



VERA M. C. ALVES, CHRISTIANE A. DE OLIVEIRA, GILSON V. E. PITTA,
ROBERT E. SCHAFFERT e JURANDIR V. DE MAGALHÃES

Embrapa Milho e Sorgo. Caixa Postal 151, CEP 35.701-970, Sete Lagoas, MG. E-mail: vera@cnpms.embrapa.br

INTRODUÇÃO

Dentre os fatores que restringem o crescimento de plantas em solos ácidos, a toxidez de alumínio (Al) é um dos mais limitantes. Além de ser um metal encontrado em grande quantidade no solo, a química do Al é bastante complexa. Sua especiação é afetada pelo pH, constante iônica, e a natureza e concentração de ligantes orgânicos e inorgânicos presentes na fase sólida do solo (Ritchie, 1989).

As plantas respondem a toxidez mineral e a deficiências minerais tanto com mudanças morfológicas quanto fisiológicas e bioquímicas. Breckle (1991) observou que o crescimento e iniciação de raízes laterais secundárias e terciárias é estimulado por metais pesados como o Al, enquanto a raiz principal e raízes secundárias primárias (raízes seminal e basal) têm seu crescimento suprimido. As raízes geralmente respondem a estresses minerais tornando-se mais grossas e reduzindo sua taxa de crescimento (Kafkafi, 1991).

O primeiro sintoma de toxidez de Al é a inibição da elongação da raiz, que ocorre cerca de 1 a 2 h após à exposição ao mesmo (Kochian, 1995). Dados experimentais indicam que o ápice radicular é o sítio primário de indução da inibição do crescimento causada pelo Al. O ápice radicular acumula mais Al e sofre maior dano físico que os tecidos maduros da raiz (Ryan et al., 1995).

O Brasil foi o país pioneiro em melhoramento de plantas para adaptação a solos ácidos (principalmente toxidez de alumínio e manganês), e hoje existem programas ativos de melhoramento para essas condições em diversas culturas. A primeira etapa para o estabelecimento de um programa de melhoramento para tolerância a Al é o desenvolvimento de metodologias de seleção que permitam discriminar graduações fenotípicas de tolerância e sensibilidade em um conjunto de genótipos. Além disso, os fenótipos avaliados devem ser pouco influenciados por efeitos ambientais, devendo refletir, de maneira tão fidedigna quanto possível, variações alélicas de interesse agrônomo. Finalmente, essas metodologias devem gerar fenótipos reprodutíveis e em escala elevada, para que sejam adequadas ao grande número de genótipos avaliados nos programas de melhoramento.

Nas metodologias que utilizam solução nutritiva, as características mais comumente avaliadas são o comprimento de raiz seminal, produção de calose e coloração das raízes com hematoxilina. Diversos trabalhos demonstram que a síntese de calose está diretamente correlacionada com a concentração interna de alumínio e negativamente correlacionada com a alongação de raízes (Horst et al., 1997; Massot et al., 1999). Kaneko et al. (1999) observaram produção de calose em cevada após 50 min de tratamento com 37 μM de Al. Ao mesmo tempo verificaram que o crescimento da raiz foi completamente paralisado. Boa correlação entre o método de coloração com hematoxilina e a alongação de raízes também tem sido observada (Cançado et al., 1999; Pal et al., 1999), embora a primeira tenha a desvantagem de ser um método qualitativo. Devido à maior facilidade experimental para a obtenção da característica, o comprimento de raiz seminal tem sido mais utilizado.

Em solução nutritiva a seleção é feita exclusivamente para tolerância ao Al, pois todos os outros fatores estão sob controle. No campo, ao contrário, a seleção é feita para solos ácidos e não apenas para tolerância ao Al. Isso porque, para que possamos obter um alto nível de saturação de Al, os níveis de P, cálcio e magnésio devem estar baixos. Além disso, devido ao baixo pH, a toxidez de outros elementos, como por exemplo o manganês também pode ocorrer. Assim, no campo, se faz seleção para todo um complexo ligado a solos ácidos e não apenas para o fator Al. Pode se concluir que a técnica de solução nutritiva é adequada para estudos básicos de mecanismos para tolerância ao Al, estudos sobre herança, estudos de seleção exclusivamente para Al e também para se descartar o terço inferior de materiais avaliados em programas de melhoramento, reduzindo o número de materiais a serem avaliados em condições de campo. A seleção no campo deve ser utilizada para avaliações em programas de melhoramento, mas nunca para se selecionar materiais para estudos básicos sobre tolerância a Al.

A metodologia de avaliação em solução nutritiva em uso na Embrapa Milho e Sorgo foi adaptada a partir das metodologias desenvolvidas por Furlani & Clark (1981) e Magnavaca (1982). Embora apresente excelentes resultados, esta metodologia tem a desvantagem de ocupar grande espaço físico e utilizar grandes volumes de solução nutritiva.

O objetivo deste trabalho foi o de adaptar uma metodologia de seleção para tolerância a alumínio em sorgo, que reduza o espaço e o volume de solução nutritiva utilizados, sem comprometer a qualidade da avaliação, aumentando, por conseguinte, o número de materiais testados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas quatro linhagens de sorgo, provenientes do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, previamente classificadas quanto a tolerância ao Al (SC283, CMSXS225 e SC549 – tolerantes e BR007 – sensível). Após desinfecção das sementes com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por 15 min, as mesmas foram lavadas com água destilada e colocadas para germinar em rolos de papel toalha parcialmente imersos em água destilada por 4 dias. Após esse período, as plântulas de cada linhagem foram transferidas para pastas do tipo arquivo suspenso (32,0cm de comprimento x 24,5 cm de altura) confeccionadas em plástico transparente, e forradas em ambos os lados com papel de germinação umedecido com solução nutritiva de Clark, modificada por Magnavaca (1982), pH 4,0. As plântulas foram fixadas por tiras de papel de 40 cm de comprimento por 6 cm de largura, confeccionadas com papel de germinação. As pastas suspensas foram colocadas em caixas plásticas de 40,5 cm de comprimento por 35,0 cm de largura e 25,5 cm de altura, contendo 10 L da mesma solução nutritiva. Após 24 horas a solução foi substituída, adicionando-se quatro doses de Al (0, 148, 296 e 444 μM de Al). As pastas foram imersas em 40 L da mesma solução, porém contendo as doses de Al, por 30 min. Findo este período, a solução foi renovada, permanecendo apenas 10 L por recipiente. Este procedimento é necessário para que as raízes das linhagens entrem em contato com o Al ao mesmo tempo, independentemente do seu tamanho inicial. Imediatamente antes do início dos tratamentos com Al, as raízes seminais das plântulas foram desenhadas do lado externo das pastas com caneta apropriada, utilizando-se como molde as próprias raízes que eram visíveis na superfície externa devido a transparência das pastas plásticas. Após 24, 48 e 72 horas, as raízes seminais foram novamente desenhadas, utilizando-se cores diferentes para cada um desses períodos. O experimento foi então finalizado, procedendo-se a medição de cada segmento de raiz. O experimento foi composto por um fatorial 2 x 4 (duas doses de Al e quatro linhagens), sendo os tratamentos distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Cada repetição foi composta por dez plantas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em sorgo, foi testado o padrão internacional de tolerância SC 283 pela metodologia de pastas suspensas, além de duas outras linhagens tolerantes CMSXS 225 e SC 549, e a linhagem BR 007, sensível ao Al. A metodologia de pastas produziu padrão de tolerância e sensibilidade consistente com aquele obtido em solução nutritiva, para as quatro linhagens de sorgo (Figura 1). Assim sendo, a linhagem BR 007, padrão de sensibilidade ao Al, foi aquela que sofreu a maior inibição de crescimento do sistema radicular dentre as linhagens estudadas, em todos os níveis de Al. A discriminação fenotípica foi mais evidente aos dois dias de exposição a 296 μM de Al, ou aos 3 dias de exposição a 148 e 296 μM de Al. A dose de 444 μM de Al causou toxidez mesmo nos genótipos tolerantes, não devendo, portanto, ser utilizada. Observou-se a necessidade de maiores doses de Al para discriminação fenotípica no sistema de pastas em comparação com a técnica tradicional em solução nutritiva.

