

## AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM TRIGO PELO MÉTODO DA HEMATOXILINA E SUA UTILIZAÇÃO PRÁTICA

Michio Makita<sup>1</sup>; Júlio Cezar Albrecht<sup>2</sup>; Carlos Roberto Spehar<sup>3</sup>

**RESUMO** - O método de coloração pela hematoxilina, para se avaliar a tolerância ao alumínio em estágios iniciais da planta de trigo, é fácil e de elevada precisão, conforme relatado por Polle et al. (1978) e Takagi et al. (1981). Este método foi utilizado no Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), e confirmou-se adequado para estudos genéticos de tolerância ao alumínio e para a seleção de genótipos em programas de melhoramento. Conclui-se que: 1) com alguns ajustes na utilização da mesma metodologia proposta por Takagi et al. (1981) obtiveram-se resultados similares; 2) ficou evidenciado que a produtividade é baixa no cultivo de período chuvoso, quando as cultivares necessitam de tolerância ao alumínio, e elevada no período da seca (cultivo irrigado) quando não necessitam tanto da tolerância; 3) o padrão de tolerância ao alumínio de 140 genótipos originados no Brasil, foi considerado, em geral, bastante elevado, apesar de apresentar variações de acordo com a origem. As cultivares registradas e linhagens superiores foram classificadas como de alta a média tolerância, e confirmaram resultados anteriormente obtidos. Os dados indicam que o padrão de tolerância ao alumínio das cultivares brasileiras é bem elevado, na comparação com os outros países; 4) a investigação sobre a genealogia de 5 cultivares recomendadas para os Cerrados com alta tolerância ao alumínio, mostrou que os fatores genéticos de resistência têm origem nas cultivares brasileiras com ancestrais comuns; 5) Com o cruzamento de cultivares tolerantes e susceptíveis ao alumínio, obteve-se quatro populações em F<sub>2</sub>, das quais derivaram linhagens F<sub>3</sub>. Pela avaliação de sua tolerância ao alumínio, foi confirmada a possibilidade de utilização do método da hematoxilina para a seleção de indivíduos e a subsequente avaliação de suas progênes.

<sup>1</sup> Agrônomo, Consultor da EMBRAPA/JICA.

<sup>2</sup> Eng. - Agr., EMBRAPA/Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), Caixa Postal 08223, CEP 73301-970 Planaltina, DF.

<sup>3</sup> Eng. - Agr., Ph.D., EMBRAPA/CPAC.

## EVALUATION OF ALUMINIUM TOLERANCE IN WHEAT SEEDLINGS BY HEMATOXYLIN STAINING AND ITS PRACTICAL UTILIZATION

**ABSTRACT** - The hematoxylin staining method to evaluate aluminium tolerance in wheat seedlings is easy to use and of high precision as reported by Polle et al., (1978) and Takagi et al., (1981). The method was repeated in the Cerrados National Research Center, EMBRAPA-CPAC, Brasília, DF, Brazil and confirmed to be adequate in genetic studies and to select genotypes for aluminium tolerance. It is concluded that: 1) some adjustment is necessary to obtain similar results to the ones reported in the literature; 2) screening of varieties makes evident that yield in the rain fed cultivation is mostly dependent of aluminium tolerance, in contrast to the irrigated cultivation; 3) the standard for aluminium tolerance among the 140 Brazilian genotypes was considered to be high, even though some variation was observed according to the origin. The cultivars and elite breeding lines were classified as high and superior to the ones originated from other countries; 4) investigation on the genealogy of five cultivars recommended for the Cerrados, indicated that genetic factors for aluminium tolerance come from common ancestors; 5) In progeny tests with F2 hybrids between tolerant and susceptible varieties, the selected plants originated F3 progenies with a higher frequency of tolerant individuals and confirmed the efficiency of hematoxylin staining test in a breeding programme.

### Introdução

Admite-se que a toxidez de alumínio e a de manganês nas plantas é o principal fator causador de danos pela acidez do solo (Vose et al. 1962). De acordo com os dados do Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA/SNLCS, 1981), a região dos Cerrados é constituída de 46% (940.000 km<sup>2</sup>) de latossolo do qual mais de 95% se caracterizam por serem ácidos e distróficos. Grande parte do latossolo do Cerrado é álico, com ponto de saturação de alumínio maior que 50% causando toxidez às plantas (Goedert, W.J., Ed. 1989). O seu reflexo é primeiramente verificado nas raízes, danos no seu crescimento e na divisão das células meristemáticas.

Quando se inicia cultivo nos Cerrados, é sugerido o seguinte método de correção do solo: eliminação da vegetação; distribuição e incorporação da metade do calcário necessário, recomendado com aração e gradagem; mais uma aração e gradagem de nivelamento para incorporação do calcário restante e nutrientes. Novas adições de calcário são efetuadas ao longo do tempo de acordo com as alterações da acidez do solo. Entretanto, devido aos corretivos não atingirem o sub-solo, torna-se necessária a seleção de plantas tolerantes à toxidez de alumínio, para um aprofundamento radicular que permita melhor exploração da água em períodos de deficiência hídrica.

O trigo apresenta variabilidade para tolerância ao alumínio (Tanaka, 1989), a qual é de grande importância na adaptação da espécie ao cultivo nos Cerrados. A metodologia tradicional para elevar a resistência ao alumínio, consistia no cultivo de populações em áreas com níveis elevados de alumínio com avaliação visual do nível de dano em relação a cultivares-padrão. Como o dano primário ocorre na raiz, muitos pesquisadores, em seus experimentos de genética e melhoramento, utilizaram o método de avaliação do índice de crescimento radicular em experimentos sob hidroponia (Foy et al., 1974; Kerridge et al., 1968; Lafever et al., 1977). No entanto, estes métodos apresentavam dificuldades na prática. Polle et al. (1978) desenvolveram um método de avaliação da resistência ao alumínio, em solução nutritiva, pela coloração com hematoxilina das raízes seminais de trigo desenvolvidas sob stresse daquele elemento. Posteriormente Takagi et al. (1981) avaliaram a sua utilização prática. Como resultado, foi relatado que o método de coloração pela hematoxilina possui alta precisão, é de fácil execução e de boa eficiência nos estágios iniciais.

O presente experimento objetivou a aplicação do método relatado por Takagi et al. (1981) com os equipamentos disponíveis no Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC) para verificação da sua praticidade na avaliação de tolerância ao alumínio dos genótipos brasileiros.

## **Experimento 1 - Avaliação da tolerância ao alumínio pelo método de coloração com hematoxilina.**

### **1. Objetivo**

Takagi et al. (1981), avaliaram a praticidade do uso do método de coloração pela hematoxilina e o adequaram para trabalho de rotina. O objetivo deste experimento foi verificar a repetitibilidade dos resultados e sua aplicação, com os equipamentos disponíveis no CPAC.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Equipamentos e reagentes

O recipiente para a acomodação das sementes germinadas constituiu-se em um escorredor de laboratório, de 30 cm de altura, 24 cm de largura e 10 cm de altura, feito de resina sintética cujo fundo é um látice quadriculado e com um recipiente para a drenagem. As sementes foram distribuídas sobre a depressão de uma malha plástica fixada de forma ondulada sobre o fundo do escorredor. O volume de solução nutritiva, colocada no recipiente, foi ajustado para que as sementes dispostas na depressão da malha ficassem em contato com a superfície do líquido. Na aeração por compressor, utilizaram-se dois tubos de "vynil", com inúmeros orifícios fixados no fundo do recipiente. Quatro recipientes foram preparados com a mesma solução nutritiva, a qual foi substituída por solução tratamento. O experimento foi conduzido em incubadora, Percival, (Boone, Iowa, EUA) com controle de umidade e luminosidade. A composição da solução nutritiva foi a seguinte:  $\text{CaCl}_2$  4 mM;  $\text{KNO}_3$  6,5 mM;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  2,5mM;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,1 mM e  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,4 mM. O pH foi ajustado para 4.0 com ácido clorídrico a 0.25N. Como fonte de alumínio, utilizou-se cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Preparou-se a solução de hematoxilina com a adição de 0.02% iodato de sódio ( $\text{NaIO}_3$ ) em solução de hematoxilina a 0.2%. O experimento foi conduzido com duas repetições, cada tratamento com cinco plantas/variedade.

