

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA



TESE DE DOUTORADO

**Caracterização de fatores regulatórios determinantes dos efeitos alélicos do gene de tolerância ao alumínio *SbMATE* em sorgo**

**AUTORA: Janaína de Oliveira Melo**

**ORIENTADOR: Dr. Jurandir Vieira de Magalhães**

**CO-ORIENTADORA: Dra. Cláudia Teixeira Guimarães**

BELO HORIZONTE

Junho/2012

JANAÍNA DE OLIVEIRA MELO

**Caracterização de fatores regulatórios determinantes dos efeitos alélicos do gene de tolerância ao alumínio *SbMATE* em sorgo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Genética.

**Orientador:** Jurandir Vieira de Magalhães

**Co-orientadora:** Cláudia Teixeira Guimarães

BELO HORIZONTE

Junho/2012

Melo, Janaína de Oliveira.

Caracterização de fatores regulatórios determinantes dos efeitos alélicos do gene de tolerância ao alumínio *SbMATE* em sorgo. [manuscrito] / Janaína de Oliveira Melo. – 2012.

122 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Jurandir Vieira de Magalhães. Co-orientadora: Cláudia Teixeira Guimarães.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Biologia Geral.

1. Sorgo – Teses. 2. Alumínio – Toxicologia – Teses. 3. Polimorfismo (Genética) – Teses. 4. Genética – Teses. 5. Genômica – Teses. 6. Proteínas de transporte – Teses. 7. Expressão gênica. 8. Processamento alternativo. I. Magalhães, Jurandir Vieira de. II. Guimarães, Cláudia Teixeira. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Biologia Geral. IV. Título.

CDU: 577.2:575




**Pós-Graduação em Genética**  
**Departamento de Biologia Geral, ICB**  
**Universidade Federal de Minas Gerais**  
Av. Antônio Carlos, 6627 - C.P. 486 - Pampulha - 31270-901 - Belo Horizonte - MG  
e-mail: pg-gen@icb.ufmg.br FAX: (+31) - 3409-2570




**"Caracterização de fatores regulatórios determinantes dos efeitos  
alélicos do gene de tolerância ao alumínio AltSB em sorgo."**


**Janaina de Oliveira Melo**

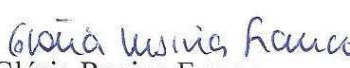
Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

  
Jurandir Vieira de Magalhães - Orientador  
EMBRAPA

  
Cláudia Teixeira Guimarães - Co-Orientadora  
EMBRAPA

  
Eduardo Martin Tarazona Santos  
UFMG

  
Elizabeth Pacheco Batista Fontes  
UFV

  
Glória Regina Franco  
UFMG

  
Marcio de Castro Silva Filho  
USP

Belo Horizonte, 25 de junho de 2012.

Dedico esta tese à minha mãe, Marlene de Oliveira, por todo amor, pelo incentivo durante toda a minha vida acadêmica, pelo apoio e pela força nos momentos mais difíceis, pela presença constante, pelos conselhos valiosos e pelas orações. Por cada passo dado junto comigo na direção que desejava. Divido esta conquista!

## AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-Graduação em Genética e à Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade de formação profissional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Ao Generation Challenge Programme e Fundação Mcknight pelo apoio financeiro.

À Embrapa Milho e Sorgo por proporcionar o desenvolvimento da tese e pela excelente formação profissional e pessoal.

Ao meu orientador Dr. Jurandir Vieira de Magalhães pela orientação, pelos conhecimentos que adquiri, pelo apoio e sugestões.

À minha co-orientadora Dra. Cláudia Teixeira Guimarães por ter me acolhido na Embrapa, por seu incentivo e seus ensinamentos e por ter depositado sua confiança no meu trabalho.

Ao Dr. Robert Eugene Schafertt pela contribuição para o desenvolvimento do trabalho.

Aos professores, Dra. Elizabeth Pacheco Batista Fontes, Dra. Glória Regina Franco, Dr. Eduardo Tarazona Santos e Dr. Marcio de Castro Silva Filho, pelas sugestões, pela gentileza e disponibilidade em compor a minha banca de defesa de tese.

Aos colegas de curso da Pós-Graduação, especialmente minha amiga Izinara, pelo apoio e pela amizade. A Mary pelo auxílio e pela atenção.

