

Desenvolvimento Radicular de Híbridos Isogênicos de Sorgo Avaliados em Cinco Níveis de Alumínio em Solução Nutritiva

Lidianne A. Silva¹, Fabrício Rodrigues², Michel C. da Rocha³, João C. Souza⁴, Flávio D. Tardin⁵, Jurandir V. Magalhães⁵, José A. S. Rodrigues⁵ e Robert. E. Schaffert⁵.

¹Mestranda, UFLA, CP. 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG. lidisagro@yahoo.com.br,
²Doutorando UFLA, fabriciorods@yahoo.com.br, ³Mestrando UFV, michelcastelani@yahoo.com.br,
⁴Departamento de Biologia UFLA, cansouza@ufla.br, ⁵Pesquisadores, Embrapa Milho e Sorgo, schaffer@cnpmc.embrapa.br

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*, gene *Alt_{SB}*, solução nutritiva.

No Brasil, o sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é cultivado principalmente para a produção de grãos e forragem, embora também seja utilizado para produção de álcool e açúcar e até mesmo para produção de vassoura (Sawazaki, 1998). Esta cultura apresentou expressiva expansão no Brasil nos últimos anos, sendo esperado para este ano uma produção de sorgo em torno de 1,7 milhões de toneladas. A produtividade também subiu de 2.125 kg ha⁻¹ para 2.315 kg ha⁻¹, segundo dados da Conab (2008), acompanhada da área plantada de 748 mil hectares contra 704 mil na safra passada. O Centro-Oeste brasileiro continua liderando a produção, com destaque para os estados de Goiás e Mato Grosso.

O sorgo apresenta uma vantagem adaptativa distinta quando comparado a outros cereais, pois a sua resistência à seca e a tolerância a temperaturas elevadas viabiliza a sua produção em ambientes problemáticos para outras culturas. Vários genótipos de sorgo são sensíveis ao Al tóxico em solos com alta saturação deste elemento. Para evitar este problema, a neutralização da acidez do solo, utilizando o método da calagem tem sido recomendada, mas a adoção dessa estratégia pode ser restritiva no subsolo em camadas abaixo de 0-20 cm. Uma alternativa é o desenvolvimento de cultivares com maior tolerância ao alumínio. Com o propósito de aperfeiçoar o programa de melhoramento de sorgo para obtenção de genótipos tolerantes a solos ácidos, a Embrapa Milho e Sorgo vem realizando um programa de Pesquisa e Desenvolvimento para desenvolver cultivares de sorgo com maior tolerância ao Al tóxico.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do gene para tolerância ao alumínio tóxico, *Alt_{SB}* (Magalhães et al., 2007) no Crescimento de Raiz Seminal (CRS) de seis pares de híbridos isogênicos contrastantes para tolerância ao Al tóxico em solução nutritiva.

O ensaio foi conduzido em Câmara de Crescimento da Embrapa Milho e Sorgo, sendo os 12 híbridos crescidos em recipientes contendo solução nutritiva em 5 níveis de Al tóxico (0, 11, 20, 27 e 39 μM). Os híbridos foram avaliados ao longo de sete dias (168h) quanto ao CRI (Comprimento Raiz Inicial), CRF (Comprimento Raiz Final), CLDR (Crescimento Líquido Diário de Raiz) e CRRS (Comprimento Relativo Raiz Seminal). Os híbridos são derivados de dois pares de linhagens fêmeas isogênicas para *Alt_{SB}*, sendo um par formado por (ATF8A e AFT10A) e outro par formado por (ATF13A e ATF14A); ATF8A e ATF13A são linhagens

recessivas para Alt_{SB} (tt), ou seja, não possuem alelo para tolerância ao Al e ATF10A e ATF14A são linhagens tolerantes (TT), que possuem dois alelos para tolerância ao Al. As fêmeas foram cruzadas com 3 linhagens restauradoras, 2 homocigotas para Alt_{SB} (tt) e susceptível ao Al tóxico (BR012R e CMSXS180R) e 1 homocigota para Alt_{SB} tolerante ao Al tóxico CMSXS226R (TT) para gerar 6 pares de híbridos isogênicos.

As sementes dos híbridos foram escarificadas por 5 minutos com areia esterilizada. Posteriormente, as sementes foram esterilizadas com hipoclorito de sódio (0,525%) por 5 minutos, e enxaguadas 8 vezes com água destilada. As mesmas foram germinadas em rolos de papel de germinação por um período de quatro dias em câmara de crescimento com temperatura diurna média de $27 \pm 3^\circ\text{C}$ e noturna de $20 \pm 3^\circ\text{C}$. As plântulas foram então transferidas para copos plásticos perfurados, acomodados em placas de PVC, dentro de bandejas plásticas. Esta transferência foi realizada de forma a montar um DBC com três repetições, num esquema fatorial 12x5, sendo cada parcela experimental constituída de sete plântulas. As plântulas foram mantidas por 24h em solução nutritiva completa sem Al de acordo com Magnavaca (1987). Após este período, o comprimento do raiz seminal das plântulas foi medido, sendo que, em seguida, a solução nutritiva foi substituída por outra com a mesma constituição anterior, porém com a adição de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, de forma a atingir os cinco níveis de Al tóxico desejados.

Além do CRI, obtido antes da aplicação do estresse por Al, foi medido o comprimento da raiz seminal de cada plântula às 48, 96, 144 e 168 horas após ocorrência do estresse, este último medido considerado como (CRF). Esses valores foram utilizados posteriormente para calcular o CLDR e o CRRS. O (CLDR) foi obtido para cada intervalo de leitura e calculado pela fórmula: $\text{CLDR} = \text{CRT}_i - \text{CRT}_{i-1}$, onde CRT_i é o comprimento de raiz no tempo i e CRT_{i-1} é o comprimento de raiz medido anteriormente ao tempo i . Já o (CRRS) foi obtido pela fórmula: $\text{CRRS} = ((\text{CRF} - \text{CRI})/\text{CRI} * 100)$. Para análise estatística dos dados, foi considerada a média aritmética dos comprimentos das sete plântulas por parcela. O CLDR relativo à zero foi usado para determinar o período quando a raiz parou de crescer, provavelmente a morte da ponta da raiz. As características mensuradas foram submetidas a uma análise de variância e as médias dos híbridos foram agrupadas pelo teste Scott-Knott, ao nível de ($P < 0,01$). O aplicativo Genes (Cruz, 2001) foi usado para a realização das análises estatísticas, foi utilizado.

Na Figura 1(A), são as médias do CLDR no intervalo de 0 ao 3º dias com os níveis de Al. Houve diferença nas médias no crescimento de raiz (teste Scott-Knott) em 4 níveis de Al^{3+} (0, 11, 20 e $27\mu\text{M}$). No nível $27\mu\text{M}$ de Al, nível este considerado ideal para avaliar a tolerância ao Al^{3+} em sorgo, os híbridos com 2 alelos CMSXS226R (TT) e os híbridos com 1 alelo CMSXS226R (Tt) e BR012R (Tt) fizeram parte do mesmo grupo obtendo médias de crescimento de raiz superiores aos híbridos CMSXS180R (Tt). Os híbridos CMSXS180R (Tt) apesar de possuírem um alelo para a tolerância obtiveram crescimento de raiz semelhante aos híbridos (tt). No nível $39\mu\text{M}$, o crescimento foi reduzido para 3-5 mm diárias para todos os híbridos. O CLDR entre o intervalo do 3º ao 5º dia com Al^{3+} pode ser analisado na Figura 1(B), os híbridos obtiveram diferença de crescimento de raiz em todos os níveis de Al. No nível $27\mu\text{M}$ de Al^{3+} formou-se 4 grupos de médias de crescimento de raiz, um grupo foi composto por híbridos CMSXS226R (TT) que obtiveram crescimento de raiz superior ao segundo grupo de híbridos CMSXS226R (Tt) e BR012R (Tt), o terceiro grupo foi formado por híbridos CMSXS180R (Tt) que obtiveram crescimento de raiz superior aos híbridos CMSXS180R (tt) e BR012R (tt) que formaram o quarto grupo. Os híbridos BR012R (Tt), possui médias de crescimento superiores aos híbridos CMSXS226R e CMSXS180R (Tt), isto de acordo com

Caniato et al., (2007) pode ser devido a presença de mais de um gene de tolerância dado pelos parentais tolerantes ou pela presença de um conjunto de genes menores de tolerância na linhagem BR012R. Isto faz com que a média de crescimento de raiz seja superior aos híbridos CMSXS226R (Tt) e CMSXS180R (Tt) que não possuem esse efeito. No nível 39 μ M de Al³⁺ formou-se apenas dois grupos, um grupo formado pelos híbridos CMSXS226R (TT) que obtiveram crescimento de raiz superior a todos os outros híbridos (Tt) e (tt).

