

106

Circular
Técnica

Sete Lagoas, MG
Dezembro, 2008

Autores

Jurandir Vieira de
Magalhães
Eng. Agr., PhD Genética
Molecular de Plantas
Embrapa Milho e Sorgo.
Caixa Postal 151,
35701-970 Sete
Lagoas, MG
jurandir@cnpmc.embrapa.br

Cláudia Teixeira
Guimarães
Eng. Agr., PhD Genética
Molecular de Plantas
Embrapa Milho e Sorgo.
Caixa Postal 151,
35701-970 Sete
Lagoas, MG
claudia@cnpmc.embrapa.br



Tolerância ao alumínio em sorgo

Toxidez de alumínio em solos ácidos

A toxidez de alumínio (Al) é um dos principais fatores de estresse abiótico em solos ácidos, os quais apresentam tipicamente um conjunto de características inadequadas à produção vegetal, como baixa fertilidade e baixa disponibilidade de fósforo (P). Com a queda do pH a valores baixos ($\text{pH} < 5$), os íons Al são liberados na solução do solo, exercendo efeitos fitotóxicos. Plantas intoxicadas por Al apresentam uma rápida inibição do crescimento radicular (Kochian, 1995), que progredirá em direção a danos radiculares com o aumento do período de exposição ao íon. Finalmente, a toxidez de Al resultará em um sistema radicular pouco desenvolvido, incapaz de explorar camadas mais profundas de solo. Os efeitos fitotóxicos diretos do Al (Figura 1), bem como os efeitos indiretos que resultam na restrição da absorção de nutrientes e susceptibilidade à seca, são as principais causas de baixa produtividade das culturas em solos ácidos.



Figura 1. Linhagens de sorgo (A) e de milho (B) contrastantes quanto à tolerância ao Al tóxico. As linhagens sensíveis apresentam desenvolvimento reduzido devido à menor absorção de água e de nutrientes

Possíveis soluções para o problema da toxidez causada pelo Al

Com a queda do pH, íons Al^{3+} , que se encontram na forma de octaedros hexahidratados, $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, sofrem hidrólises sucessivas, dando origem a formas como $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ e $\text{Al}(\text{OH})_3$ (Martin, 1992).

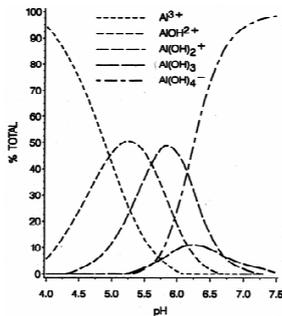


Figura 2. Hidrólise do $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ (Martin, 1992)

As formas iônicas de Al são altamente tóxicas, sendo responsáveis pelos danos no sistema radicular das plantas, cuja extensão depende do grau de susceptibilidade do genótipo afetado e do nível de saturação de alumínio no solo. A aplicação de calcário é a prática mais comumente utilizada para elevar o pH do solo e, assim, reduzir ou eliminar a toxidez causada pelo Al. De acordo com a Figura 2, com o aumento do pH o Al^{3+} precipita-se, formando $\text{Al}(\text{OH})_3$, composto que não é tóxico às raízes das plantas, sendo esta a base química da neutralização do efeito fitotóxico do Al^{3+} pela prática da calagem.

Avaliação fenotípica da tolerância ao Al em cultivo hidropônico

Como visto, a toxidez causada pelo Al provoca uma rápida inibição do crescimento radicular e essa reação pode ser utilizada para avaliar o grau de tolerância e susceptibilidade de um genótipo devido a fatores genéticos. Para esse fim, é utilizado o método da inibição do crescimento radicular em solução nutritiva contendo Al, adotando-se uma metodologia ajustada especificamente para sorgo (Magalhães et al., 2004). A solução nutritiva (Magnavaca et al., 1987) é composta dos seguintes macronutrientes: (mmol L^{-1}): Ca - 3,53; K - 2,35; Mg - 0,85; N (NO_3) - 10,86; N (NH_4) - 1,3; P - 0,045; S - 0,59; e dos micronutrientes ($\mu\text{mol L}^{-1}$): B - 25; Mn - 9,1; Cu - 0,63; Mo - 0,83; Zn - 2,29; FeHEDTA - 77; e Cl - 600. O Al é adicionado como $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ e o pH ajustado para 4,0. Para sorgo, nossos

trabalhos (Caniato et al., 2007) indicam que as atividades de Al livre de {0}, {11}, {20}, {27} e {39} $\mu\text{M Al}^{3+}$, estimadas pelo programa de análise de especiação GEOCHEM-PC (Parker et al., 1995), são eficientes para discriminar genótipos de sorgo quanto à tolerância ao Al. As concentrações de Al, bem como a metodologia completa, pode ser encontrada em Caniato et al. (2007).