A metodologia de pastas suspensas apresenta vantagens significativas em relação à metodologia tradicional, como: a) menor gasto de solução nutritiva; b) menor espaço físico ocupado com os recipientes; c) maior facilidade e agilidade para obtenção da medida do crescimento radicular; d) os desenhos das raízes seminais nas pastas podem ser guardados antes de serem apagados com álcool, o que permite programar a medição dos mesmos e a reavaliação em caso de dúvidas; e) a metodologia de pastas não necessita de aeração, pois apenas cerca dos 3 cm finais das pastas ficam submersos em solução nutritiva; f) maior número de genótipos pode ser avaliado num mesmo experimento. Por outro lado, a marcação do sistema radicular deve ser feita com delicadeza, cuidando-se para que a raiz seminal não seja macerada. Esse sistema presta-se, particularmente, a trabalhos em escala elevada, onde há necessidade de avaliar-se um grande número de amostras como em programas de melhoramento.

LITERATURA CITADA

BRECKLE, A. W. Growth under stress: heavy metals. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. **Plant roots: the hidden half**. New York, Marcel Dekker,. p. 351-374, 1991.

CANÇADO, G. M. A., LOGUERCIO, L. L., MARTINS, P. R., PARENTONI, S. N., PAIVA, E., BOREM, A., LOPES, M. A. Hematoxylin staining as a phenotypic index for aluminum tolerance selection in tropical maize (*Zea mays*, L.). **Theoretical Applied Genetics**, 99 (5):747-754, 1999.

FURLANI, P. R., CLARK, R. B. Screening sorghum for aluminum tolerance in nutrient solution. **Agron. J.**, 73:587-594, 1981.

HORST, W. J., PUSCHEL, A. K., SCHMOHL, N. Induction of callose formation is a sensitive marker for genotypic aluminum sensitivity in maize. In: Moniz; A.C.; Furlani, A.M.C.; Schaffert, R.E.; Fageria, N.K.; Rosolem, C.A. & Cantarella, H. (eds). **Plant Soil interactions at low pH: Sustainable Agriculture and Forest Production**. Campinas/Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo,. P. 23-30, 1997.

KAFKAFI, U. Root growth under stress: salinity. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. **Plant roots: the hidden half**. New York, Marcel Dekker,. p. 375-392, 1991.

KANEKO, M., YOSHIMURA, E., NISHIZAWA, N. K., MORI, S. Time course study of aluminum – induced callose formation in barley roots as observed by digital microscopy and low – vacuum scanning microscopy. **Soil Science Plant Nutrition**, 45 (3): 701-712, 1999.

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

MAGNAVACA, R. Genetic variability and the inheritance of aluminum tolerance in maize (*Zea mays* L.). Lincoln/Nebraska, s.ed., 1982. (tese de PhD).

MASSOT, N., LLUGANY, M., POSCHENRIEDER, C., BARCELÓ, J. Callose production as indicator of aluminum toxicity in bean cultivars. **J. Plant Nutrition**, 22 (1):1-10, 1999.

PAL, K. K., RINKU, D., DEY, R. A simple, rapid, and nondestructive method for screening aluminum tolerance in groundnut. **International Arachis Newsletter**, 19:44-46, 1999.

RYAN, P. R., DELHAIZE, E., RANDALL, P. J. Characterization of Al-stimulated efflux of malate from the apices of Al-tolerant wheat roots. **Planta**, 196:103-110, 1995.

RITCHIE, G. S. P. The chemical behavior of aluminium, hydrogen and manganese in acid soils. In: ROBSON, A.D. **Soil acidity and plant growth**. Sidney, Academic Press, p. 1-60, 1989.



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