### 2.2 Procedimentos

1º dia - Germinação das sementes: Às 9 horas da manhã, as sementes foram depositadas sobre papel-filtro, disposto no fundo de uma placa de Petri, umedecidas com água deionizada e incubada a 25 °C, com 12 horas de período luminoso. Estas mesmas condições de temperatura e luminosidade foram mantidas durante a condução do experimento e diferem do método empregado por Takagi et al. (1981) em que as sementes foram germinadas diretamente sobre a solução.

2º dia - Crescimento radicular: Vinte e quatro horas após a germinação selecionaram-se cinco sementes mais uniformes as quais foram distribuídas sobre o escorredor em contato com a solução nutritiva. Levou-os à incubadora e efetuou-se a aeração. Para se evitar o ressecamento, a parte superior foi coberta com filme plástico.

3º dia - Adição de alumínio: Trinta horas após substituiu-se por solução nutritiva com 4 diferentes níveis de concentração de alumínio, quais sejam: 0.18 mM, 0.36 mM, 0.72 mM e 1.40 mM. Nesta ocasião, o comprimento radicular era de 1-2 cm.

4º dia - Coloração de hematoxilina: Às 9 horas da manhã, após (17 horas), retiraram-se os recipientes da câmara incubadora, substituiu-se a solução com alumínio por água deionizada e procedeu-se a lavagem por 1 hora, com aeração. Em seguida, secaram-se as raízes e imergiram-nas em recipiente com solução de hematoxilina por exatamente 15 minutos. O excesso de solução corante foi eliminado com água corrente e, novamente recolocou-se o escorredor no recipiente com água deionizada para lavagem por 30 minutos com aeração. A seguir, avaliou-se o grau de resistência.

### 2.3 Avaliação

Os indivíduos, com crescimento radicular aproximado de 1,5 cm foram usados para as avaliações do grau de coloração na extensão de aproximadamente 5-6 mm da extremidade da raiz. Foram considerados susceptíveis aqueles que se coloriram e tolerantes os que não apresentaram coloração. Houve casos onde a extremidade e a parte superior coloriram-se, mas com a parte intermediária de 1-2 mm descolorida. Estas foram consideradas como não coloridas. Como descrição de Takagi et al. (1981), a classificação foi dividida em 5 categorias índices, em função da concentração de alumínio: 1 - não colore mesmo a 1.40 mM (alta tolerância); 3 - colore a 1.40 mM (tolerância); 5 - colore a 0.72 mM (intermediária); 7 - colore a 0.36 mM (susceptibilidade); e 9 - colore a 0.18 mM (alta susceptibilidade).

### 2.4 Semente

Foram testadas 31 cultivares de trigo do Japão (1 - 31), Atlas cultivar-padrão tolerante e Brevor susceptível. Estas 33 cultivares fizeram parte das avaliações de Takagi et al. (1981). As cultivares japonesas foram obtidas no banco de germoplasma do Instituto Nacional de Recursos Agrobiológicos (NIAR, Tsukuba, Japão), do mesmo lote conservado e utilizado por aqueles autores. Atlas-66 e Brevor, provieram da mesma fonte, porém com dúvidas sobre a Atlas-66, para a qual se dispunham de dois lotes.

### 3. Resultados e Discussão

As avaliações de tolerância ao alumínio foram registradas e comparadas com os resultados de Takagi et al. (1981) na Tabela 1. Houve coincidência de resultados, com exceção de duas amostras cujos índices se diferiram e três com variações nas repetições, como: Norin-54, descrito por Takagi et al. (1981) como tolerante e com índice 7 neste experimento, Atlas-66 altamente tolerante e que neste experimento apresentou índice 3 e confirma os resultados encontrados por Polle et al. (1978). Entretanto, na classificação de Takagi et al. (1981) o índice 1 foi dado quando na concentração de 1.40 mM ainda restou parte branca na extremidade da raiz, apesar de muito pouca. Essa diferença nos resultados é questionável e pode estar ligada a subjetividade do método. Houve também algumas diferenças entre as repetições do experimento porém sem grandes diferenças entre indivíduos. Estes resultados mostraram alta repetitividade e tornam possível a utilização deste método em experimento com alumínio em trigo para avaliação de diferença varietais de tolerância ao alumínio e para a triagem de populações no melhoramento e em experimentos genéticos.

**TABELA 1 - Reação de cultivares japonesas ao alumínio pelo método de hematoxilina.**

Cultivar	Índice		Cultivar	Índice	
	Takagi et al. 1981	CPAC		Takagi et al. 1981	CPAC
Norin Nº 4	7	5-7	Norin Nº 67	7	7
" 9	7	7	" 68	7	7
" 19	7	7	" 69	5	5
" 23	7	7	" 70	5	5
" 26	7	7	" 71	7	7
" 30	5	5	" 72	5	5
" 34	7	7	Akabouzu	3	3
" 43	7	7	Hirakikomugi	3	3
" 46	5	5	Kitakami	5	5
" 50	7	7	Igachikugo	7	7
" 52	7	7	Sanshukotake	3	3
" 53	7	7	Saitama nº 27	7	5-7
" 54	3	7	Shinchucho	5	5
" 59	5	5	Eshimashinri	7	5-7
" 61	5	5	Atlas 66	1	3
" 63	7	7	Brevor	9	9
" 64	7	7			

Índice: 3 (tolerante);5 (intermediário);7 (susceptível);9 (altamente susceptível)

## **Experimento II - Produção e nível de tolerância ao alumínio das cultivares de trigo recomendadas para os cerrados**

### **1. Objetivo**

Elucidar o efeito dos danos causados pelo alumínio nas cultivares recomendadas ao cultivo nos cerrados, onde estão incluídos os estados de Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal e Mato Grosso.

### **2. Material e Métodos**

Selecionaram-se nove cultivares com base nos resultados do ano de 1990 (EMBRAPA - CPAC, 1990) indicadas para cultivo de sequeiro na época chuvosa, em sucessão e 6 cultivares para o cultivo irrigado na época da seca. Esse material foi avaliado no campo em presença de alumínio, onde foi caracterizado por avaliação visual.

### **3. Resultados e Discussão**

#### **3.1 Resposta das cultivares da época chuvosa.**

Na Tabela 2 estão apresentados os índices de tolerância ao alumínio das cultivares para cultivo na época chuvosa determinados pelo método de coloração pela hematoxilina e avaliação de campo no Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, EMBRAPA-CNPT. Desse material obtiveram-se: 6 cultivares com índice 3 (tolerante), 2 com índice 5 (intermediário) e 1 com índice 7 (susceptível). Nos resultados da avaliação de campo, sete cultivares mostraram-se resistentes, uma moderadamente resistente e uma moderadamente susceptível. Dessa forma, constata-se que no cultivo na época chuvosa são utilizadas cultivares com alta tolerância ao alumínio. A causa disso é que o alumínio ainda está presente no subsolo e limita o aprofundamento radicular de variedades susceptíveis as quais sofrem mais o estresse hídrico, o que acarreta redução na produtividade sendo por isso descartadas do programa de melhoramento (Camargo, 1980). As produtividades de grãos destas cultivares vão de 0.8 a 1.8 ton/ha, muito baixo se comparado com as produtividades de grãos das cultivares recomendadas sob irrigação (Tabela 2) que gira em torno de 5 ton/ha. Além da limitação de solo, outra razão da baixa produtividade é a redução no ciclo de cultivo (Makita, 1986).

**TABELA 2 - Tolerância ao alumínio de cultivares de trigo recomendadas ao cerrados do Brasil Central.**

Cultivar	Estado	Índice	Crestamento no campo <sup>1</sup>	Produção <sup>2</sup> (ton/ha)
..... sequeiro.....				
BH 1146	MG, GO, DF, MT	3	R	1.2
BR 8	MG	3	R	1.8
BR 16	MG, GO, DF	5	R	1.0
BR 24	MG, GO, DF	3	R	1.2
BR 25	MG, GO, DF	3	R	1.1
BR 26	MG	7	MS	0.8
IAC 5	MG, GO, DF, MT	3	R	1.2
IAC 21	MG, GO, DF	3	R	1.2
MG 1	MG	5	MR	1.2
..... irrigado.....				
ANAHUAC	MG, GO, DF, MT	9	AS	5.7
BR 10	MG, GO, DF, MT	5	MS	5.3
BR 12	MG, GO, DF	5	MS	5.2
BR 33	GO, DF	5	MS	5.4
IAC 24	MG	3	MR	4.9
Candeias	MG, GO, DF, MT	5	MS	4.8

<sup>1</sup> MR: Moderadamente Resistente; MS: Moderadamente susceptível; AS: Altamente susceptível.

<sup>2</sup> Sequeiro - 1990; irrigado - 1991.

### 3.2 Resposta das cultivares para a cultura irrigada

A tolerância ao alumínio e a produção de grãos das cultivares recomendadas para o cultivo sob irrigação na época da seca, estão apresentadas também na Tabela 2. Obtiveram-se os seguintes índices: uma cultivar com índice 3 (tolerante), quatro com índice 5 (intermediário) e uma com índice 9

(altamente susceptível). Nos resultados da avaliação de campo, uma cultivar foi considerada como MR (moderadamente resistente), quatro como MS (moderadamente susceptível) e uma como AS (altamente susceptível). No cultivo irrigado, empregam-se cultivares sensíveis aos danos de alumínio, as quais foram selecionadas em ausência do elemento. As suas raízes concentram-se na camada arável que está sempre bem suprida de água e nutrientes. A produtividade destas variedades é de 4,8 a 5,7 ton/ha, o que é bastante elevada em comparação com o cultivo na época chuvosa. São em geral, variedades mexicanas selecionadas para produtividade. Como foi mostrado acima, a ocorrência da toxidez de alumínio em trigo limita a escolha da variedade e, isso pode limitar a produtividade. Para a resolução do problema, é necessário conjugar a melhoria do solo com o desenvolvimento de cultivares tolerantes ao alumínio e com alta produtividade. O emprego do método da hematoxilina deverá ser bastante útil para se alcançar estes objetivos.

### **Experimento III - Avaliação de tolerância ao alumínio de cultivares e linhagens brasileiras**

#### **1. Objetivo**

Avaliar as cultivares e linhagens brasileiras e para tolerância aos danos do alumínio e utilizá-los como progenitores no desenvolvimento de cultivares.

#### **2. Material e Métodos**

O método de avaliação da tolerância do alumínio é mesmo empregado no experimento I.

Foram utilizadas as 140 cultivares e linhagens apresentadas na Tabela 3. Estas foram obtidas na EMBRAPA-CNPT, em outros institutos de pesquisa nacionais e estrangeiros que trabalham com melhoramento genético.

**TABELA 3 - Índice de tolerância das cultivares e material de melhora-  
mento Brasileiras e cultivares Estrangeiras.**

---

Índice 1 (Alta tolerância) Inexistente

---

Índice 3 (Tolerância) BH 1146, BR 4, BR 8, BR 15, \*BR 18, BR 23, BR 25, \*BR30, BR 34, BR 37, B 38, \*BR 39, BR 41, BR 43, CEP 11, CEP 14, CEP 19, CEP 21, CNT 1, CNT 8, CPAC 841136, CPA 8717, Encruzilhada, Frontana, \*Florida 303, GD 8366, IAC 5, IAC 13, IAC 21, IAC 24, IAC 27, IP 43544, \*IPF 57340,;IAS 54, Jacui, OC 8911, \*ONDA INIA, PF 8545,PF 8592, PF 85137, PF 85539, P 859244, PF 86238, PF 869120, PF 869155, PF 8776, PF 87107, PF 87373, PF 88490, PF 88623, P 88649, PF 89310, PF 89313, PF 89316, PF 89318, PF 89327, PF 893235.

---

Índice 3-5 BR 35, IAPAR 6, \*IAPAR 21, \*Pionero INTA, PF 86803, PF 88638.

---

Índice 5 (Intermediário) \*Andy, \*BR 10, \*BR 11, BR 12, BR 16, \*BR 17, BR 24, BR 32, \*BR 33, BR 40 \*Candeias, CPAC 8886, \*E 87116, GD 8826, IAC 162, IAPAR 41, \*IPF 56931, \*IPF 61162, MG 1 \*OCEPAR 11, OCEPAR 19, OCEPAR 20, OC 899, PAT 7392, PF 772003, PF 801034, PF 832006, P 84409, PF 869100, PF 88498, PF 88522, PF 88603, PF 88629, PF 88639, PF 89206, PF 89246.

---

Índice 5-7;\*Buck Pamgaré, \*China 7, \*Coker 762, CPAC 8597, \*E 86107, EP 8737, \*LD 8740.

---

Índice 7 (Susceptibilidade);\*Anahuac 75,;BR 20,;\*BR 26,;EP 8724, EP 87100, \*Etruria, Hulha Negra IAC 287, \*IAPAR 28, \*IAPAR 29,, IOC 891, \*IPF 58343, \*Jarka, \*LAP 2078, MS 6084, \*Neretva \*Ning 8331, PF 85161.

---

Índice 7-9;\*IAPAR 17, IAPAR 30.

---

Índice 9;(Alta susceptibilidade);\*BR 36,;\*Buck Poncho,;\*Century, CPAC 8393, CPAC 861007, \*J 3138, \*Karim, \*Klein Chamaco, \*LAJ 2965, \*LAP 1144, \*Oasis, \*OCEPAR 7, \*Pampa INTA \*Romanija.

---

\* Introduzida do exterior

### 3. Resultados e Discussão

Classificaram-se os genótipos nos seguintes níveis: 61 (44%) com índice 3 (tolerante) e 43 (31%) como 5 (intermediário), num total de 104, ou seja, 75% dos genótipos avaliados. Os genótipos com índice 7 (susceptíveis) e índice 9 (altamente susceptíveis) não excederam a 36 (25%) (Tabela 3). Considere-se que, para fins de classificação, o nível intermediário entre os índices 3 e 5, foi admitido como 3. A Figura 1 mostra os índices de tolerância ao alumínio das cultivares brasileiras e estrangeiras separadamente, onde 96 (69%) são brasileiras, das quais 84 (60%) corresponderam aos índices 3 e 5 e 12 aos 7 e 9, respectivamente. Torna-se evidente que cultivares brasileiras são superiores em tolerância ao alumínio. Entretanto, nenhum genótipo apresentou índice 1 (elevada resistência) o que foi considerado como difícil de se obter na prática, onde a seleção foi sempre influenciada pelo ambiente.

Na Figura 2 comparam-se os índices de tolerância ao alumínio de 26 cultivares registradas, com os dados retirados do trabalho de Takagi et al. (1981). As cultivares brasileiras representam 57% do total e apresentam índice 3 (tolerância) enquanto que 48% das cultivares japonesas apresentam índice 7 (susceptibilidade). Dessa forma, a tolerância das cultivares brasileiras em comparação com as japonesas foi bastante alta.