Aos funcionários da Embrapa, especialmente, Ednilson, Alex e Edmar pelo valioso auxílio nos experimentos de campo e pelos ensinamentos. A Gislene pela valiosíssima ajuda e pela amizade.

Aos funcionários do NBA da Embrapa pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho e pela amizade, em especial, Célio, Miguel, Marília, Fabiane, Beatriz, Meire e Ilma.

Aos pesquisadores do NBA da Embrapa, especialmente, Dra. Eliane Gomes.

Aos amigos da Embrapa e do NBA: Luciana, Laiane, Lucas, Marina, Karine, Crísia, Carlos, Christiano, Renato, Karla e Renan. E a todos com quem convivi durante o doutorado.

Aos amigos do NBA que estiveram ao meu lado, incentivaram e contribuíram com o trabalho: Bárbara, Gabriel e Belkiss.

Ao amigo Ubiraci pela valiosa ajuda na condução dos experimentos, pelas sugestões, pelo incentivo e pela amizade.

Aos meus pais Eustáchio e Marlene. Aos meus irmãos, Ives e Ícaro, pelo companheirismo, pelo carinho, pelos momentos de descontração e por todo o incentivo.

A todos os meus familiares por serem fundamentais na minha vida.

Ao meu namorado Joviano, pelo carinho, pela compreensão, pela força e por todo o incentivo.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Acima de tudo, agradeço a Deus por caminhar comigo, por ser a minha força e esperança.  
Nos momentos difíceis ter estado comigo e nas vitórias, vencido por mim.

*“Eleva o olhar racional, usa os olhos como homem, contempla o céu e a terra, os ornamentos do céu, a fecundidade da terra, o voar das aves, o nadar dos peixes, a força das sementes, a sucessão das estações. Considera bem os seres criados e busca o seu Criador. Presta atenção no que vês e procura o que não vês. Crê naquele que não vês, por causa da realidade que vês”.*

Santo Agostinho



# SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS .....	xiii
RESUMO .....	16
ABSTRACT .....	18
DELINEAMENTO DA TESE .....	20
INTRODUÇÃO GERAL.....	21
Referências bibliográficas .....	25
OBJETIVOS .....	29
Objetivo Geral .....	29
Objetivos Específicos .....	29
CAPÍTULO 1.....	30
Genetic and molecular mechanisms of aluminum tolerance in plants .....	30
Abstract.....	30
Introduction .....	31
Mechanisms of aluminum tolerance .....	31
Aluminum tolerance genes .....	32
The <i>ALMT</i> family.....	32
The <i>MATE</i> family .....	33
ATP-binding cassette (ABC) transporter family .....	33
<i>Nramp</i> family .....	34
Regulation of aluminum tolerance gene expression .....	35
Conclusion .....	36
Acknowledgements .....	37
References.....	38
CAPÍTULO 2.....	43

Incomplete transfer of accessory loci controlling <i>SbMATE</i> expression underlies genetic background effects for aluminum tolerance in sorghum .....	43
Summary.....	43
Introduction .....	45
Results .....	47
Physiological characterization of Al tolerance .....	47
Phenotypic characterization of Al tolerance in parents and derived NILs .....	47
Analysis of <i>SbMATE</i> expression .....	48
Genomic structure and haplotype variation for <i>SbMATE</i> .....	48
Alternative splicing of <i>SbMATE</i> .....	49
Expression analysis of <i>SbMATE</i> spliced variants.....	50
Discussion.....	52
Experimental Procedures .....	56
Plant Materials .....	56
Determination of root citrate exudation in sorghum lines.....	56
Hydroponic analysis of aluminum tolerance .....	56
Analysis of <i>SbMATE</i> expression in sorghum lines and NILs .....	57
Analysis of genomic structure of <i>SbMATE</i> .....	58
Functional characterization of <i>SbMATE</i> and <i>SbMATE</i> L261H in <i>Xenopus</i> oocytes .....	58
Alternative splicing of <i>SbMATE</i> .....	59
Acknowledgements .....	60
References.....	61
Figures .....	67
Supporting information .....	77
CAPÍTULO 3.....	79
Caracterização do controle da expressão do gene <i>SbMATE</i> em <i>cis</i> e/ou <i>trans</i> por meio de ensaios de expressão alelo-específica .....	79
1. Introdução .....	79
2. Materiais e Métodos.....	83