Brevemente, as sementes de sorgo são levemente escarificadas com areia para quebra de dormência e são esterilizadas com 0,525% NaOCl por 10min sob agitação, seguindo-se lavagem final por 8 vezes com água ultrapura. Após quatro dias de germinação, as plântulas de sorgo são transferidas para bandejas plásticas de 8L contendo solução nutritiva controle (sem Al). As plântulas permanecem por 48h em solução controle para aclimatação, com posterior transferência para solução contendo Al na atividade desejada (tratamento com Al) e nova solução sem Al (tratamento controle). O comprimento inicial da raiz seminal é medido antes do início dos tratamentos, seguindo-se novas medições após 3 e 5 dias. Valores percentuais de inibição de crescimento radicular são estimados pela razão entre o crescimento líquido (comprimento final - comprimento inicial) sob tratamento de Al e o crescimento líquido na ausência de Al para os períodos experimentais de 3 e 5 dias.

Adicionalmente, a tolerância ao Al pode ser avaliada de maneira qualitativa pelo método de coloração com hematoxilina (Polle et al., 1978) conforme descrito por Magalhães et al. (2004). A hematoxilina é um composto que produz uma coloração arroxeadada em contato com o Al, sendo, assim, um indicador indireto da acumulação de Al nas raízes.



Figura 3. Coloração de hematoxilina em raiz de sorgo sensível e tolerante ao Al

O gene de tolerância ao Al Alt_{SB} (*Aluminum Tolerance Sorghum bicolor*)

A herança da tolerância ao Al em sorgo foi estudada em uma população $F_{2,3}$ derivada do cruzamento das linhagens de sorgo SC283 (tolerante) e BR007 (sensível). Os resultados foram consistentes com a presença de um gene de tolerância ao Al de efeito maior, que responde por aproximadamente 80% da variação fenotípica para a característica (Magalhães et al., 2004). Subsequentemente, esse gene foi isolado pela técnica de clonagem posicional (Magalhães et al., 2007) e foi caracterizado como um transportador de membrana pertencente à família multigênica MATE (*Multidrug and Toxic Compound Extrusion family*). O gene Alt_{SB} possui uma expressão superior no ápice radicular de genótipos tolerantes, sendo a mesma induzida na presença de alumínio tóxico. Assim, o gene confere tolerância ao Al em sorgo por meio da liberação de citrato para a rizosfera das plantas tolerantes. O citrato forma um complexo estável com os íons Al, que não é tóxico para as raízes das plantas (Figura 4).

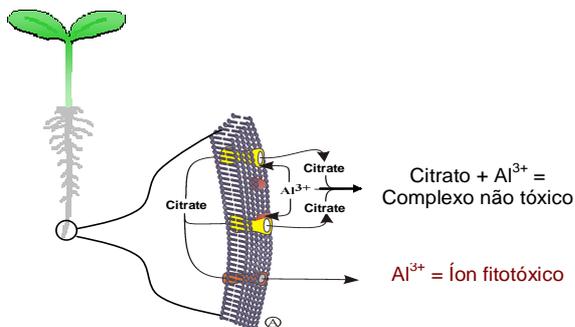


Figura 4. Esquema do mecanismo de tolerância ao alumínio em sorgo. A) Membrana plasmática contendo transportadores (em amarelo) que mediam a liberação de citrato na presença de íons Al^{3+} no ápice radicular de plantas de sorgo tolerantes

Melhoramento assistido por marcadores moleculares para aumentar a tolerância ao Al em sorgo

Foram desenvolvidos marcadores moleculares flanqueando o gene de tolerância ao alumínio Alt_{SB} (Figura 5).