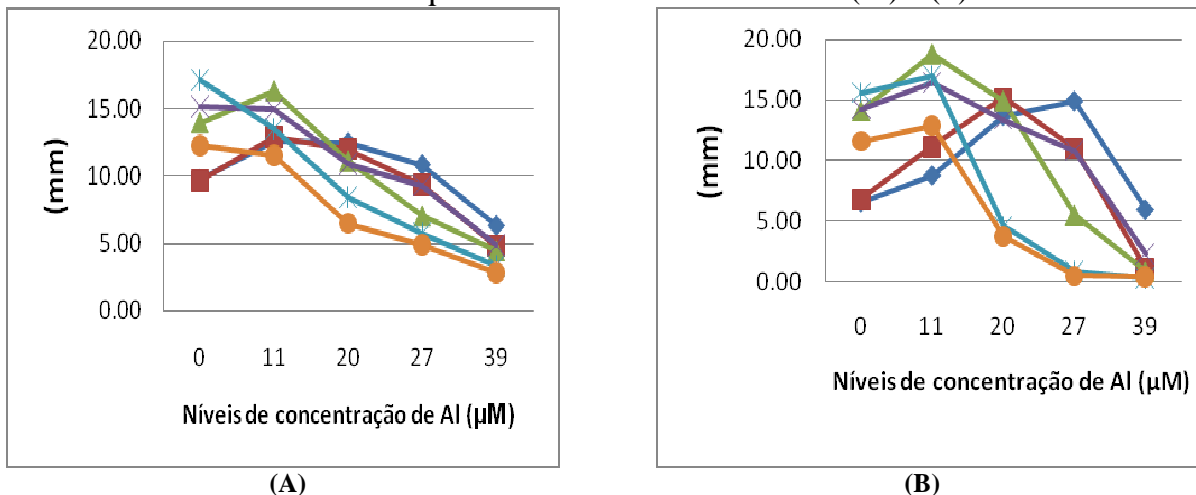


Figura 1: (A) Média do Comprimento líquido diário de raiz do 0 ao 3º dia e (B) 3º ao 5º dia de desenvolvimento de híbridos isogênicos de sorgo cultivados em solução nutritiva com diferentes saturações de Al³⁺. Legenda: Linhagens re:

—●— CMSXS226R (TT) —■— CMSXS226R (Tt) —▲— CMSXS180R (Tt)
 —×— BR012R (Tt) —*— BR012R (tt) —○— CMSXS180R (tt)

A Tabela 1 e os dados da Figura 2(A) mostram o CLDR no intervalo de 5º ao 7º dia. Está variável, quando aproxima de zero é muito útil para determinar os genótipos que são susceptíveis ao Al³⁺. A paralisação de crescimento representa a morte do ponto das raízes. Houve diferenças significativas entre os híbridos e os níveis de Al³⁺ (0, 11, 20 e 27 μ M). No nível 0 μ M de Al³⁺ formaram-se dois grupos pelo teste Scott-Knott sendo que os híbridos CMSXS226R (TT) e CMSXS226R (Tt) constituíram um grupo com menor crescimento e os híbridos BR012R, CMSXS180R (Tt) e BR012R, CMSXS180R (tt) constituíram outro grupo com maior crescimento. Esta diferença pode ser devida a outros genes que influenciam crescimento radicular. No nível 11 μ M de Al³⁺ também foi formado dois grupos de médias de crescimento de raiz os híbridos CMSXS226R (TT), CMSXS226R (Tt) e CMSXS180R (tt) obtiveram crescimento de raiz inferior aos híbridos CMSXS180R, BR012R (Tt) e BR012R (tt), mas neste nível ainda não é possível observar bem a expressão do gene *Alt_{SB}* e isto pode ser devido a baixa concentração de Al³⁺ e os híbridos não serem materiais sensíveis nesta concentração de 11 μ M de Al³⁺. Observou-se ainda neste nível 11 μ M de Al³⁺ que os híbridos (TT) obtiveram um aumento de crescimento de raiz entre os níveis 11 e 20 μ M de Al³⁺ o que não ocorreu no nível 0 μ M de Al³⁺, este fato pode ser devido a uma indução de crescimento, pois estes híbridos (TT) cresceram mais em 11 μ M de Al³⁺ do que cresceram em 0 μ M de Al³⁺. Já no nível 20 μ M de Al³⁺ é claro a expressão do gene *Alt_{SB}*, pois os híbridos CMSXS226R (TT) e CMSXS226R (Tt), BR012R (Tt) e CMSXS180R (Tt) obtiveram crescimento de raiz semelhantes e fazem parte de um mesmo grupo, com médias diferentes, porém não significativas pelo teste Scott-Knott a (P<0,01). Ainda neste nível, os híbridos BR012R (tt) e CMSXS180R (tt) que não possuem alelo para tolerância ao Al³⁺