2.1.	Material genético.....	83
2.2.	Análise da expressão conjunta dos dois alelos do gene <i>SbMATE</i> nos híbridos .	85
2.3.	Desenvolvimento do ensaio de expressão alelo-específica do gene <i>SbMATE</i> ...	87
2.3.1.	Desenho dos <i>primers</i> e sondas.....	87
2.3.2.	Quantificação do sinal inespecífico .....	88
2.3.3.	Otimização do ensaio de expressão alelo-específica utilizando o método $\Delta\Delta C_T$ .....	89
2.3.4.	Validação dos resultados obtidos com o método $\Delta\Delta C_T$ utilizando-se o método da curva padrão relativa. ....	89
2.4.	Estimativa do modo de ação gênica para <i>SbMATE</i> .....	90
2.5.	Análise da expressão do gene <i>STOP1</i> .....	91
3.	Resultados .....	93
3.1.	Confirmação molecular dos híbridos .....	93
3.2.	Otimização do ensaio de expressão alelo-específica .....	94
3.3.	Análise da expressão conjunta dos dois alelos do gene <i>SbMATE</i> nos híbridos .	95
3.4.	Estimativa do modo de ação do gene <i>SbMATE</i> .....	99
3.5.	Ensaio de expressão alelo-específica do gene <i>SbMATE</i> .....	100
3.6.	Análise da expressão do gene <i>STOP1</i> .....	106
4.	Discussão .....	108
5.	Conclusão .....	112
6.	Referências bibliográficas .....	113
7.	Anexo.....	118
CONCLUSÃO GERAL E PERSPECTIVAS FUTURAS .....		120
Referências bilbiográficas .....		122

# LISTA DE FIGURAS

## CAPÍTULO 2

<b>Figure 1.</b> Root citrate exudation.....	67
<b>Figure 2.</b> Aluminum tolerance in sorghum lines and respective near-isogenic lines (NILs) for <i>Alt<sub>SB</sub></i> .....	68
<b>Figure 3.</b> Expression analysis of <i>SbMATE</i> .....	69
<b>Figure 4.</b> <i>SbMATE</i> haplotypes in 13 sorghum lines showing differential tolerance to Al.....	70
<b>Figure 5.</b> Electrophysiologically-determined transport properties for wild type <i>SbMATE</i> (with Leu at position 261) and <i>SbMATE</i> L261H (with His substitution at position 261) via expression in <i>X. laevis</i> oocytes using two-electrode voltage clamp (TEVC).....	72
<b>Figure 6.</b> Alternative splicing of <i>SbMATE</i> .....	74
<b>Figure 7.</b> Expression analysis of alternative transcripts of <i>SbMATE</i> .....	76
<b>Figure S1.</b> Alternative splicing events of <i>SbMATE</i> as determined with RNA-seq.....	77
<b>Figure S2.</b> Expression analysis of the alternative transcript for <i>SbMATE</i> retaining intron 1.....	78

## CAPÍTULO 3

<b>Figura 1.</b> Esquema da obtenção dos estoques híbridos.....	85
<b>Figura 2.</b> Representação esquemática da ação gênica dada pelo grau de dominância, d/a.....	91

<b>Figura 3.</b> Eletroferogramas do fragmento que contém o SNP A/T do primeiro exon do gene <i>SbMATE</i> .....	93
<b>Figura 4.</b> Genotipagem dos híbridos por ARMS-PCR.....	94
<b>Figura 5.</b> Testes com o ensaio de expressão alelo-específica do gene <i>SbMATE</i> .....	95
<b>Figura 6.</b> Análise da expressão conjunta de <i>SbMATE</i> nos híbridos gerados pelo cruzamento da linhagem SC566 com as linhagens sensíveis BR012 (a), IS8577 (b) e BR007 (c).....	97
<b>Figura 7.</b> Análise da expressão conjunta de <i>SbMATE</i> nos híbridos gerados pelo cruzamento da linhagem tolerante SC283 com a linhagem SC566 e com a semi-isogênica ISO-SC566.....	98
<b>Figura 8.</b> Ensaio de expressão alelo-específica do gene <i>SbMATE</i> nos híbridos gerados pelo cruzamento da linhagem SC566 e a semi-isogênica ISO-SC566 com as linhagens sensíveis BR012 (a), IS8577 (b) e BR007 (c) e as semi-isogênicas derivadas.....	102
<b>Figura 9.</b> Análise da expressão alelo-específica de <i>SbMATE</i> no híbrido gerado pelo cruzamento entre a linhagem tolerante SC283 e a linhagem SC566 e entre a semi-isogênica ISO-SC283 e a semi-isogênica ISO-SC566.....	103
<b>Figura 10.</b> Análise da expressão do gene <i>SbSTOP1</i> em linhagens e linhagens semi-isogênicas.....	106
<b>Anexo.</b> Otimização do ensaio de expressão alelo-específica do gene <i>SbMATE</i> .....	118

