



JURANDIR VIEIRA DE MAGALHÃES

jurandir@cnpms.embrapa.br

Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, Sete Lagoas - MG, 35701-970

INTRODUÇÃO

As gramíneas cultivadas compõem um complexo constituído por mais de 10.000 espécies (Kellogg 1998), muitas das quais são a principal fonte de alimento para a população mundial. Contudo, em áreas do globo nas quais prevalecem os solos ácidos – que totalizam mais de 50% das áreas potencialmente aráveis do mundo (von Uexküll e Muttert, 1995) – a toxidez de alumínio (Al) é um dos principais fatores que limitam a produção agrícola. Essa limitação advém de uma rápida inibição do crescimento radicular causada pelo Al (Ryan *et al.*, 1992; Horst *et al.*, 1999), que restringe o volume de solo explorado pelas raízes, resultando em uma maior susceptibilidade ao déficit hídrico e às deficiências minerais. Tendo-se em vista que grandes extensões de solos ácidos localizam-se em países sub-desenvolvidos e em desenvolvimento nos trópicos e sub-trópicos, onde a produção de alimentos é crítica, a busca de tecnologias que mitiguem o problema da toxidez de Al torna-se de vital importância.

Nós últimos anos, uma gama de recursos genômicos em plantas foi colocada à disposição da comunidade científica mundial, beneficiando particularmente os estudos em gramíneas cultivadas. Esses recursos incluem o desenvolvimento de técnicas para obtenção de perfis de expressão gênica em larga escala (i.e. *Microarray Analysis*), construção de bancos de etiquetas de seqüências expressas (i.e. *Expressed-Sequenced Tags*), construção de painéis de mutantes em algumas espécies (i.e. *knockout mutants*), e a integração de mapas genéticos a mapas físicos em espécies como o sorgo. Finalmente, talvez o maior impacto tenha sido causado pelo seqüenciamento do genoma de plantas como *Arabidopsis* e o arroz o que, juntamente à genômica comparativa, representou uma oportunidade ímpar para a transferência de informações genéticas entre espécies de gramíneas cultivadas.

Essas e outras ferramentas representam agora um recurso valioso para o isolamento e validação de genes de interesse em gramíneas, bem como para a busca de novos alelos que confirmam características agrônomicas desejáveis. Entretanto, nota-se que a efetividade dessas técnicas depende profundamente da disponibilidade de sistemas genéticos bem caracterizados, tanto do ponto de vista genético-molecular quanto do fisiológico.

A tolerância ao Al em plantas tem sido buscada por quase 100 anos (da Silva, 1976), constituindo-se o Brasil em exemplo de sucesso na elaboração e aplicação da pesquisa científica para viabilizar a agricultura em solos ácidos com problemas de toxidez de Al (para sinopse desses esforços, ver da Silva, 1976; Bahia Filho *et al.* 1997, Garvin e Carver, 2003). Além disso, recursos genéticos altamente caracterizados para tolerância ao Al, como padrões de tolerância e susceptibilidade, linhagens isogênicas e semi-isogênicas para genes maiores de tolerância, e populações de mapeamento de natureza diversa estão disponíveis para a elucidação dos mecanismos fisiológicos, genéticos e genético-moleculares da tolerância.

Por essas razões, a tolerância ao Al é hoje um modelo para o isolamento de genes de tolerância a estresses abióticos em gramíneas, objetivo esse que começa agora a ser atingido em algumas espécies, mediante à aplicação das mais modernas técnicas de genômica hora disponíveis para sistemas vegetais. Esta apresentação oferecerá vários exemplos da aplicação da genômica para o estudo e isolamento de genes de tolerância ao Al em plantas. Ao utilizar a tolerância ao Al como estudo de caso, tem-se como objetivo apresentar estratégias que, mediante adaptações para a natureza particular de cada fonte de estresse biótico ou abiótico, podem ser utilizadas para o isolamento de genes de tolerância de grande interesse agrônomico. Como base para tanto, será feita a seguir uma breve descrição das informações genéticas da tolerância ao Al em gramíneas.