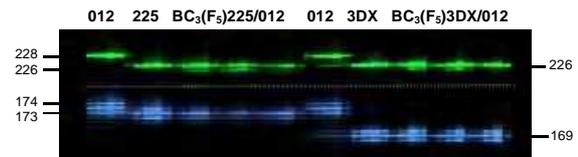


Figura 5. Marcadores moleculares CTG29 (verde) e M181 (azul), que flanqueiam o gene Alt_{SB} a uma distância de 0,5 cM. Os números à esquerda e à direita representam os tamanhos, em pares de bases, dos alelos amplificados. O perfil de amplificação foi obtido com DNA genômico das linhagens BR012 (012), CMSXS225 (225), três linhagens isogênicas contendo o alelo Alt_{SB} de CMSXS225 no background genético de BR012 ($BC_3(F_5)225/012$), 3DX e três linhagens isogênicas contendo o alelo Alt_{SB} de 3DX background genético de BR012 ($BC_3(F_5)3DX/012$) (Caniato et al., 2007).

Os dados obtidos por Caniato et al. (2007) indicaram que a seleção assistida foi efetiva para aumentar a tolerância ao Al na linhagem BR012 pela introgressão dos alelos de tolerância das linhagens 3DX e CMSXS225. Além disso, notou-se a ocorrência de uma série alélica no loco Alt_{SB} , sendo o alelo associado aos efeitos fenotípicos mais altos aquele proveniente de CMSXS225. Trabalhos preliminares em andamento na Embrapa Milho e Sorgo indicam que a presença do alelo de tolerância ao alumínio proveniente da linhagem SC283 está associada a um aumento de produção de aproximadamente uma tonelada por hectare em solos ácidos contendo alumínio tóxico.

Referências bibliográficas

Caniato, F.F.; Guimarães, C.T.; Schaffert, R.E.; Alves, V.M.; Kochian L.V.; Borém, A.; Klein, P.E.; Magalhães J.V. 2007. Genetic diversity for aluminum tolerance in sorghum. *Theor. Appl. Genet.* 114: 863-876

Kochian, L.V. 1995. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46: 237-260

Magalhães, J.V.; Garvin, D.F.; Wang, Y.; Sorrells, M.E.; Klein, P.E.; Schaffert, R.E.; Li, L.; Kochian, L.V. 2004. Comparative mapping of a major aluminum tolerance gene in sorghum and other species in the Poaceae. *Genetics* 167: 1905-1914

Magalhães, J.V.; Liu, J.; Guimarães, C.T.; Lana, U.G.P.; Alves, V.M.C.; Wang, Y-H.; Schaffert, R.E.; Hoekenga, O.; Shaff, J.; Pineros, M.; Klein, P.; Coelho, C.M.; Kochian, L.V. 2007. A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum. *Nature Genetics*, 39: 1156-1161

Magnacava, R.; Gardner C.O.; Clark, R.B. 1987. Evaluation of inbred maize lines for aluminum in nutrient solution. In: H.W. Gabelman & B.C. Loughman (Eds.) *Genetics Aspects of Plant Mineral Nutrition*, pp. 255-265. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht

Martin RB. 1992. Aluminum speciation in biology. In: D.J. Chadwick & J. Whelan (Eds.) *Aluminum in Biology and Medicine*, pp 5-25. John Wiley and Sons, New York

Parker, D.R.; Norvell, W.A.; Chaney, R.L. 1995. GEOCHEM-PC: a chemical speciation program for IBM and compatible computers. In: R.H. Loeppert, A.P. Schwab, S. Goldberg (Eds) *Chemical Equilibrium and Reaction Models*, Soil Science Society of America, pp. 253-269. Madison

Polle, E.; Konzak, C.F.; Kittrick, J.A. 1978. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedling roots. *Crop Science* 18: 823-827

Circular Técnica, 106

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Rod. MG 424 km 45 - Caixa Postal 151
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
E-mail: sac@cnpmc.embrapa.br

1ª edição
 1ª impressão (2008): 200 exemplares

Comitê de publicações

Presidente: Antônio Álvaro Corsetti Purcino
Secretário-Executivo: Paulo César Magalhães
Membros: Andrea Almeida Carneiro, Carlos Roberto Casela, Cláudia T. Guimarães, Clelio Araujo, Flavia França Teixeira, Jurandir Vieira Magalhães

Expediente

Revisão de texto: Clelio Araujo
Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

ERROR: undefined
OFFENDING COMMAND: DeleteMe

STACK: