

Metodologia de Seleção de Genótipos de Milho Quanto à Tolerância de Alumínio em Solução Nutritiva.

XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 01 a 05 de setembro de 2002 - Florianópolis - SC

ALVES, V.M. C.¹, PAIVA, C.A.O.², PITTA, G.V.E¹, PARENTONI, S.N.¹

¹Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, 35.701-970, Sete Lagoas, MG, ²Bolsista Embrapa/Comissão Européia, e-mail: vera@cnpms.embrapa.br

Palavras-chave: metodologias de seleção, adaptação a solos ácidos, *Zea mays*, crescimento radicular

Introdução

A primeira etapa para o estabelecimento de um programa de melhoramento para tolerância a alumínio é o desenvolvimento de metodologias de seleção que permitam discriminar os materiais tolerantes dos sensíveis.

Nas metodologias que utilizam solução nutritiva, as características mais comumente avaliadas são o comprimento de raiz, 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 elongação de raízes (Horst et al., 1997; Massot et al., 1999). Kaneko et al. (1999) trabalhando com cevada observaram produção de calose após 50 min de tratamento com 37 μ M de Al. Ao mesmo tempo verificaram que o crescimento da raiz paralisou completamente. Boa correlação entre o método de coloração com hematoxilina e a elongação 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 de obtenção da característica, o comprimento de raiz tem sido mais utilizado.

A metodologia de avaliação em solução nutritiva em uso na Embrapa Milho e Sorgo foi adaptada 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 alto volume de solução nutritiva.

O objetivo deste trabalho foi o de adaptar uma metodologia de seleção para tolerância a alumínio em milho, 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

Para se atingir os objetivos propostos foram conduzidos três experimentos em solução nutritiva.

Experimento 1.

Foram utilizadas duas linhagens de milho, previamente caracterizadas quanto à tolerância ao alumínio (linhagem 1, tolerante ao Al e linhagem 5, sensível ao Al) e

cinco doses de Al. Após desinfecção das sementes com solução de hipoclorito de sódio a 5% de concentração, por 15 min, as mesmas foram lavadas com água destilada e colocadas para germinar em rolos de papel toalha, parcialmente imersos em água destilada, durante 4 dias. Após esse período, as plântulas de cada linhagem foram transferidas para pastas, tipo arquivo suspenso (32,0cm de comprimento 24,5 cm de altura), confeccionadas em plástico transparente, 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 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 10,0 L da mesma solução nutritiva. Após 24 horas, a solução foi substituída, adicionando-se as cinco doses de Al (0, 222, 444, 666 e 888 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 8 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 do tratamento com Al, as raízes seminais das plântulas foram desenhadas do lado externo das pastas com caneta apropriada. Após 24, 48 e 72 horas, as raízes seminais foram novamente desenhadas, utilizando-se cores diferentes para cada tempo. O experimento foi então finalizado, procedendo-se a medição de cada segmento de raiz. O experimento foi composto por um fatorial 2 x 5 (duas linhagens e cinco doses de Al), sendo os tratamentos distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Cada repetição foi composta por sete plantas.

Experimento 2.

Foram utilizadas cinco linhagens de milho, previamente caracterizadas quanto à tolerância ao alumínio (linhagens 1,2,3,e 4, tolerantes ao Al e linhagem 5, sensível ao Al) e duas doses de Al. O experimento foi conduzido de maneira semelhante ao anterior, diferindo apenas quanto às doses de Al (0 e 666 μM de Al) e quanto ao tempo de imersão em 40 L de solução (1 h). O experimento foi composto por um fatorial 5 x 2 (cinco linhagens e duas doses de Al), distribuído em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Cada repetição foi composta por sete plantas.

Experimento 3.

Foram utilizadas as mesmas linhagens de milho do experimento 2. Após desinfecção e germinação das sementes de maneira idêntica à anterior, sete plântulas de cada linhagem foram transferidas, para seis bandejas plásticas contendo 8,5 litros de solução nutritiva de Clark, adaptada por Magnavaca (1982), pH 4.0. Decorridas 24 horas, a solução nutritiva foi substituída por outra, de constituição idêntica, contendo 0 ou 222 μM de Al, na forma de $\text{Al}_2\text{K}(\text{SO}_4)$. O comprimento da raiz seminal foi avaliado imediatamente antes da troca de solução nutritiva e após 24, 48 e 72 horas de tratamento. O experimento foi composto por um fatorial 5 x 2 (cinco linhagens e duas doses de Al), distribuído em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Cada repetição foi composta por sete plantas.

Resultados e Discussão

O primeiro experimento, foi conduzido com o objetivo de se determinar a dose de Al que possibilitasse a melhor distinção entre a linhagem tolerante e a linhagem sensível. Foi possível discriminar a linhagem tolerante (L1) da sensível (L5), a partir de 24 horas de exposição à dose de 888 μM de Al e a partir de 48 horas de exposição a 666 μM de Al (Figura 1). Com base nestes resultados, elegeu-se a dose de 666 μM de Al para a condução do segundo experimento, com cinco linhagens. A redução do crescimento da raiz seminal na linhagem sensível L5, foi superior à redução no crescimento radicular das linhagens tolerantes L1 a L4, em todos os três tempos de exposição avaliados (Figura 2). Entretanto, quando se compara os resultados obtidos pela metodologia de pastas suspensas com aqueles obtidos pela metodologia tradicional (Figura 3), observa-se que a redução no crescimento da raiz seminal da L 5 foi inferior no experimento de pastas suspensas em todos os tempos (27,5, 34,4 e 60,0% de redução em relação a 38,5, 63,0 e 75,5%, respectivamente). Assim, embora tenha sido possível a discriminação entre os genótipos tolerantes e os sensíveis na dose de 666 μM de Al, esta só foi mais efetiva após 72 horas de tratamento. Para se utilizar um tempo mais curto de avaliação e para discriminar-se mais nitidamente genótipos de tolerância intermediária, recomenda-se que a dose de Al seja aumentada para 888 μM .

A metodologia de pastas suspensas apresenta vantagens relevantes em relação à metodologia tradicional, como: a) menor gasto de solução nutritiva (360 L e 510 L, respectivamente); b) menor espaço físico ocupado com os recipientes (6 caixas plásticas de 45,5 cm x 35,0 cm contra 30 caixas plásticas de 31 cm x 31 cm, respectivamente); 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 primeira marcação do sistema radicular deve ser feita com delicadeza, cuidando-se para que a raiz seminal não seja macerada.

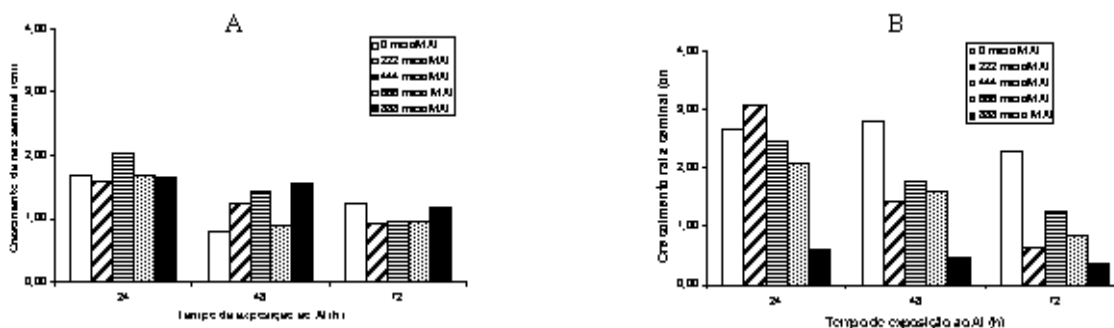


Figura 1. Crescimento da raiz seminal das linhagens de milho L1 (A – tolerante) e L5 (B – sensível), após 24, 48 e 72 h de tratamento com cinco doses de Al, utilizando-se a metodologia de pastas suspensas.

Referências

- 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, 1997. P. 23-30.

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 Sci. Plant Nut., 45 (3): 701-712, 1999.

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 Nutr., 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.