PANORAMA DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM PLANTAS

Embora os eventos de especiação que deram origem às culturas atuais tenham ocorrido há 16 milhões de anos, como no caso do milho e do sorgo (Gaut *et al.*, 2000), a ordem e o conteúdo dos genes no cromossomo ancestral foram mantidos a um nível detectável por trabalhos de mapeamento (Bonierbale *et al.*, 1988; Hulbert *et al.*, 1990). Em particular nas gramíneas, suas várias espécies são hoje consideradas um sistema único (Bennetzen e Freeling, 1993), tendo sido gerado um mapa-consenso no qual diversos genomas foram alinhados (Gale e Devos, 1998). Com base em relações de ancestralidade comum, tornou-se possível a identificação de genes correspondentes (i.e. ortólogos), presentes em regiões conservadas (i.e. sintênicas) de espécies distintas. Perante esse modelo, genes similares – aqueles de ancestralidade comum - poderiam ser considerados alelos interespecíficos; e alelos superiores controlando características agrônomicas de interesse poderiam ser identificados no conjunto completo das gramíneas (Bennetzen 1996) para fins de melhoramento de plantas. Assim, o estudo de Paterson *et al.* (1995) indica que genes envolvidos na domesticação do arroz, do milho e do sorgo, como aqueles que controlam o florescimento, o tamanho e a deiscência de sementes, são localizados em regiões conservadas dos genomas dessas espécies.

O controle genético da tolerância ao Al na tribo Triticeae parece dever-se, principalmente, a uma série alélica de locos ortólogos (Garvin e Carver, 2003). Esses genes de tolerância estão localizados nos cromossomos homoeólogos 4DL em trigo (*Alt_{BH}*, Riede and Anderson, 1996), 4H em cevada (*Alp*, Tang *et al.*, 2000) e 4RL em centeio (*Alt3*, Miftahudin *et al.*, 2002), na região dos marcadores moleculares *bcd1230* e *cdo1395*. A conservação proposta pode estender-se à tribo Oryzeae, visto ter sido detectado um QTL ligado a *cdo1395* no cromossomo 3 de arroz (Wu *et al.*, 2000; Nguyen *et al.*, 2003), que é sintênico aos cromossomos do grupo 4 de Triticeae (Ahn *et al.*, 1993; Van Deynze *et al.*, 1995; Saghai-Marooof *et al.*, 1996). Esses estudos indicam que genes de tolerância ao Al podem ser de fato conservados em trigo, centeio, cevada e também arroz.

Borgonovi et al. (1987) revisaram vários estudos da tolerância ao Al nessa espécie e concluíram que, em geral, a característica é controlada por um número pequeno de genes maiores com efeito dominante, provavelmente um gene com dominância parcial e vários genes menores com pelo menos algum efeito aditivo. A ocorrência de genes distintos que possam conferir efeitos fenotípicos aditivos é possível em sorgo, visto o alto grau de capacidade geral de combinação observado em cruzamentos dialélicos nessa espécie (Flores et al., 1991; Gourley et al., 1990; Borgonovi et al., 1987; Boye-Goni et al., 1985). Entretanto, efeitos significativos para capacidade específica de combinação têm também sido detectados, juntamente a distribuições de frequência bimodais resultantes da avaliação de progênies derivadas do cruzamento de parentais tolerantes e sensíveis ao Al (Furlani e Bastos 1990). Esses resultados sugeriram a existência de genes maiores de tolerância ao Al com efeito dominante em certos genótipos de sorgo. SC283 (IS7173), um cultivar de sorgo do grupo *Conspicuum*, coletado na Tanzânia, é o padrão de tolerância ao Al mais amplamente aceito nessa cultura (Duncan, 1988; Duncan et al., 1983; Foy et al., 1993). Estudos de mapeamento molecular de um gene único de tolerância ao Al no cultivar SC283 (*Alt_{SB}*, Magalhães et al. 2004), que confere 80% da variação fenotípica para a característica foram conduzidos, tendo sido propostas, com base na posição cromossômica desse gene em sorgo, possíveis relações de ortologia com genes de tolerância ao Al em outras espécies. Serão descritos os trabalhos em andamento visando à clonagem posicional do gene *Alt_{SB}* em sorgo, usando como estratégia a genômica comparativa com o arroz.

Estudos têm demonstrado a herança quantitativa da tolerância ao Al em milho, estando essa sob controle de 1 a 5 genes (Magnavaca et al., 1987; Sibov et al., 1999; Ninamango-Cárdenas et al., 2003). A localização de alguns dos QTLs para tolerância ao Al em milho foi obtida por (Ninamango-Cárdenas et al., 2003), e outras regiões estão sendo buscadas utilizando-se a genética comparativa em gramíneas.

CONCLUSÃO

Tendo sido descritas as informações gerais da natureza genética da tolerância ao Al em algumas espécies, essa palestra oferecerá exemplos da aplicação da genômica no estudo de estresses abióticos em gramíneas.

LITERATURA CITADA

Ahn S, Anderson JA, Sorrells ME, Tanksley SD (1993) Homoeologous relationships of rice, wheat and maize chromosomes. *Molecular and General Genetics* 241:483-490

Bahia Filho AFC, Magnavaca R, Schaffert RE, Alves VMC (1997) Identification, utilization, and economic impact of maize germplasm tolerant to low levels of phosphorus and toxic levels of exchangeable aluminum in Brazilian soils. *In: AC Moniz et al., eds, Plant-Soil Interactions at Low pH: Sustainable Agriculture and Forestry Production, Brazilian Soil Science Society, Campinas/Viçosa, pp 59-70*

Bennetzen JF, Freeling M (1993) Grasses as a single genetic system: genome composition, collinearity and compatibility. *Trends in Genetics* 9:259-261

Bennetzen JL (1996) The use of comparative genome mapping in the identification, cloning and manipulation of important plant genes. *In: BWS Sobral, ed, The Impact of Plant Molecular Genetics*, Birkhäuser Boston, pp 71-85

Bonierbale MW, Plaisted RL, Tanksley SD (1988) RFLP maps based on a common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics* 120:1095-1103

Borgonovi RA, Schaffert RE, Pitta GVE (1987) Breeding aluminum-tolerant sorghums. *In: LM*

Boye-Goni SR, Marcarian V (1985) Diallel analysis of aluminum tolerance in selected lines of grain sorghum. *Crop Science* 25:749-752

da Silva, A. R., 1976 Application of the genetic approach to wheat culture in Brazil. *Proceedings of Workshop on Plant Adaptation to Mineral Stress in Problem Soils*, Beltsville, MD, pp. 223-231

Duncan RR (1988) Sequential development of acid soil tolerant sorghum genotypes under field stress conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 19:1295-1305

Duncan RR, Clark RB, Furlani PR (1983) Laboratory and field evaluations of sorghum for response to aluminum and acid soil. *Agronomy Journal* 75:1023-1026

Flores CI, Gourley LM, Pedersen JF, Clark RB (1991) Inheritance of acid-soil tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor*) grown on an ultisol. *In: RJ Wright et al., eds, Plant-Soil Interactions at Low pH*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp 1081-1093

Foy CD, Duncan RR, Waskom RM, Miller DR (1993) Tolerance of sorghum genotypes to an acid, aluminum toxic tatum subsoil. *Journal of Plant Nutrition* 16:97-127

Furlani PR, Bastos CR (1990) Genetic control of aluminum tolerance in sorghum. *In: N El Bassam et al, eds, Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp 215-219

Gale MD, Devos KM (1998) Comparative genetics in the grasses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:1971-1974

Garvin, DF. and BF Carver, 2003 Role of the genotype in tolerance to acidity and aluminum toxicity, pp. 387-406 in *Handbook of Soil Acidity*, edited by Z. Rengel. Marcel Dekker, Inc. New York/Basel.

