fatores que afetam a toxidez de Al bem como de parâmetros de avaliação fáceis de serem determinados e suficientemente sensíveis para discriminar as diferenças de tolerância entre as cultivares. Cambraia et al. (1991) verificaram que o comprimento da raiz mais longa foi o melhor parâmetro para discriminar a tolerância ao alumínio devido à facilidade de avaliação e à possibilidade de recuperar o material, efetuando transplantio no campo para trabalhos futuros.

Schaffert et al. (2009) constataram ainda, em experimentos avaliando produtividade de grãos, que plantas caracterizadas como homozigotas dominantes (TT) pelo método descrito no trabalho apresentaram aumento na produção de aproximadamente 1 tonelada por hectare quando plantadas em solos ácidos contendo saturação por Al^{3+} .

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo a validação do método de seleção de plantas individuais dos ciclos F_2 em solução nutritiva para tolerância ao Al tóxico a diferentes níveis (27 μM e 39 μM) e, considerando que dois alelos dominantes do gene *Alt_{SB}* (TT) conferem uma maior tolerância que heterozigotos (Tt), verificar se o nível de 39 μM poderia diferenciar de forma mais clara os acessos homozigotos dominantes (TT) dos heterozigotos tolerantes (Tt), sob a hipótese de que a variação genética poderia ser identificada em plantas individuais pela utilização deste método.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido na Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas-MG sendo utilizadas famílias F_4 derivadas de plantas individuais F_2 de três cruzamentos: [{ATF54B * (Tx623B * ATF54B)6-1) RC1F1} * (BTx644 (A807))]; [{BTx645 (B803)} * {(Tx623B * ATF54B)6-1-C-2-4-1}] e {ATF54 * (ATF54 * ARG-1 F1)}, (referidas como família A, B e C, respectivamente) derivadas de sucessivas autofecundações e dois genótipos controle: ATF13B (susceptível Al tóxico) e ATF14B (tolerante Al tóxico).

Os genótipos dos três cruzamentos descritos foram originados de seleções de plantas individuais F_2 em cada família que apresentaram melhor desempenho no crescimento radicular, em um trabalho prévio cuja avaliação foi efetuada em solução nutritiva contendo 27 ou 39 μM Al tóxico no ano de 2005. As plantas F_2 selecionadas foram avançadas para a geração F_3 em casa de vegetação. No ano de 2006, a geração F_3 foi plantada, autofecundada e avaliada no campo, sendo selecionadas plantas individuais que exibiam características agronômicas desejáveis, gerando o ciclo F_4 que foi utilizado no experimento e coleta de dados do ano de 2010 descritos neste trabalho.

Uma avaliação do ciclo F_4 foi efetuada em 2009 com 415 famílias (192 do cruzamento A, 85 do cruzamento B e 138 do cruzamento C) para seleção e confirmação de progênies tolerantes ao Al tóxico. As plantas selecionadas foram plantadas em vasos em casa de vegetação e avançadas para a geração F_5 . Os dados obtidos deste experimento foram utilizados para a seleção de 30 famílias F_4 dos três cruzamentos (15 do cruzamento A, 8 do cruzamento B e 7 do cruzamento C). A seleção das 30 famílias foi realizada no sentido da escolha dos resultados máximos e mínimos do cálculo de Crescimento Relativo de Raiz Seminal (CRRS) dentro de cada seleção original F_2 ; assim cada família exibia uma planta com o melhor desempenho e uma com o menor desempenho de acordo com os dados colhidos em 2009, resultando nos 60 genótipos testados em 2010, de modo que os acessos de melhor e



pior desempenho de 30 famílias originadas da mesma planta F₂ distribuídas em 3 cruzamentos formando pares. Sendo em 2010 o genótipo de melhor desempenho em cada par sinalizado com “1” e o de pior desempenho “2”.

As sementes de cada entrada das famílias selecionadas bem como dos controles foram esterilizadas com hipoclorito de sódio (0,525%) por 5 minutos sob agitação constante em um agitador horizontal e enxaguadas oito vezes com água destilada. As sementes foram germinadas em rolos de papel de germinação umedecidos em água deionizada por um período de quatro dias em câmara de crescimento com temperatura diurna média de 27 ±3 °C, noturna de 20 ±3 °C e fotoperíodo de 12 horas. As plântulas foram então transferidas para copos plásticos perfurados, acomodados em placas de PVC contendo 49 furos, dentro de bandejas plásticas com capacidade para 8,5 litros de solução nutritiva Magnavaca et al. (1987) por um período de 24 horas, com composição vide Tabela 1, sendo posteriormente adicionado Al na forma de AlK(SO₄)₂ e o pH ajustado para 4.0 pela adição gradual de HCl 1M. Foram utilizadas 14 plântulas por genótipo nas colunas laterais e sete plântulas dos genótipos testemunhas na coluna central, sendo três plântulas suscetíveis ATF13B e 4 plântulas tolerantes ATF14B.

As medidas do comprimento da raiz seminal de cada plântula foram obtidas com o auxílio de uma régua graduada em milímetros, no momento do transplântio (C_{0dias}), após um dia de crescimento em solução completa sem Al tóxico (C_{1dia}), após três dias da adição de Al tóxico com atividade de 27 µM (C_{3dias}) e seis dias após a adição do Al tóxico (C_{6dias}).

Foi determinado o seguinte índice de tolerância nas progênies F₂ e F₄: Crescimento Relativo Raiz Seminal (CRRS) e do Crescimento Líquido Radicular Seminal (CLRS) (Tabela 2). O Crescimento Líquido Diário (CLD) com Al foi obtido da seguinte forma: [(C_{6dias} - C_{1dia}) /6] e o CLR ao Al pela equação [(CL (com Al) /CL(sem Al)) x 100]. Após a tabulação dos dados, foi feita a média do Crescimento Líquido Diário (CLR) e o Crescimento Relativo Raiz Seminal de 14 plântulas de cada família e os resultados comparados.

Tabela 1. Composição de solução nutritiva sem Al.

| Nutrientes | Concentração (µM) |
|-------------------|-------------------|
| Ca | 3527 |
| K | 2354 |
| Mg | 855 |
| N-NO ₃ | 10857 |
| NNH ₄ | 1300 |
| P | 45 |
| S | 587 |
| B | 25 |
| Fe | 77 |
| Mn | 9,1 |
| Cu | 0,63 |
| Mo | 0,83 |
| Zn | 2,29 |
| Na | 1,74 |
| Fe-HEDTA | 75 |
| Cl | 596 |

Resultados e Discussão

Nas tabelas 2 e 3 estão dispostos os valores médios dos caracteres CLD e CRRS de 14 plântulas avaliadas a 27 e 39 µM Al³⁺, respectivamente, para o ano de 2005. As variáveis do ano de 2010 somente foram testadas a 27 µM Al³⁺ em ambas as tabelas. Nas avaliações da geração F₄ ocorridas no ano de 2010, o parâmetro de melhor eficácia na identificação de plantas tolerantes (TT ou Tt) e plantas suscetíveis (tt) foi a Média do Crescimento Relativo



Raiz Seminal (CRRS) obtidas de 14 plântulas de sorgo, devido à sua alta eficiência em realizar a separação das plântulas em tolerantes (TT com dois alelos dominantes do gene *Alt_{SB}* ou Tt com apenas um alelo dominante) e suscetíveis (tt, somente alelos recessivos). Considerando a tolerância ao Al tóxico relacionada à presença ou não das formas alélicas parcialmente dominantes deste gene, as plântulas foram consideradas como tolerantes (TT) ao Al³⁺ quando atingiram valores de CRRS acima de 40%, suscetíveis (tt) com valores abaixo de 20% de CRRS e os genótipos com valores entre 20% e 40% foram classificados como heterozigóticos (Tt). Com base nestas informações, pôde ser observado que o nível 27 µM Al³⁺ obteve um maior sucesso na separação de plântulas F₂ em tolerantes e não tolerantes a este nível de toxidez. Aparentemente a frequência de plântulas F₂ homozigotas tolerantes (TT) selecionadas foram maiores do que o 1/3, como esperado, indicando que a solução de 27 µM Al³⁺ foi também eficiente em separar os genótipos tolerantes TT e Tt. É observado ainda na Tabela 2 que as progênes F₃ do cruzamento com a linhagem BTx644 (807A), representados pelos genótipos 1.1 ao 16.2, foram em maior parte classificados como homozigotos dominantes (TT), fato explicado pela uniformidade dos valores CRRS das 14 plântulas (todos tolerantes ao Al tóxico) mostrando que estas famílias não apresentam segregação. Estas médias mostram sucesso na identificação de genótipos com dois alelos dominantes do gene que controla a tolerância ao Al tóxico.