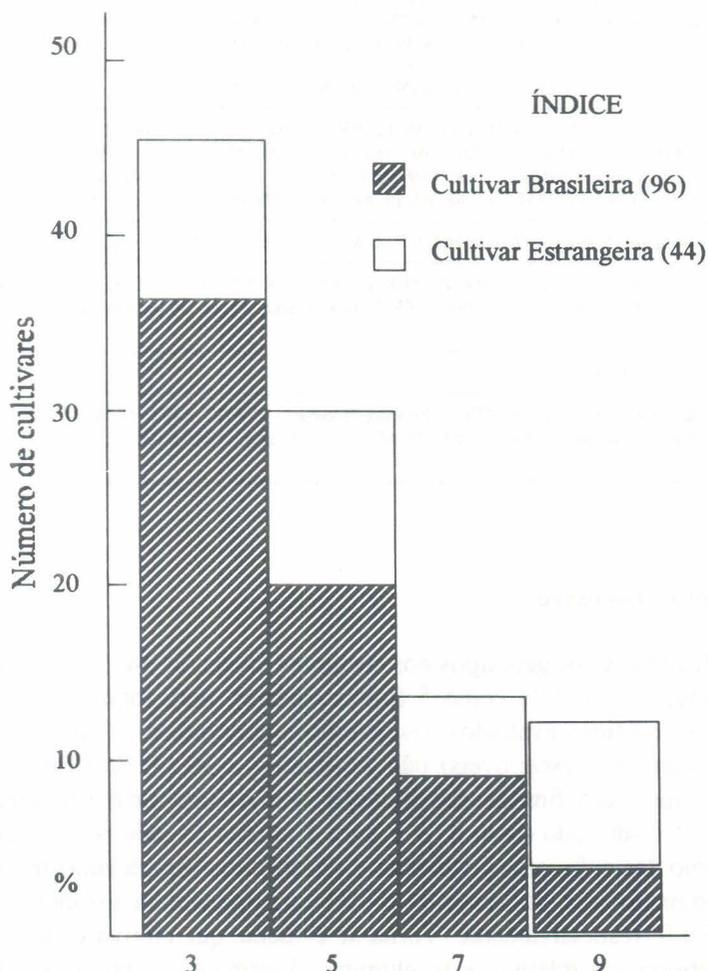
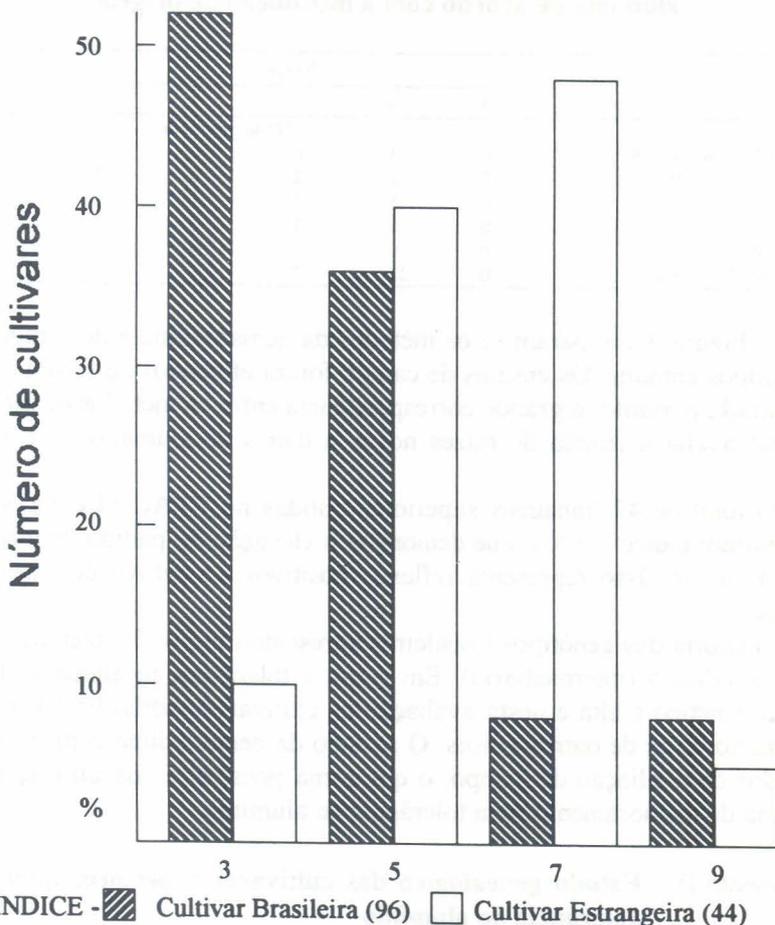


FIG. 1 - Índice de tolerância ao alumínio das cultivares de trigo brasileiras e estrangeiras.



**FIG. 2 - Índice de tolerância ao alumínio das cultivares Brasileiras e Japonesas.**

Na Tabela 4 é mostrada a distribuição dos índices de tolerância dos genótipos desenvolvidos ou introduzidas pelas principais instituições de melhoramento, onde se percebe a influência do local de origem na reação ao alumínio. Os níveis de tolerância das variedades do IAPAR e OCEPAR foram moderados, devido provavelmente, serem selecionados em solo de boa qualidade, com ausência de Al-tóxico.

**TABELA 4 - Distribuição dos genótipos pelo índice de tolerância ao alumínio de acordo com a instituição de origem.**

Instituição	Índice					Total
	1	3	5	7	9	
	Nº de genótipos.....					
CEP-FECOTRIGO, R.G.S.	0	4	0	0	0	4
EMBRAPA-CPAC, D.F.	0	2	2	0	2	6
IAC, S.P.	0	5	1	1	0	7
IAPAR, PR.	0	0	3	2	2	7
OCEPAR, PR.	0	0	3	0	1	4
EMBRAPA-CNPT, R.G.S.	0	22	12	1	0	35

Na Figura 3 comparam-se os métodos da hematoxilina e de campo em 92 genótipos comuns. Os ensaios de campo foram efetuados no CNPT. Fica demonstrada portanto, a grande correspondência entre os métodos de laboratório que avalia a reação de raízes novas a danos de alumínio com os de campo.

Do total de 42 linhagens superiores obtidas no CPAC (Tabela 3) 41 apresentaram índice 3 e 5, o que demonstra a elevação do padrão de tolerância ao alumínio. Isso representa reflexos positivos no cultivo de trigo nos cerrados.

A maioria dos genótipos brasileiros apresentou índice 3 (tolerante), seguido do índice 5 (intermediário). Em geral, a tolerância ao alumínio desse material genético é alta e nesta avaliação as cultivares-padrão brasileira foram superiores as de outros países. O método da hematoxilina confirmou os resultados da avaliação de campo, o que torna possível a sua utilização no programa de melhoramento para tolerância ao alumínio.

#### Experimento IV - Estudo genealógico das cultivares superiores quanto à tolerância ao alumínio

##### 1. Objetivo

Tem sido relatado que as cultivares originárias de regiões onde predominam solos ácidos possuem alta tolerância a alumínio (Foy et al., 1974, Takagi et al., 1981) e que as cultivares melhoradas nesses mesmos ambientes herdaram os genes de resistência das mais antigas. O objetivo deste experimento foi fazer um estudo genealógico da tolerância ao alumínio de algumas cultivares recomendadas para os cerrados.

Crestamento de Campof**	Método Hematoxilina						
	3 Toler.	3-5	5 Interm.	5-7	7 Suscep.	7-9	9 Alt. Sus.
R Resistente	24*	1	6				
MR Moder. Res.	16	3	12	3	3		
MS Moder. Sus.			2	2	6		
S Susceptível					6	1	5
AS Alta Suscep.							1

\* Número de cultivar

\*\* Experimento conduzido na EMBRAPA-CNPT (1988)

**FIG. 3 - Comparação do índice de tolerância pela Hematoxilina a resistência ao crestamento no campo.**

## 2. Material e Métodos

O método de avaliação de tolerância a alumínio empregado foi o mesmo do experimento I.