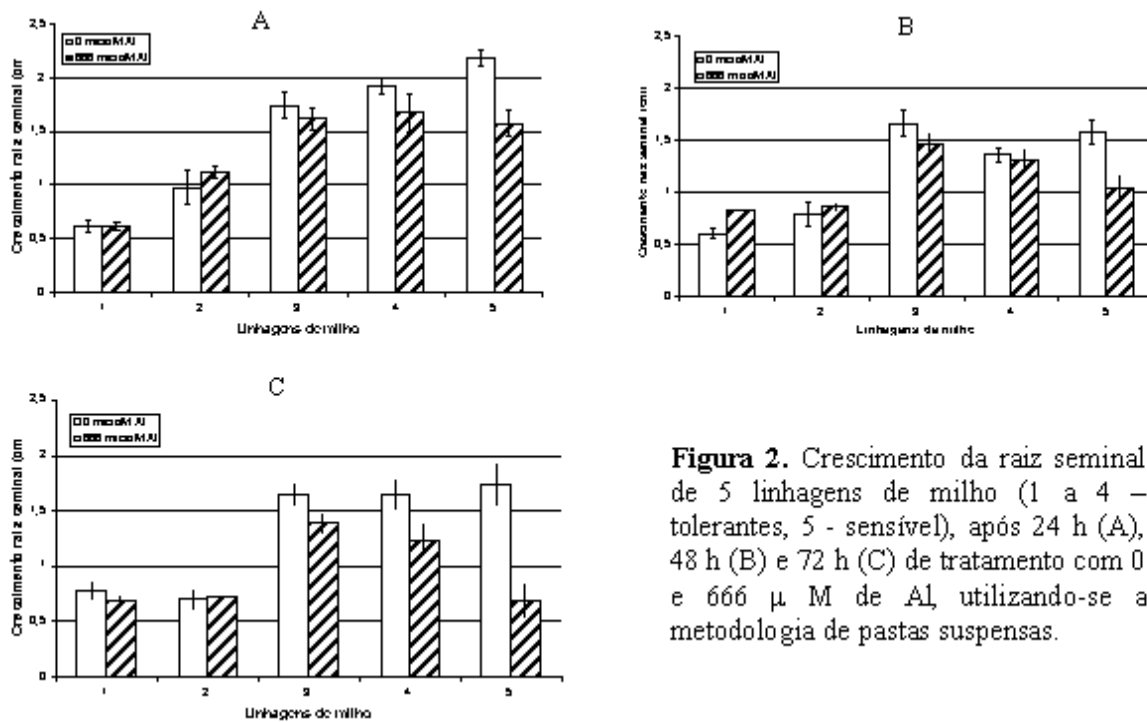


Figura 2. Crescimento da raiz seminal de 5 linhagens de milho (1 a 4 – tolerantes, 5 - sensível), após 24 h (A), 48 h (B) e 72 h (C) de tratamento com 0 e 666 µ M de Al, utilizando-se a metodologia de pastas suspensas.

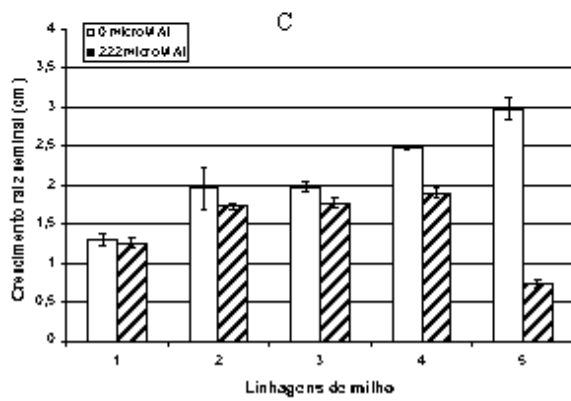
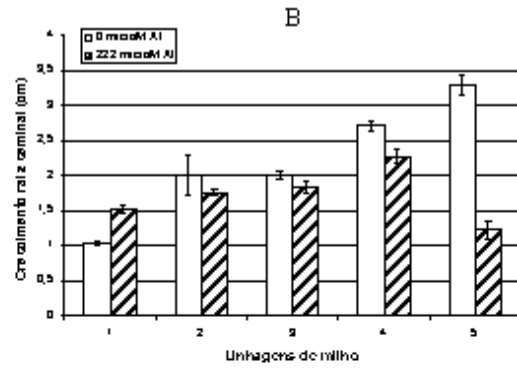
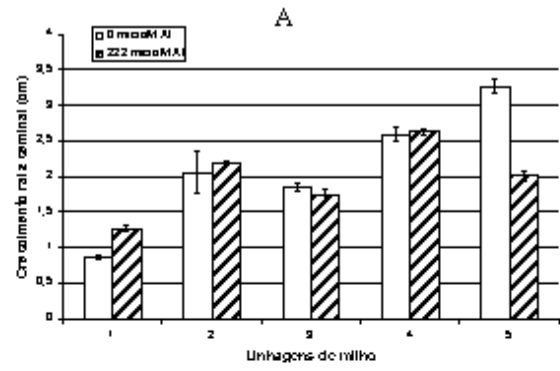


Figura 3. Crescimento da raiz seminal de 5 linhagens de milho (1 a 4 - tolerantes, 5 - sensível), após 24 h (A), 48 h (B) e 72 h (C) de tratamento com 0 e 222 μ M de Al, utilizando-se a metodologia tradicional de solução nutritiva.