Tabela 2. Média das 14 plântulas de sorgo avaliadas quanto do crescimento Líquido Diário (CLD) no nível 27 µM de Al³⁺ e Crescimento Relativo Raiz Seminal (CRRS) de plantas F₂ referente ao ano de 2005. Médias do Crescimento Líquido Diário (CLD) nos níveis 0 e 27 µM Al³⁺, média de CLD relativo ao nível 0 µM Al³⁺ e

| Genótipo | 2005 | | 2010 | | | | Provável Genótipo F ₃ |
|----------|-----------------------------|----------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|------------|----------------------------------|
| | CLD | CRRS (%) | Média CLD | Média CLD | Média CLD | Média CRRS | |
| | 27 µM Al ³⁺ (mm) | | 0 µM Al ³⁺ (mm) | 27 µM Al ³⁺ (mm) | Rel. 0 µM Al ³⁺ (%) | | |
| | Planta F ₂ | | Planta F ₄ | | | | |
| 1.1 | 10,3 | 63,0 | 6,9 | 9,6 | 128,4 | 94,6 | TT |
| 2.2 | 10,3 | 63,0 | 9,8 | 8,9 | 85,8 | 81,1 | TT |
| 5.1 | 7,8 | 50,5 | 10,0 | 8,3 | 88,0 | 79,9 | TT |
| 6.2 | 7,8 | 50,5 | 10,5 | 9,4 | 93,1 | 66,8 | TT |
| 7.1 | 10,5 | 70,0 | 8,9 | 9,3 | 104,2 | 81,8 | TT |
| 8.2 | 10,5 | 70,0 | 9,1 | 8,7 | 94,2 | 81,4 | TT |
| 10.1 | 12,8 | 89,5 | 11,5 | 8,9 | 84,3 | 79,1 | TT |
| 9.2 | 12,8 | 89,5 | 8,2 | 6,1 | 76,6 | 56,3 | TT/Tt |
| 12.1 | 12,2 | 81,1 | 14,4 | 10,5 | 75,1 | 91,5 | TT |
| 11.2 | 12,2 | 81,1 | 12,6 | 7,9 | 75,0 | 65,0 | TT |
| 15.1 | 6,7 | 40,8 | 4,9 | 7,2 | 169,0 | 61,5 | TT |
| 16.2 | 6,7 | 40,8 | 6,9 | 7,4 | 101,5 | 59,3 | Tt |
| 32.1 | 13,2 | 63,2 | 19,1 | 15,4 | 82,5 | 105,4 | TT |
| 31.2 | 13,2 | 63,2 | 19,4 | 6,5 | 32,3 | 37,6 | Tt |
| 33.1 | 4,7 | 23,3 | 10,2 | 12,6 | 115,8 | 111,1 | TT |
| 34.2 | 4,7 | 23,3 | 13,2 | 4,9 | 44,8 | 32,7 | Tt |
| 38.1 | 4,2 | 24,8 | 12,8 | 8,9 | 70,7 | 80,8 | TT |
| 37.2 | 4,2 | 24,8 | 20,5 | 8,5 | 41,6 | 58,7 | TT |
| 39.1 | 5,0 | 31,6 | 9,1 | 3,6 | 30,8 | 24,3 | Tt |
| 40.2 | 5,0 | 31,6 | 14,5 | 2,3 | 19,0 | 15,3 | Tt |
| 47.1 | 11,5 | 74,2 | 10,6 | 8,8 | 91,4 | 93,7 | TT |
| 48.2 | 11,5 | 74,2 | 11,0 | 7,0 | 29,5 | 46,3 | TT |
| 50.1 | 9,2 | 50,0 | 7,5 | 8,5 | 113,9 | 65,1 | TT |
| 49.2 | 9,2 | 50,0 | 7,0 | 4,4 | 25,5 | 33,3 | TT |
| 54.1 | 11,2 | 76,1 | 8,2 | 6,6 | 40,2 | 33,0 | TT |
| 53.2 | 11,2 | 76,1 | 7,3 | 5,1 | 19,7 | 21,9 | Tt |
| 56.1 | 7,3 | 50,0 | 9,7 | 5,3 | 67,3 | 49,5 | TT/Tt |
| 55.2 | 7,3 | 50,0 | 8,8 | 6,6 | 87,1 | 46,6 | TT/Tt |
| 58.1 | 13,5 | 80,2 | 12,2 | 10,3 | 99,7 | 101,6 | TT |
| 57.2 | 13,5 | 80,2 | 11,2 | 1,6 | 13,6 | 13,6 | Tt |
| 59.1 | 7,5 | 45,9 | 7,4 | 8,8 | 144,3 | 116,9 | TT |
| 60.2 | 7,5 | 45,9 | 13,2 | 8,0 | 64,3 | 65,0 | TT |
| ATF13A | - | - | 13,4 | 3,0 | 25,5 | 23,0 | Tt |
| ATF14B | - | - | 13,7 | 10,7 | 81,5 | 77,1 | TT |