Gaut BS, d'Ennequin MLeT, Peek AS, Sawkins MC (2000) Maize as a model for the evolution of plant nuclear genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:7008-7015

Gourley LM, Rogers SA, Ruiz-Gomez C, Clark RB (1990) Genetic aspects of aluminum tolerance in sorghum. *Plant and Soil* 123:211-216

Gourley, JG Salinas, Soghum for acid soils, eds, Proceedings of a workshop on evaluating sorghum for tolerance to Al-toxic tropic soils in latin america, INTSORMIL – ICRISAT – CIAT, Cali, Colombia, pp 271-292

Horst WJ, Schmohl N, Kollmeier M, Baluska F, Sivaguru M (1999) Does aluminum affect root growth of maize through interaction with the cell wall – plasma membrane – cytoeskeleton continuum. *Plant and Soil* 215:163-174

Hulbert SH, Richter TE, Axtell JD, Bennetzen JL (1990) Genetic mapping and characterization of sorghum and related crops by means of maize DNA probes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:4251-4255

Kellogg, EA (1998) Relationships of cereal crops and other grasses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:2005-2010.

Magalhães, JV, Garvin DF, Wang Y, Sorrells, ME, Klein, PE, Schaffert, RE, Li, L, Kochian, LV (2004) Comparative Mapping of a Major Aluminum Tolerance Gene in Sorghum and Other Species in the Poaceae. *Genetics*, in press.

Magnavaca R, Gardner CO, Clark RB (1987) Inheritance of aluminum tolerance in maize. *In: HW Gabelman, BC Loughman, eds, Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster, pp 201-212*

Miftahudin, Scoles GJ, Gustafson JP (2002) AFLP markers tightly linked to the aluminum-tolerance gene *Alt3* in rye (*Secale cereale* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 104:626-631

Nguyen VT, Burow MD, Nguyen HT, Le BT, Le TD, Paterson AH (2001) Molecular mapping of genes conferring aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 102:1002-1010

Ninamago-Cárdenas, FE, Guimarães, CT, Martins, PR, Parentoni, SN, Carneiro, NP, Lopes, MA, Moro, JR & Paiva, E (2003) Mapping QTLs for aluminum tolerance in Maize. *Euphytica* 130: 223-232.

Paterson AH, Lin Y-R, Li Z, Schertz KF, Doebley JF, Pinson SRM, Liu S-C, Stansel JW, Irvine JE (1995) Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci. *Science* 269:1714-1718

Riede CR, Anderson JA (1996) Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. *Crop Science* 36:905-909

Ryan PR, Shaff JE, Kochian LV (1992) Aluminum toxicity in roots. Correlation among ionic currents, ion fluxes, and root elongation in aluminum-sensitive and aluminum-tolerant wheat cultivars. *Plant Physiology* 99:1193-1200

Saghai Maroof MA, Yang GP, Biyashev RM, Maughan PJ, Zhang Q (1996) Analysis of the barley and rice genomes by comparative RFLP linkage mapping. *Theoretical and Applied Genetics* 92:541-551

Sibov ST, Gaspar M, Silva MJ, Ottoboni LMM, Arruda P, Souza AP (1999) Two genes control aluminum tolerance in maize: genetic and molecular mapping analysis. *Genome* 42:475-482

Tang Y, Sorrells ME, Kochian LV, Garvin DG (2000) Identification of RFLP markers linked to the barley aluminum tolerance gene *Alp*. *Crop Science* 40:778-782

Van Deynze AE, Nelson JC, Yglesias ES, Harrington SE, Braga DP, McCouch SR, Sorrells ME (1995) Comparative mapping in grasses. Wheat relationships. *Molecular and General Genetics* 248:744-754

von Uexküll, H. R. and E. Mutert, 1995 Global extent, development and economic impact of acid soils, pp. 5-19 in *Plant-Soil Interactions at Low pH: Principles and Management*, edited by Date, R. A.,

Grundon, N. J., Rayment, G. E. and M. E. Probert. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Wu P, Liao CY, Hu B, Yi KK, Jin WZ, Ni JJ, He C (2000) QTLs and epistasis for aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) at different seedling stages. *Theoretical and Applied Genetics* 100:1295-1303



XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 29/08 a 02/09 de 2004 - Cuiabá - Mato C