Empregaram-se cinco cultivares recomendadas aos cerrados as quais apresentaram alta tolerância ao alumínio. Na sua escolha levou-se em consideração a origem. Posteriormente, fez-se a uma análise da genealogia desse material, mediante a avaliação da tolerância ao *Al* das suas variedades ancestrais. As sementes foram obtidas no CPAC, CNPT e no Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia, EMBRAPA-CENARGEN. Na Tabela 5 estão a origem e o índice de tolerância.

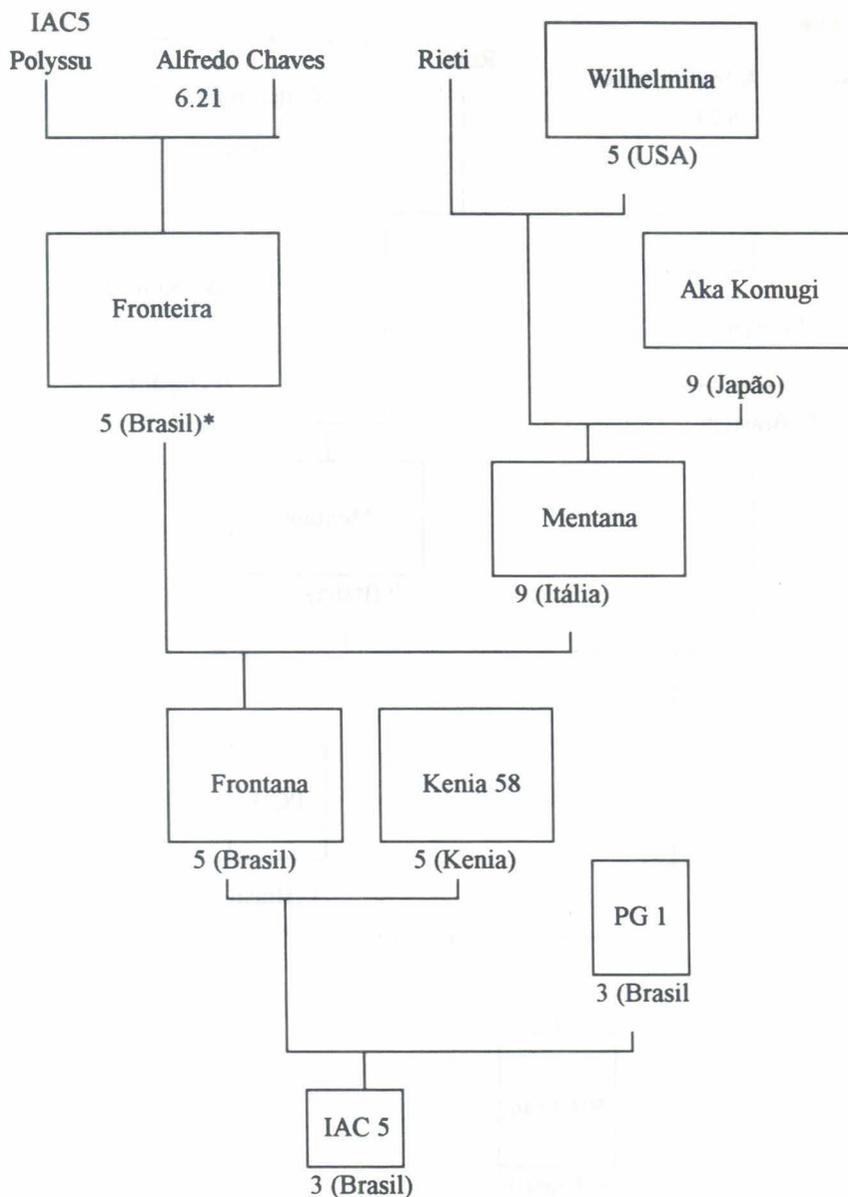
**TABELA 5 - Cultivares avaliadas geneologicamente.**

Cultivar	Índice	Origem (ano)	Estado recomendado
1. IAC 5	3	IAC (1966)	MG, GO, DF, MT
2. BH 1146	3	I. Correa (1946)	MG, GO, DF, MT
3. BH 16	5	CNPT (1986)	MG, GO, DF
4. BH 24	3	CNPT (1987)	MG, GO, DF
5. BH 25	3	CNPT (1988)	MG, GO, DF