# LISTA DE TABELAS

## CAPÍTULO 3

<b>Tabela 1.</b> Sequências dos <i>primers</i> e sondas utilizadas nos ensaios de expressão alelo-específica.....	87
<b>Tabela 2.</b> Estimativa do modo de ação gênica de <i>SbMATE</i> .....	100
<b>Tabela 3.</b> Análise da expressão alelo-específica dos híbridos utilizando o método da curva padrão relativa.....	105

## LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grau centigrade
µg	Micrograma
µM	Micromolar
3D	Estrutura tridimensional
A	Adenina
a	Efeito aditivo
aa	Amino ácido
ABC	<i>ATP binding cassette</i>
Al <sup>3+</sup> ou Al	Alumínio
ALMT1	<i>Al<sup>3+</sup>-activated malate transporter 1</i>
ALS	<i>Aluminum sensitive</i>
<i>Alt2</i>	Loco de tolerância ao Al em trigo
<i>Alt<sub>BH</sub></i>	Loco de tolerância ao Al em trigo
<i>Alt<sub>SB</sub></i>	Loco de tolerância ao Al em sorgo
ARMS-PCR	<i>Amplification Refractory Mutation System-PCR</i>
ART1	<i>Al resistance transcription factor 1</i>
BC	<i>Backcross</i> (retrocruzamento)
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
bp	<i>Base pairs</i> (pares de base)
Ca <sup>2+</sup>	Íons Cálcio
cDNA	<i>Complementary desoxyribonucleic acid</i> (DNA complementar)
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
C <sub>T</sub>	<i>Threshold cycle</i>
d	Efeito da dominância
d/a	Grau de dominância
DMSO	<i>Dimethyl sulfoxide</i>
DNA	<i>Desoxyribonucleic acid</i> (ácido desoxirribonucleico)
dNTP	<i>Desoxi nucleotide trifosfato</i>
E	Eficiência da reação de PCR em tempo real
eQTL	<i>Expression quantitative trait loci</i> (expressão do loco de característica quantitativa)
EST	<i>Expressed sequence tag</i>
F	<i>Forward primer</i>
FAM	Tipo de marcação fluorescente utilizada na sonda TaqMan

FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
<i>flAl</i>	<i>Final root lengths under Al treatment</i> (comprimento final da raiz após o tratamento com alumínio)
<i>flc</i>	<i>Final root lengths in control solution</i> (comprimento final da raiz em solução controle sem alumínio)
GCP	<i>Generation Challenge Programme</i>
g-DNA	<i>Genomic desoxyribonucleic acid</i> (DNA genômico)
GFP	<i>Green Fluorescent Protein</i>
h	Horas
H <sup>+</sup>	Íons Hidrogênio
His	Histidina
IGD	<i>Institute for Genomic Diversity</i>
<i>ilc</i>	<i>initial root length in control solution</i> (comprimento inicial da raiz em solução controle sem alumínio)
Indel	Inserção/Deleção
ISO	Linhagem semi-isogênica
K <sup>+</sup>	Íons Potássio
kpb	Kilo pares de base
L	Litro
Leu	Leucina
log	Logaritmo
m/v	Massa/volume
MATE	<i>Multidrug and toxic compound extrusion family</i>
Mg <sup>2+</sup>	Íons Magnésio
MGB	Tipo de corante da sonda TaqMan
min.	Minuto
MITE	<i>Miniature Inverted Transposable Element</i>
mL	Mililitro
mM	Milimolar
Na <sup>+</sup>	Íons Sódio
NILs	<i>Near Isogenic Lines</i> (linhagens semi-isogênicas)
NMD	<i>Nonsense-mediated RNA decay</i>
Nramp	<i>Natural resistance-associated macrophage protein</i>
<i>Nrat1</i>	<i>Nramp aluminum transporter 1</i>
ORF	<i>Open Read Frame</i> (quadro de leitura aberta)
PCR	<i>Polimerase chain reaction</i> (reação em cadeia da polimerase)



pH	Potencial Hidrogeniônico
QTL	<i>Quantitative trait loci</i> (loco de característica quantitativa)
r	Coeficiente de correlação
R	<i>Reverse primer</i> (primer reverso)
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> (ácido ribonucleico)
RNA-seq	<i>Ultra high-throughput RNA sequencing</i>
RNRG	<i>Relative Net Root Growth</i> (crescimento relativo da raiz)
RQ	<i>Relative quantification</i> (quantificação relativa)
RT-PCR	<i>Reverse transcription- Polimerase chain reaction</i> (transcrição reversa – reação em cadeia da polimerase)
sec	Segundos
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (polimorfismo de nucleotídeo único)
SSR	<i>Single Sequence Repeat</i> (repetição de sequência simples)
STAR	<i>Sensitive to aluminum rhizotoxicity</i>
STOP1	<i>Sensitive to proton rhizotoxicity 1</i>
SYBR	Sistema para PCR em tempo real que utiliza corante que se liga a DNA dupla fita.
T	Timina
TAMRA	Tipo de corante da sonda TaqMan
TaqMan	Sistema para PCR em tempo real que utiliza sonda fluorescente
<i>tb1</i>	<i>teosinte branched 1</i>
TEVC	Two-electrode voltage clamp
TM	<i>Transmembrane</i> (transmembrana)
U	Unidade enzimática
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
USDA	<i>Robert Holley Center for Agriculture and Health</i>
UTR	<i>Untranslated region</i> (região não traduzida)
<i>Vgt1</i>	<i>Vegetative to generative transition 1</i>
$\Delta C_T$	$C_T$ do gene alvo subtraído do gene endógeno
$\Delta\Delta C_T$	Método $C_T$ comparative: $\Delta C_T$ do gene alvo subtraído do $\Delta C_T$ do calibrador
pmols	Picomols

## RESUMO

A toxidez causada pelo alumínio (Al) é um dos fatores mais limitantes à produtividade agrícola em solos ácidos. A tolerância ao Al em sorgo é conferida pelo gene *SbMATE*, que reside no loco *Alt<sub>SB</sub>* mapeado no cromossomo 3. *SbMATE* codifica um transportador de citrato ativado por Al. Em trabalhos prévios, foram encontrados polimorfismos no promotor e nos introns do gene *SbMATE* sugerindo a natureza regulatória das mutações causativas. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo principal caracterizar o modo de atuação, em *cis* e/ou em *trans*, dos fatores regulatórios que afetam a expressão do gene *SbMATE* em sorgo. Linhagens semi-isogênicas (*near isogenic lines*, NILs) foram geradas a partir da introgressão do loco *Alt<sub>SB</sub>* de linhagens apresentando diferentes níveis de tolerância no *background* genético da linhagem BR012, sensível ao Al. Uma redução da tolerância ao Al e da expressão do gene *SbMATE* foi verificada nas linhagens semi-isogênicas em relação às linhagens parentais, indicando a importância de fatores regulatórios agindo em *trans*. Além disso, a variabilidade alélica observada nas NILs indicou a regulação também em *cis*. Neste trabalho também foi verificada a ocorrência de diferentes formas de *splicing* alternativo do gene *SbMATE* que apresentaram indução por Al e pelo tempo de exposição ao metal nas linhagens tolerantes. A sequência do gene *SbMATE* de diferentes linhagens de sorgo foi caracterizada e os resultados revelaram o monomorfismo da região codificadora nas linhagens estudadas. Entretanto, no primeiro exon do gene *SbMATE* da linhagem SC566, que apresenta alta tolerância ao Al e expressão de *SbMATE*, foi identificado um SNP. Genótipos híbridos foram gerados entre a linhagem SC566 e linhagens diferindo no nível de tolerância ao Al, e entre a linhagem semi-isogênica ISO-SC566 e diferentes linhagens semi-isogênicas. Grande plasticidade no modo de ação gênica foi observado analisando-se a expressão conjunta dos dois alelos de *SbMATE* nos híbridos analisados, incluindo efeito de sobredominância. O SNP identificado em SC566 foi utilizado para o desenvolvimento de um ensaio de expressão alelo-específica com a finalidade de monitorar, de forma concomitante, a expressão dos alelos do gene *SbMATE* nos híbridos. A expressão do alelo proveniente dos parentais sensíveis foi induzida nos híbridos, resultando em complementação do fenótipo de baixa expressão observada nas linhagens sensíveis. Diferindo desse resultado, uma redução da expressão do alelo sensível foi verificada nos híbridos derivados do cruzamento entre linhagens semi-isogênicas, nos quais somente o loco *Alt<sub>SB</sub>* encontra-se em heterozigose, sendo o restante do genoma pertencente a linhagem BR012. Assim, esses resultados sugeriram que a linhagem SC566 possui transfatores, localizados fora do loco *Alt<sub>SB</sub>*, que podem aumentar a expressão do alelo sensível. Os resultados são também compatíveis com um efeito de sobredominância causado pela indução de alelos sensíveis por transfatores doados por SC566. Os resultados gerados neste trabalho contribuirão para

a formulação de estratégias avançadas de melhoramento molecular da tolerância ao Al em sorgo.

**Palavras-chave:** sorgo, tolerância ao alumínio, expressão gênica alelo-específica, fatores regulatórios, proteínas MATE (*multidrug and toxic compound extrusion*), *splicing* alternativo.

## ABSTRACT

Aluminum (Al) toxicity is one of the major factors limiting crop yield on acid soils. Al tolerance in sorghum is conferred by the *Alt<sub>SB</sub>* locus, which is located on chromosome 3. Within *Alt<sub>SB</sub>*, *SbMATE* encodes an Al-activated citrate transporter that underlies Al tolerance. Polymorphisms were previously found in the promoter and within introns, suggesting that causative mutations associated with Al tolerance are mainly regulatory in nature. Thus, the aim of the present study was to characterize the mode of action of regulatory effects, whether acting in *cis* and/or *trans* to modulate the expression of sorghum *SbMATE*. Near isogenic lines (NILs) were generated by introgressing the *Alt<sub>SB</sub>* locus from donors showing different levels of Al tolerance into the background of BR012, an Al sensitive line. A reduction in both Al tolerance and *SbMATE* expression was observed in the NILs when compared with the respective parental lines, indicating the importance of *trans*-acting factors. In addition, the extensive allelic variability observed in NILs for Al tolerance indicated a role also for *cis*-acting factors. This work has also uncovered the occurrence of alternative splicing of *SbMATE*. The different isoforms were induced by Al treatment with expression increasing as the time of exposure to the metal progressed, particularly in tolerant lines. The *SbMATE* sequence of different sorghum lines was characterized and the coding region was in general identical between lines. However, a single SNP was identified in the first exon of SC566, a highly tolerant line. Hybrids between SC566 and lines differing to their degree of Al tolerance and *SbMATE* expression were generated. In addition, a NIL harboring the SC566 allele was crossed to other NILs on the same background. Extensive plasticity in mode of gene action was observed from the global expression analysis of both *SbMATE* alleles in the hybrids, including the detection of overdominance. The SNP identified in SC566 was used to develop an allele-specific expression assay in order to analyze, simultaneously, the expression of each *SbMATE* allele in hybrid stocks. The expression of the allele coming from the Al sensitive parent was induced in the hybrids, complementing the low level of expression present in the Al sensitive parents. However, a reduction in expression of the Al sensitive allele was observed in hybrid stocks between the SC566-NIL and other NILs. In these stocks, only the *Alt<sub>SB</sub>* locus was heterozygous with the rest of the genome belonging to the Al sensitive line, BR012. These results suggest that SC566 harbors *trans*-acting factors located out of the *Alt<sub>SB</sub>* locus, which can complement the low expression phenotype observed in alleles derived from Al sensitive lines. The results are also compatible with overdominance being caused by induction in expression of the Al sensitive alleles caused by *trans*-acting factors donated by SC566. The results generated here will contribute to the formulation of advanced strategies of molecular breeding of Al tolerance in sorghum.

**Keywords:** sorghum, aluminum tolerance, allele-specific expression assay, multidrug and toxic compound extrusion family, regulatory factors, alternative splicing.