não obtiveram crescimento de raiz o que confirma a sua susceptibilidade ao Al^{3+} . No nível $27\mu M$ de Al^{3+} foram formados quatro grupos, onde foi nítida a expressão do gene *Alt_{SB}*, sendo que o primeiro grupo foi formado pelos híbridos CMSXS226R (TT), que obtiveram a maior média de crescimento de raiz comparando-se aos híbridos isogênicos (Tt) e os híbridos (tt). O segundo grupo formou-se pelos híbridos BR012R (Tt) sugerindo assim uma possível expressão maior do gene *Alt_{SB}* nestes híbridos em relação aos híbridos CMSXS226R (Tt) e CMSXS180R (Tt) que formaram um terceiro grupo. O último grupo é dos híbridos BR012R (tt) e CMSXS180R (tt) que não obtiveram crescimento de raiz, pois, neste nível $27\mu M$ de Al^{3+} os pontos das raízes já se encontravam mortas. Porém no nível de Al^{3+} $39\mu M$ não houve diferenças significativas entre os híbridos e os níveis de Al^{3+} , mas houve crescimento de raiz dos híbridos CMSXS266R (TT), isto mostrou que mesmo não ocorrendo diferenças significativas houve o efeito do gene *Alt_{SB}*.

A Figura 2 (B) mostra a média do crescimento diário de raiz relativo a Al^{3+} zero no intervalo do 5º ao 7º dia. Os híbridos CMSXS226R (TT) no nível $11\mu M$ de Al^{3+} obtiveram indução de 40% de crescimento de raiz relativo à zero pela presença de Al^{3+} . No nível $20\mu M$ de Al^{3+} ocorreu à formação de três grupos, um grupo formou-se com os híbridos BR012R (tt) e CMSXS180R (tt) que obtiveram uma queda de 70-80% de crescimento de raiz relativo à zero. O segundo grupo foi formado pelos híbridos BR012R (Tt) e CMSXS180R (Tt) obtiveram uma queda de 5% de crescimento de raiz relativo a zero e o terceiro grupo formado no nível $20\mu M$ de Al^{3+} foi com os híbridos CMSXS226R (TT) e (Tt) que obtiveram uma indução de crescimento de raiz de aproximadamente 40% relativo à zero. No nível $27\mu M$ de Al^{3+} formaram-se quatro grupos, um grupo formado pelos híbridos BR012R (tt) e CMSXS180R (tt), o qual as raízes já estavam mortas com uma queda de 100% relativo à zero, um segundo grupo formado pelos híbridos CMSXS180R (Tt) com uma queda de 75% relativos à zero, mas os híbridos BR012R (Tt) e CMSXS226R (Tt) obtiveram uma queda de 35% enquanto os híbridos CMSXS226R (TT) obtiveram uma indução de 40%, mostrando assim o efeito maior da expressão do gene *Alt_{SB}* neste híbrido com dois alelos de *Alt_{SB}*. No nível de $39\mu M$ de Al^{3+} , todos os híbridos obtiveram

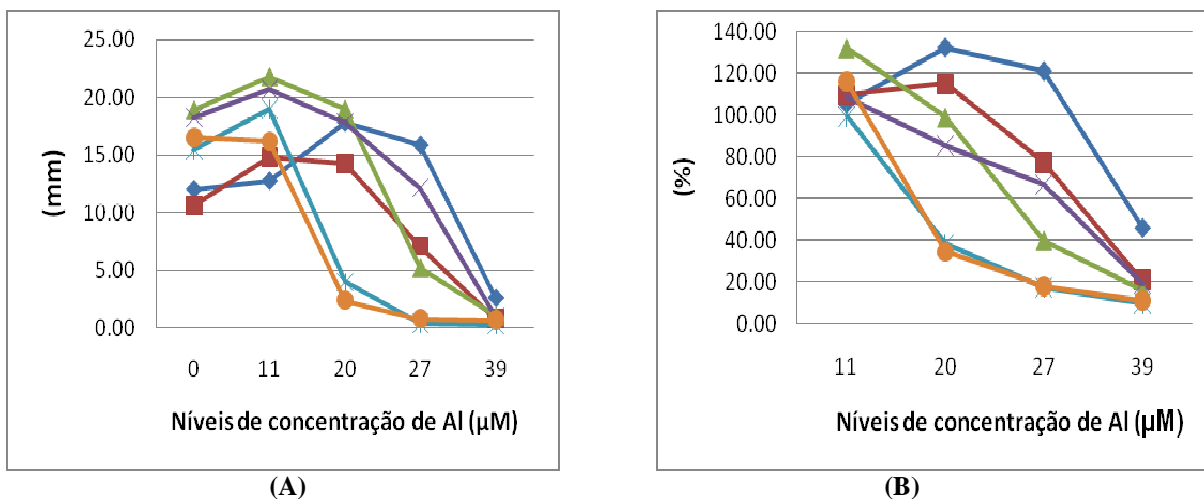


Figura 2: (A) Média do comprimento líquido diário de raiz do 5º ao 7º dia e (B) e média do crescimento líquido diário de raiz relativo à zero do 5º ao 7º dia de desenvolvimento de híbridos isogênicos de sorgo cultivados em solução nutritiva com diferentes saturações de Al^{3+} .

Legenda: Média do crescimento diário de raiz dos híbridos em parênteses.

- ◆ CMSXS226R (TT) ■ CMSXS226R (Tt) ▲ CMSXS180R (Tt)
- ◆ BR012R (Tt) ◆ BR012R (tt) ● CMSXS180R (tt)

queda de crescimento de raiz relativo à zero de 100%, com exceção dos híbridos (TT) que ainda mantiveram um pequeno crescimento de raiz relativo à Al zero.

A vantagem significativa do gene *Alt_{SB}* de híbridos de sorgo foi confirmado neste trabalho, sendo os híbridos recebendo o gene *Alt_{SB}* dos dois parentais mais vantajosa.

Tabela 1: Média do crescimento líquido diário do 5º ao 7º dia desenvolvimento de híbridos de sorgo isogênicos em solução nutritiva, baseada no teste Scott-Knott (P<0,01).

Híbridos (Genótipos)	Alumínio				
	0	11	20	27	39
	5-7 Dias	5-7 Dias	5-7 Dias	5-7 Dias	5-7 Dias
CMSXS226R (TT)	12.02B	12.76B	17.82A	15.86A	2.60A
CMSXS226R (Tt)	10.63B	14.82B	14.27A	7.11C	0.79A
CMSXS180R (Tt)	18.90A	21.79A	18.97A	5.26C	1.05A
BR012R (Tt)	18.26A	20.76A	17.89A	12.18B	0.96A
BR012R (tt)	15.46A	19.00A	4.04B	0.45D	0.30A
CMSXS180R (tt)	16.56A	16.23B	2.42B	0.80D	0.67A

As médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem entre pelo teste Scott-Knott a (P<0,01).

Referências bibliográficas

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento, **Título do documento disponível em:** <http://www.conab.gov.br> acesso em 10 de junho de 2008.

CRUZ, C. D. Programa GENES, versão Windows. Editora UFV. 642p. 2001.

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**, Inglaterra, v.39, p. 1156-1161, 2007.

MAGNAVACA, R.; GARDNER, C. O. E.; CLARK, R. B. Inheritance of aluminum tolerance in maize, In: **Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition**, edited by Gabelman, H. W. and B. C. Loughman. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster, p. 201-212. 1987.

SANTOS, F.G., CASELA, C.R., WAQUIL, J.M. Melhoramento de sorgo. In: Borém, A. ed. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, UFV, 2005. p. 605-658

SAWAZAKI, E. Sorgo forrageiro ou misto, sorgo granífero, sorgo vassoura – *Sorghum bicolor* L. Moench. In: FALH, J.L.(Ed.) **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. 6 ed. Campinas, IAC, 1998. p.44-49. 1998.