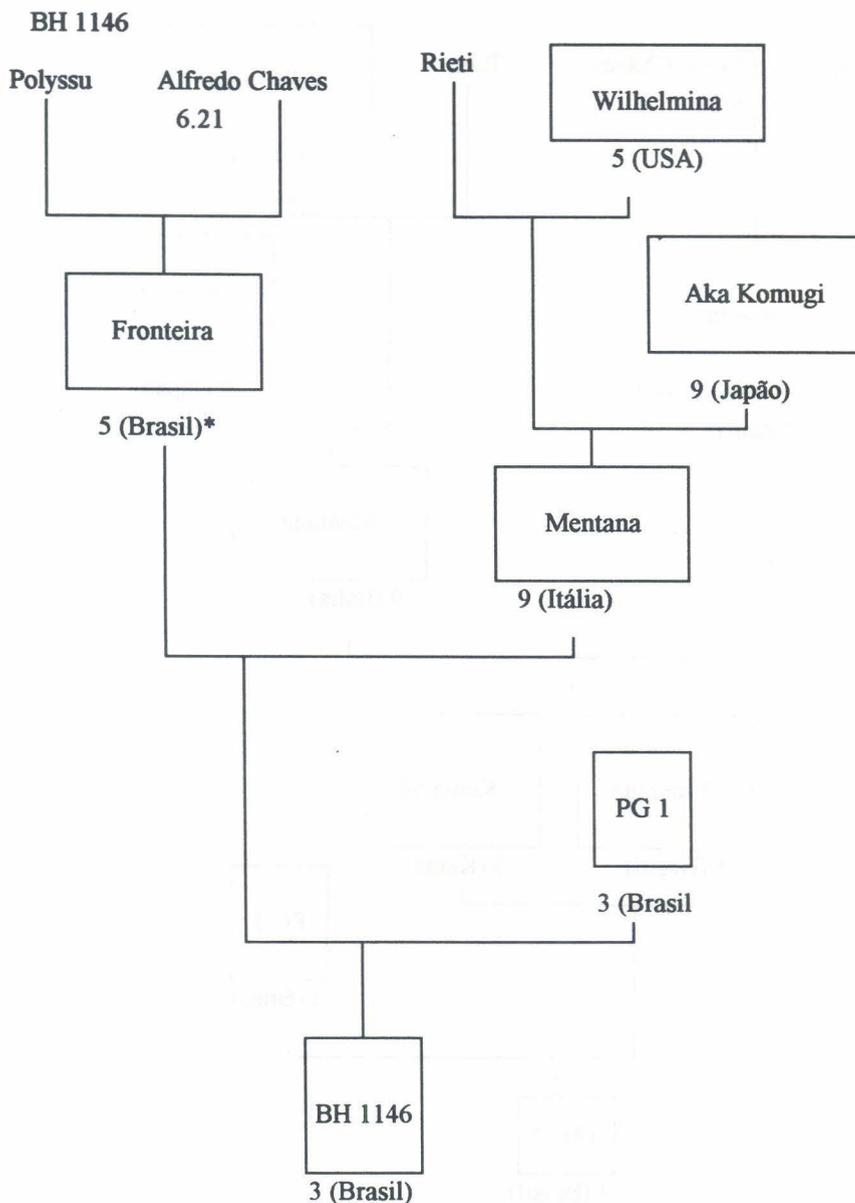
### 3. Resultados e Discussão

Na Figura 4 percebe-se que "IAC 5", com índice de tolerância 3, é descendente de "PG 1", com índice 3. A "PG 1" é uma cultivar brasileira antiga, proveniente da parte Sul do país. As variedades Fronteira e Frontana, com índice 5, são ditas como origem genética da resistência da maioria das cultivares (Iorczeski, 1979). Estas cultivares também são superiores como fonte de genes de resistência a doenças e têm sido utilizadas como progenitores que deram origem a um grande número das novas cultivares brasileiras. A cultivar tolerante Kenia 58 também foi desenvolvida em condições de solos ácidos (Nyachiro, 1991). A "BH 1146", com índice 3, é também originada da cultivar PG 1. Assim como a "BR 16", com índice 5, originada da PF 70402 (com índice 3 - 5). Para os ancestrais desta cultivar foram utilizadas as cultivares brasileiras de alta tolerância: Colônias (índice 3), Combate (índice 3), IAS50 (índice 3) e Frontana (índice 5). A cultivar "BR 24", com índice 3, foi originada da IAS 58. Esta cultivar foi desenvolvida no IPEAS, em um estado da região Sul e Takagi et al. (1981) a descreve como a mais tolerante em seu trabalho. Estão incluídas entre os seus ancestrais cultivares brasileiras de alta tolerância como Cotiporã (índice 3), Trintecinco (índice 3) e Fronteira (índice 5). A variedade "BR 25", com índice 3 foi originada da cultivar BH 1146 (índice 3).

Dessa forma, verifica-se que a origem genética da tolerância ao alumínio do material descrito encontra-se nas antigas cultivares brasileiras. Ficou claro que a maioria das cultivares tolerantes teve base no Instituto de Pesquisa Agropecuária do Sul-IPEAS pelo trabalho de B. O. de Paiva, I. Beckman (Frontana, Fronteira) e O. G. Nobre (Cotiporã).