Crescimento Relativo Raiz Seminal (CRRS) de plantas F4, referentes ao ano 2010. Dados obtidos em câmara de crescimento da Embrapa Milho e Sorgo – Sete Lagoas, MG.

Nos cruzamentos com a linhagem BTx645 (803B), (Tabela 2), representados pelos genótipos 32.1 ao 40.2, foram classificados de acordo com os índices de tolerantes (TT), tolerantes heterozigóticos (Tt) e suscetíveis (tt) ao Al^{3+} nas plantas F4. Sendo assim, o nível de $27\mu M$ de Al^{3+} foi muito eficiente em identificar os genótipos TT, bem como classificá-los. Em cruzamentos com a linhagem ARGENTINA-1 (ARG-1) (Tabela 2), representados pelos genótipos 47.1 ao 40.2, uma maior variação foi observada em relação à classificação quanto à tolerância ao Al^{3+} . Foram obtidos genótipos tolerantes (TT), tolerantes heterozigóticos (Tt) e suscetíveis (tt), evidenciando a segregação presente nas famílias do cruzamento, e o nível $27\mu M$ de Al^{3+} foi capaz de identificar estas variações, possibilitando a classificação. Uma singularidade é observada nos genótipos 56.1 e 55.2, que apesar do valor médio do CRRS ser superior a 40%, foram classificados como heterozigotos tolerantes (Tt). Esta classificação é explicada pelos valores do CRRS obtidos em cada uma das 14 plântulas das duas famílias apresentarem valores oscilando entre 19,4% (tt) e 125,9% (TT ou Tt) para o genótipo 56.1 e 16,3% e 103,3% para o genótipo 55.2. Foi observada uma uniformidade entre valores de CRRS entre as famílias do mesmo cruzamento, sendo que a diferença observada entre genótipos classificados como homozigotos dominantes tolerantes ao Al tóxico (TT) entre os 3 cruzamentos é devido, provavelmente, à interação do gene *Al_{SB}* com o *background* genético dos diferentes materiais utilizados.

Os 18 genótipos avaliados no nível $39\mu M$ de Al^{3+} (tabela 3) apresentaram resultados inferiores ao nível $27\mu M$ de Al^{3+} no âmbito da discriminação entre genótipos homozigotos dominantes (TT) e heterozigotos tolerantes (Tt), comprovando a eficiência do nível $27\mu M$ quando comparado ao nível de $39\mu M$ na identificação e classificação dos diferentes genótipos (TT, Tt e tt).

Tabela 3. Média das 14 plântulas de sorgo avaliadas quanto do Crescimento Líquido Diário (CLD) no nível $39\mu M$ de Al^{3+} e Crescimento Relativo Raiz Seminal (CRRS) de plantas F2 referentes ao ano de 2005. Médias do Crescimento Líquido Diário (CLD) nos níveis 0 e $27\mu M$ Al^{3+} , média de CLD relativo ao nível $0\mu M$ Al^{3+} e Crescimento Relativo Raiz Seminal (CRRS) de plantas F4, referentes ao ano 2010. Dados obtidos em câmara de crescimento da Embrapa Milho e Sorgo – Sete Lagoas, MG.

| Genótipo | 2005 | | 2010 | | | | Provável Genótipo F3 |
|----------|-----------------------|------|-----------------------|---------------------|-------------------------|------------|----------------------|
| | CLD | CRRS | Média CLD | Média CLD | Média CLD | Média CRRS | |
| | $39\mu M$ Al^{3+} | | $0\mu M$ Al^{3+} | $27\mu M$ Al^{3+} | Rel. $0\mu M$ Al^{3+} | | |
| | (mm) | (%) | (mm) | (mm) | (%) | | |
| | Planta F ₂ | | Planta F ₄ | | | | |
| 21.1 | 5,0 | 29,4 | 6,9 | 8,1 | 119,2 | 79,0 | TT |
| 22.2 | 5,0 | 29,4 | 6,3 | 3,9 | 57,2 | 30,6 | Tt |
| 24.1 | 11,2 | 75,3 | 7,7 | 2,1 | 26,7 | 19,0 | tt/Tt |
| 23.2 | 11,2 | 75,3 | 7,8 | 1,8 | 25,8 | 18,1 | tt/Tt |
| 26.1 | 7,3 | 44,9 | 9,2 | 10,2 | 112,6 | 91,6 | TT |
| 25.2 | 7,3 | 44,9 | 9,1 | 9,3 | 105,3 | 76,2 | TT |
| 27.1 | 7,5 | 40,2 | 6,3 | 9,6 | 192,5 | 88,9 | TT |
| 28.2 | 7,5 | 40,2 | 8,1 | 8,8 | 118,2 | 64,9 | TT |
| 30.1 | 12,2 | 66,4 | 15,0 | 15,8 | 108,3 | 116,8 | TT |
| 29.2 | 12,2 | 66,4 | 7,4 | 8,1 | 114,8 | 62,2 | TT |
| 35.1 | 2,8 | 15,5 | 16,8 | 7,1 | 39,0 | 43,4 | Tt |
| 36.2 | 2,8 | 15,5 | 16,9 | 6,2 | 20,9 | 28,0 | Tt |
| 42.1 | 1,8 | 12,0 | 10,9 | 7,9 | 76,4 | 78,8 | TT |
| 41.2 | 1,8 | 12,0 | 14,8 | 4,0 | 36,0 | 25,7 | Tt |
| 43.1 | 2,0 | 12,9 | 17,5 | 3,9 | 23,5 | 33,2 | Tt/tt |
| 44.2 | 2,0 | 12,9 | 15,0 | 3,9 | 30,6 | 32,9 | Tt/tt |
| 46.1 | 1,5 | 9,9 | 14,7 | 2,2 | 15,5 | 20,9 | Tt |
| 45.2 | 1,5 | 9,9 | 11,9 | 1,3 | 12,2 | 11,2 | Tt |



| | | | | | | | |
|--------|---|---|------|------|------|------|----|
| ATF13A | - | - | 13,4 | 3,0 | 25,5 | 23,0 | Tt |
| ATF14B | - | - | 13,7 | 10,7 | 81,5 | 77,1 | TT |

Na tabela 4 estão dispostos os resultados de 3 famílias diferentes quanto à classificação em homozigoto dominante (TT), heterozigoto (Tt) e homozigoto recessivo (tt), mostrando com maiores detalhes a relação entre as proporções colhidas e suas respectivas classificações.

Tabela 4. Representação dos valores das 14 plântulas de sorgo de 3 famílias destoantes avaliadas quanto do Crescimento Líquido Diário (CLD) em mm, Crescimento Relativo Raiz Seminal no nível 27 μ M de Al³⁺, Média do Crescimento Líquido (CL) com 1 dia no nível 0 μ M de Al³⁺, Média do Crescimento Líquido Diário (CLD) e Média do Crescimento Relativo Raiz Seminal CRRS nos níveis 0 e 27 μ M de Al³⁺. Os acessos assinalados são de plântulas homozigotas recessivas (tt). Dados obtidos em câmara de crescimento da Embrapa Milho e Sorgo – Sete Lagoas, MG.

| Genótipo | Plantas | CLD (mm) 6 dias | CRRS % 27 Al ³⁺ | CL 1 dia 0 Al ³⁺ 6 dias | Média CLD 0 Al ³⁺ | Média CRRS % 27 Al ³⁺ | Provável Genótipo F3 Família |
|----------|---------|-----------------|----------------------------|------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| 3.1 | 1 | 12,3 | 104,2 | 11 | 145,8 | 96,9 | TT |
| | 2 | 12,0 | 85,7 | 12 | | | |
| | 3 | 13,0 | 120,0 | 9 | | | |
| | 4 | 14,2 | 113,3 | 7 | | | |
| | 5 | 12,5 | 108,7 | 8 | | | |
| | 6 | 12,3 | 100,0 | 9 | | | |
| | 7 | 12,3 | 96,1 | 9 | | | |
| | 8 | 10,5 | 79,7 | 10 | | | |
| | 9 | 8,0 | 66,7 | 7 | | | |
| | 10 | 10,8 | 98,5 | 9 | | | |
| | 11 | 13,8 | 136,1 | 8 | | | |
| | 12 | 11,0 | 76,7 | 9 | | | |
| | 13 | 9,0 | 77,1 | 9 | | | |
| | 14 | 9,5 | 93,4 | 3 | | | |
| 14.2 | 1 | 4,0 | 42,9 | 5 | 116,4 | 52,2 | Tt |
| | 2 | 3,0 | 28,6 | 6 | | | |
| | 3 | 6,0 | 47,4 | 8 | | | |
| | 4 | 7,2 | 55,8 | 7 | | | |
| | 5 | 8,5 | 68,9 | 6 | | | |
| | 6 | 2,2 | 18,1 | 3 | | | |
| | 7 | 6,8 | 62,1 | 4 | | | |
| | 8 | 7,7 | 76,7 | 4 | | | |
| | 9 | 5,7 | 57,6 | 4 | | | |
| | 10 | 6,7 | 52,6 | 4 | | | |
| | 11 | 8,0 | 76,2 | 6 | | | |
| | 12 | 1,7 | 16,1 | 4 | | | |
| | 13 | 7,7 | 65,7 | 7 | | | |
| | 14 | 9,2 | 61,8 | 6 | | | |
| 45.2 | 1 | 0,7 | 6,5 | 7 | 12,2 | 11,2 | Tt |
| | 2 | 0,7 | 7,7 | 10 | | | |
| | 3 | 0,8 | 8,3 | 13 | | | |
| | 4 | 2,3 | 16,7 | 17 | | | |
| | 5 | 1,0 | 9,2 | 13 | | | |
| | 6 | 0,5 | 4,4 | 8 | | | |
| | 7 | 1,2 | 10,0 | 16 | | | |
| | 8 | 1,2 | 8,4 | 12 | | | |
| | 9 | 2,2 | 20,0 | 13 | | | |
| | 10 | 3,2 | 25,7 | 14 | | | |
| | 11 | 1,0 | 8,8 | 13 | | | |
| | 12 | 1,2 | 9,7 | 16 | | | |
| | 13 | 1,2 | 10,9 | 12 | | | |
| | 14 | 1,2 | 11,1 | 3 | | | |
| ATF13A | - | - | 13,4 | 3,0 | 25,5 | 23,0 | Tt |
| ATF14B | - | - | 13,7 | 10,7 | 81,5 | 77,1 | TT |



Obs.: O desempenho das 14 plântulas F₄ indica o genótipo da planta F₃ da geração anterior “teste de progênie”.

A proporção esperada para plantas provenientes de autofecundação F₂ seria de ¼ homocigotos dominantes (TT), ½ heterocigotos tolerantes (Tt) e ¼ homocigotos recessivos tt (3-4 TT: 6-8 Tt :3-4 tt para 14 plântulas), de acordo com a proposta de seleção; os melhores acessos são escolhidos provavelmente eliminando homocigotos recessivos (tt) e heterocigotos tolerantes (Tt). Assim, é esperado que uma avaliação do avanço dos acessos selecionados em F₂ apresente predominantemente genótipos homocigotos dominantes (TT).

Com base nestas informações, pode ser observado que os dados da tabela 4 são claros quanto à uniformidade de resultados dentro de cada família, mostrando que todas as plântulas da família 3.1 são tolerantes (TT), indicando que a planta F₃ foi homocigota dominante e que a família não está segregando. Três das 14 plântulas em 14.2 obtiveram valores de CRRS inferiores a 40% (Tt) e todas as plântulas em 45.2 obtiveram valores inferiores a 40%, sendo a maioria inferior a 20%. O genótipo da planta F₃ na família 14.2 foi classificado como heterocigoto tolerante (Tt), pois 2 acessos foram visivelmente homocigotos recessivos (tt), indicando que alelos recessivos estão presentes na família.

Conclusão

É importante salientar que a seleção de plântulas individuais de sorgo em solução nutritiva visou à seleção de plantas homocigotas dominantes (TT) mediante a escolha dos acessos mais tolerantes. Sendo assim, considerando a proporção de segregação Mendeliana do gene *Alt_{SB}* esperada na geração F₂ (1:2:1), é verossímil a validação do método de avaliação a 27 µM, que se mostrou bem sucedido na identificação e classificação dos genótipos, possibilitando uma maior frequência na seleção dos acessos totalmente tolerantes ou homocigotos dominantes (TT). A avaliação dos genótipos a 39µM não se mostrou tão eficaz quanto à avaliação a 27 µM na diferenciação mais clara de homocigotos dominantes (TT) e heterocigotos tolerantes (Tt) e, ao contrário do que se esperava, este nível dificultou a diferenciação dos diferentes genótipos (TT, Tt e tt).

A Embrapa Milho e Sorgo tem tecnologia para realizar estas seleções utilizando marcadores moleculares. Marcadores moleculares são amplamente efetivos em trabalhos de genotipagem do gene *Alt_{SB}* em sorgo, conseguindo diferenciar com exatidão os acessos homocigotos (TT e tt) e heterocigotos (Tt), e o trabalho mostra o bom desempenho do método de seleção em solução nutritiva. Assim sendo, ambos os métodos são eficientes na identificação de progênies tolerantes, porém o protocolo descrito neste trabalho não necessita da infraestrutura e treinamento para o uso de marcadores moleculares.

Referências

CAMBRAIA, J.; SILVA, M. A.; CANO, M. A. O.; SANT’ANNA, R. Método simples para a avaliação de cultivares de sorgo quanto a tolerância ao alumínio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 3, n. 2, p. 87-95, 1991. Disponível em: <www.cnpdia.embrapa.br/rbfv/pdfs/v3n2p87.pdf>. Acesso em: 21 out. 2009.

CANIATO, F. F.; GUIMARÃES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; ALVES, V. M. C.; KOCHIAN, L. V.; BORÉM, A.; KLEIN, P. E.; MAGALHÃES, J. V. Genetic diversity for aluminum tolerance in sorghum. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 114, p. 863-876, 2007.



FURLANI, P. R.; CLARK, R. B. Screening sorghum for aluminium tolerance in nutrient solution. **Agronomy Journal**, Madison, v. 73, p. 587-594, 1981.

HILL, P. R.; AHLRICHS, J. L.; EJETA, G. Rapid evaluation of sorghum for aluminum tolerance. **Plant and Soil**, The Hague, v. 114, n. 1, p. 85-90, fev. 1989. Disponível em: <uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile/3431/2790>. Acesso em: 3 jun. 2010.

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

MAGALHÃES, J. V.; LIU, J.; GUIMARÃES, C. T.; LANA, U. G. P.; ALVES, V. M. C.; WANG, Y.; SCHAFFERT, R. E.; HOEKENGA, O. A.; PIÑEROS, M. A.; SCHAFF, 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**, London, v. 39, p. 1156-1161, 2007.

MAGNAVACA, R.; GARDNER, C. O. E.; CLARK, R. B. Inheritance of aluminum tolerance in maize. In: GABELMAN, H. W.; LOUGHMAN, B. C. (Ed.). **Genetic aspects of plant mineral nutrition**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987. p. 201-212.

RYAN, P. R.; DITOMASO, J. M.; KOCHIAN, L. V. Aluminum toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 44, n. 2, p. 437-446, 1993.

SCHAFFERT, R. E.; SILVA, L. A.; ALVES, V. M. C.; CARVALHO JR., G. A.; MAGALHÃES, J. V. The effect of the *Alt_{SB}* gene on root growth in nutrient solution of isogenic sorghum hybrids. In: INTERNATIONAL PLANT NUTRITION COLLOQUIUM, 16., 2009, Sacramento, California. **Proceedings...** Davis: University of California, 2009. Disponível em: <escholarship.org/uc/item/8851k8q2>. Acesso em: 23 nov. 2009.

Apoio: FAPEMIG