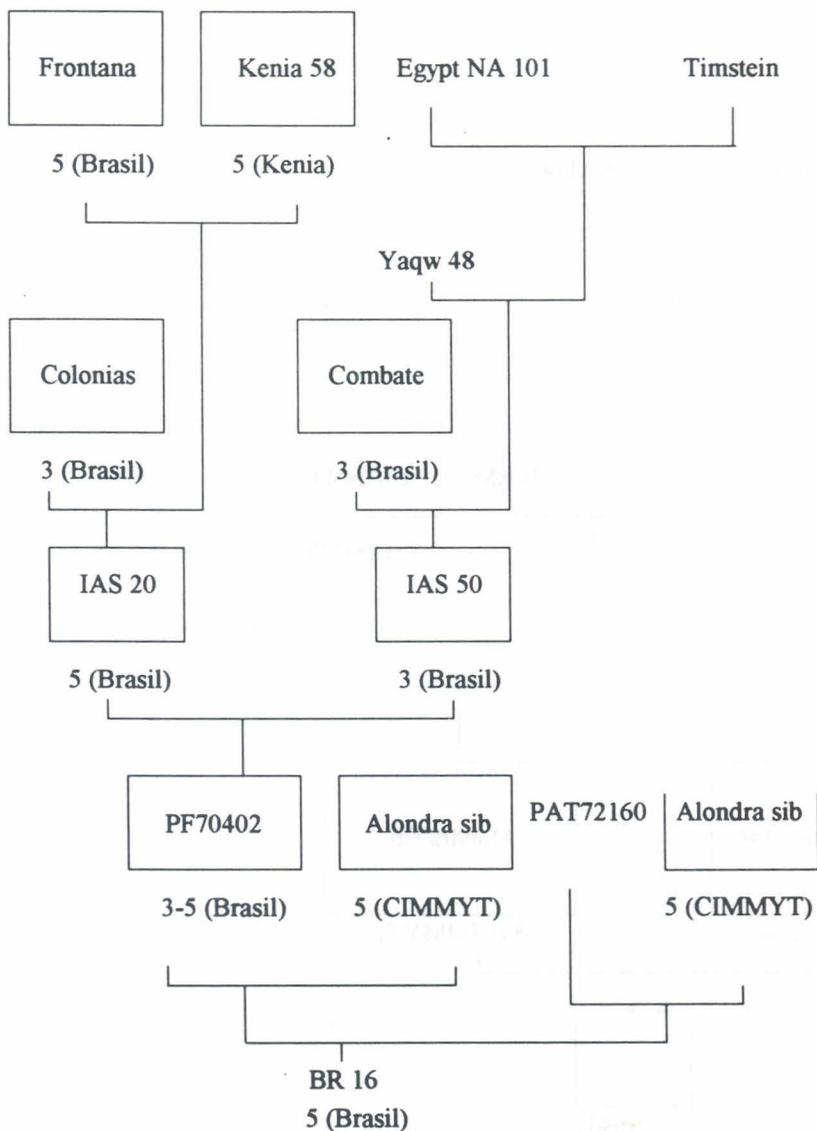


**FIG. 4 - Genealogia de cultivares recomendadas aos cerrados com tolerância ao alumínio.**

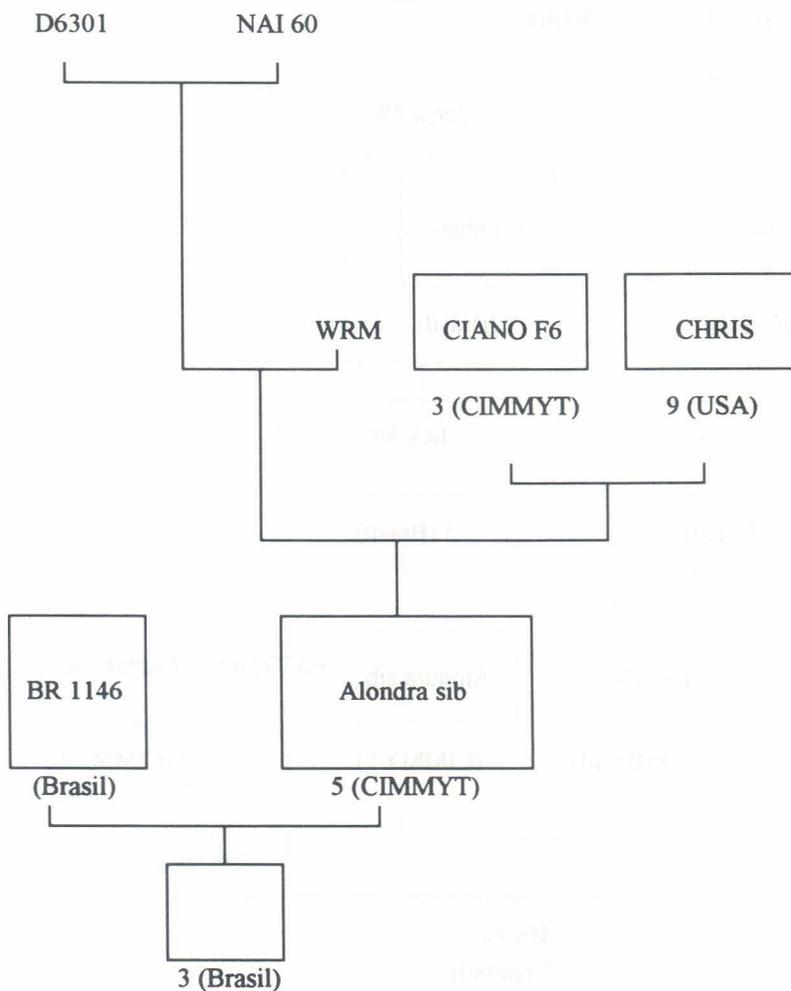


**FIG. 4 - Genealogia de cultivares recomendadas aos cerrados com tolerância ao alumínio. (Continuação)**

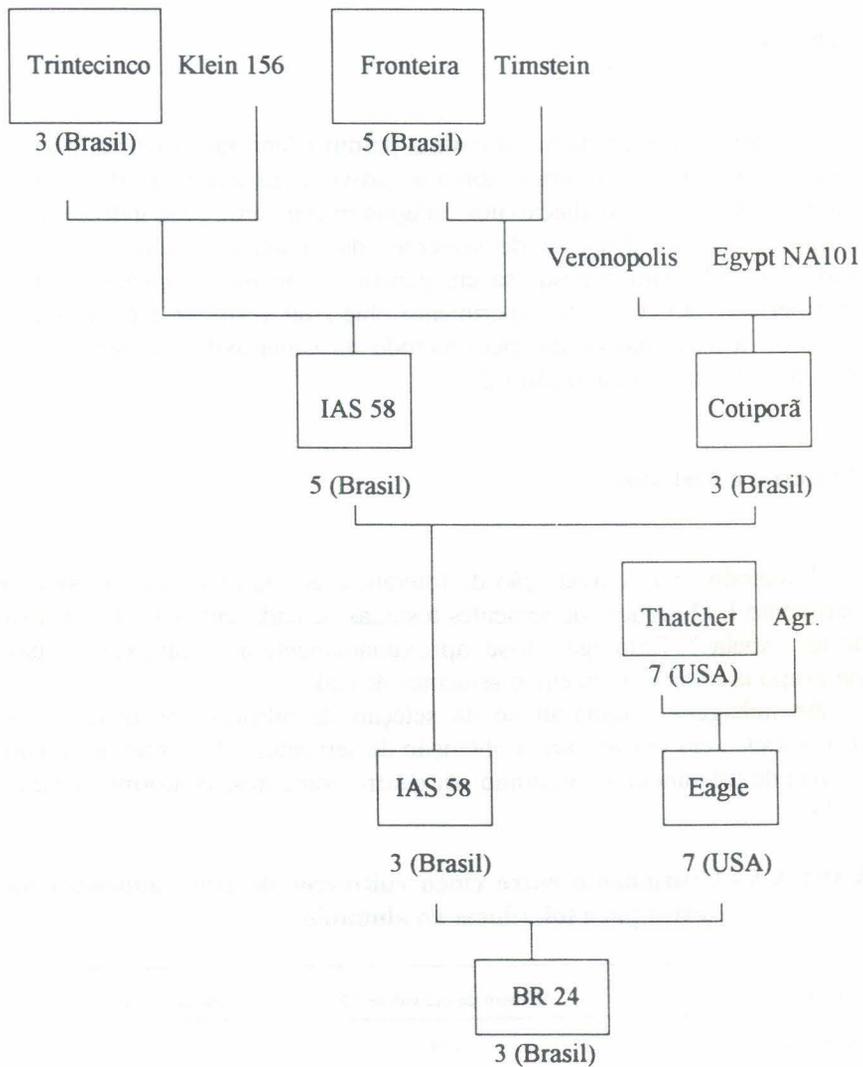
BR 16



**FIG. 4 - Genealogia de cultivares recomendadas aos cerrados com tolerância ao alumínio. (Continuação)**



**FIG. 4 - Genealogia de cultivares recomendadas aos cerrados com tolerância ao alumínio. (Continuação)**



**FIG. 4 - Genealogia de cultivares recomendadas aos cerrados com tolerância ao alumínio. (Continuação)**

Os número indica o índice de tolerância pelo método da hematoxilina e, entre parênteses, encontra-se a origem da variedade.

## Experimento V - Avaliação de Híbridos F2 pelo método da hematoxilina

### 1. Objetivo

Devido ao método da hematoxilina permitir fácil identificação pela coloração e ter alta repetitividade, torna-se provável na avaliação de híbridos. É interessante, após a avaliação nos estágios iniciais, que cada indivíduo seja transplantado para obtenção de sementes da geração seguinte. Isso é de grande utilidade para a pesquisa em genética e no melhoramento do trigo para tolerância ao *Al*. Este experimento objetivou verificar a possibilidade de avaliar, a nível individual, pelo método da hematoxilina e identificação gênica da tolerância na geração F2.

### 2. Material e Métodos

A metodologia de avaliação da tolerância ao alumínio foi a mesma do experimento I. O número de sementes testadas de cada indivíduo F2 está listado na Tabela 7. Empregaram-se, aproximadamente dez linhagens F2 para cada grupo escolhido, com cinco sementes de cada.

As linhagens originaram-se da seleção de híbridos, os quais foram transplantados em vasos, para a obtenção de sementes F3. Foram agrupados por nível de tolerância ao alumínio em quatro conjuntos, conforme mostra a Tabela 6.

**TABELA 6 - Cruzamento entre cinco cultivares de trigo utilizados nos testes para tolerância ao alumínio.**

Cruzamento	Número de indivíduos F2	Reação ao Alumínio <sup>1</sup>
1. BR 26 X BR 25	144	7 e 3
2. BR 25 X BR 36	120	3 e 9
3. BR 36 X BR 23	131	9 e 3
4. CEP 21 X BR 36	238	3 e 9

<sup>1</sup> Os números indicam os índices de reação ao alumínio para cada progenitor, respectivamente.

### 3. Resultados e Discussão

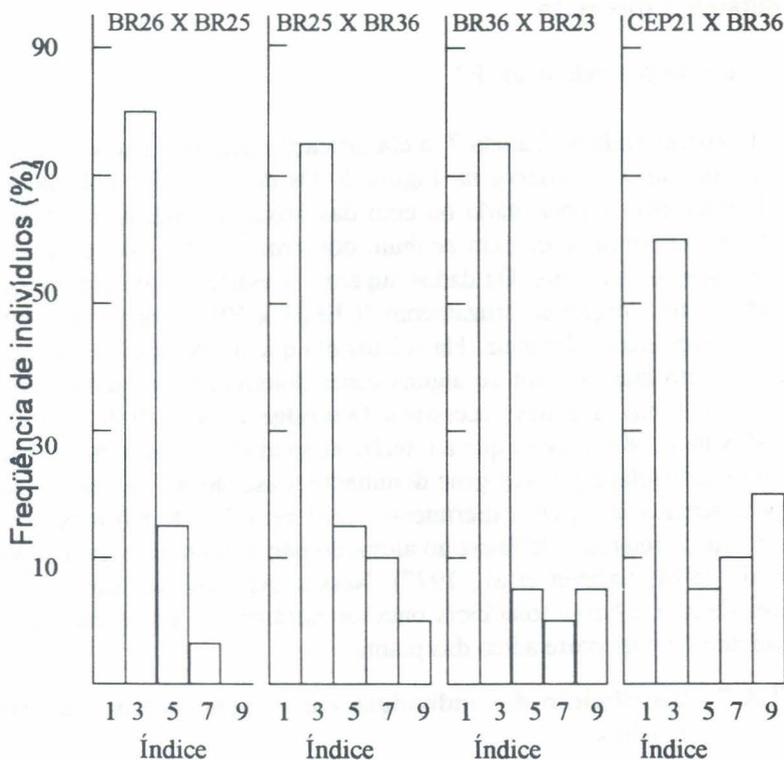
#### Separação dos indivíduos F<sub>2</sub>

Está apresentada na Tabela 7, a classificação dos indivíduos F<sub>2</sub> e a sua reação ao alumínio se observa na Figura 5. Os dois círculos colocados no índice de tolerância representado no eixo das abscissas indica o índice dos progenitores. Observa-se que em nenhum dos cruzamentos houve indivíduo que fosse superior aos pais. Os dados sugerem a existência de alguns genes dominantes com exceção do cruzamento "CEP21 x BR36" que indica haver genes recessivos para tolerância. Há relatos em que a tolerância ao alumínio em trigo é controlada por um ou alguns genes dominantes, enquanto em outros ela é atribuída a genes recessivos (Kerridge et al., 1986; Iorczeski, 1979). Minella (1989) relatou que a tolerância ao alumínio em três cultivares de cevada é controlada por um gene dominante, baseado no método de coloração pela hematoxilina, em experimentos com gerações de híbridos. Entretanto, em outros relatos, tolerância ao alumínio não tem uma herança simples (Foy et al., 1974; Lafever et al., 1977). Nesses experimentos utilizaram-se cultivares de alta e baixa tolerância onde os parâmetros avaliados foram a produção de raiz e da parte aérea das plantas.

**TABELA 7 - Distribuição dos indivíduos em F<sub>2</sub> pelo método da hematoxilina.**

Cruzamento	Al mM	Número de indivíduos	Distribuição <sup>1</sup>	
			(-)	(+)
1. BR26 X BR25	0.18	25	25	
	0.36	47	46	1
	0.72	47	40	7
	1.40	25		25
2. BR25 X BR36	0.18	17	16	1
	0.36	48	43	5
	0.72	43	35	8
	1.40	12		12
3. BR36 X BR23	0.18	16	15	1
	0.36	48	41	7
	0.72	53	39	14
	1.40	14		14
4. CEP21 X BR3	0.18	32	25	7
	0.36	81	55	26
	0.72	93	69	24
	1.40	32		32

<sup>1</sup> (+) Coloração: Suscetível; (-) Não coloração: Tolerante

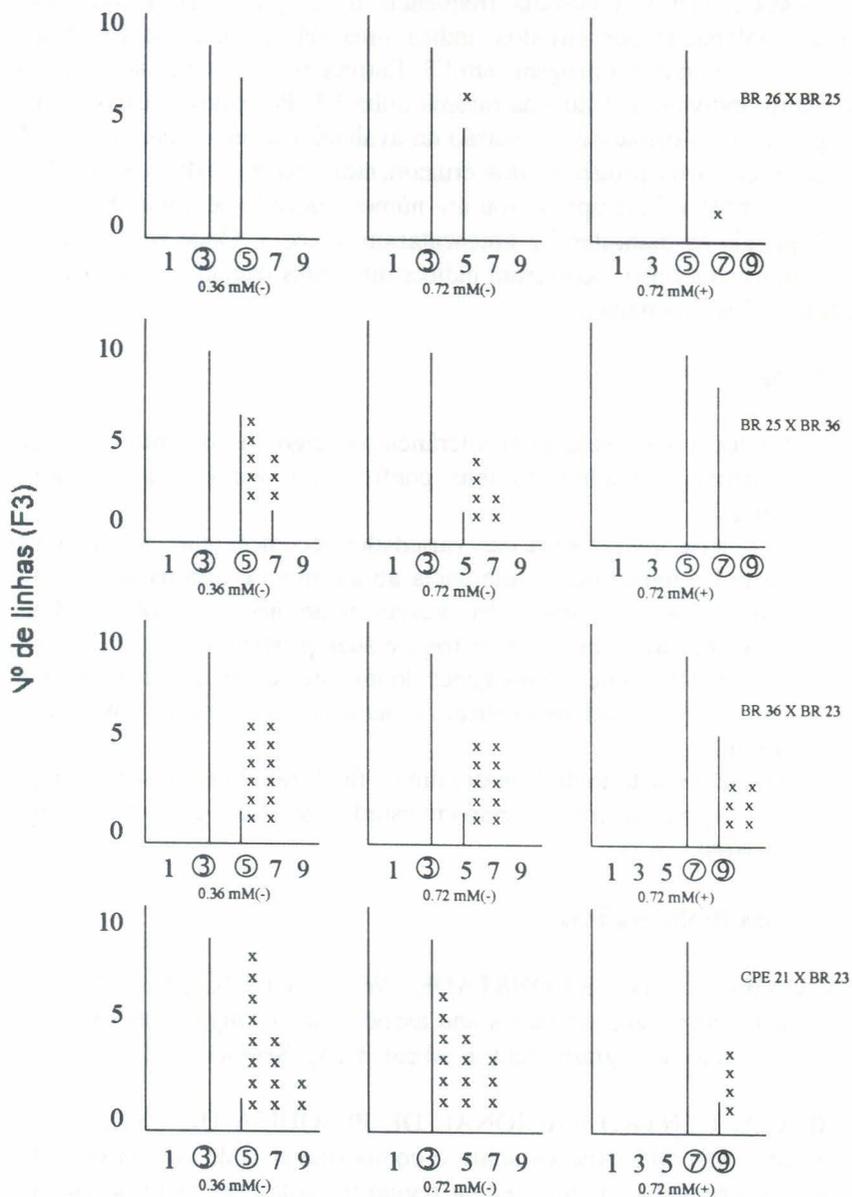


**FIG. 5 - Separação da tolerância ao alumínio dos indivíduos F2.**

#### Separação das progênias F2 (geração F3)

Após a avaliação, as plântulas foram imediatamente transplantadas para vasos em casa-de-vegetação. Na maturação, coletaram-se as sementes de cada planta individualmente, das quais cinco foram avaliadas.

Na Figura 6 é apresentada a separação das progênies de plântulas F2 por cruzamento. Considerou-se como uma linha as sementes coletadas de cada planta individualmente. Nos gráficos à esquerda está a frequência das progênies no nível de 0,36mM Al. As respectivas plântulas F2 haviam apresentado índices 3 e 5, contidos nos círculos. Nos gráficos intermediários e da direita está a distribuição de progênie no nível de 0,72mM Al, cujos F2 apresentaram reação de tolerância (-) e de susceptibilidade (+).



**FIG. 6 - Distribuição da tolerância ao alumínio da progênie F2 (geração F3) em dois níveis de alumínio.**

Dessa maneira, a elevada frequência de progênies (F3) coincidentes com as englobadas por círculos, indica uma relação entre a resposta de planta em F2 com a sua progênie em F3. Entretanto, houve variação da coloração entre indivíduos dentro da mesma linha F3. Por estes gráficos (Figura 6), é possível confirmar-se a precisão da avaliação ao nível individual, refletido na resposta da progênies dos cruzamentos, exceto "BR26 x BR25" no grupo 0.72mM(-). Este apresentou um número elevado de linhas F3 com índice 5 quando as plântulas F2 apresentaram índice 3. Onde houve variação dentro da mesma linha, ocorreram índices diferentes daqueles obtidos com as plântulas F2 selecionadas.

### **Conclusões**

- 1) Os testes para se avaliar tolerância de trigo ao alumínio em solução nutritiva, com a hematoxilina, confirmaram os resultados obtidos em campo.
- 2) A análise genealógica das variedades recomendadas ao cultivo nos cerrados indica que a tolerância ao alumínio é originária de antigas variedades brasileiras, selecionadas em ambientes de solos ácidos.
- 3) A avaliação de híbridos de trigo e suas progênies em solução nutritiva mostrou que alguns genes dominantes e, em um dos cruzamentos, genes ressecivos explicam a herança genética para tolerância ao alumínio.
- 4) O uso do método da hematoxilina é fácil, rápido e consistente e pode ser empregado com sucesso em estudos genéticos e de melhoramento de trigo.

### **Referências Bibliográficas**

- CAMARGO, C.E.O.; KRONSTADE, W.E.; METZGER, R.J. Parent-progeny regression estimates and associations of high level with aluminum toxicity and grain yield in wheat. *Crop Science* v. 20, p.355-358, 1980.
- EMBRAPA. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO. (Passo Fundo, RS) Observações sobre o comportamento de cultivares de trigo em experimentação em 1987 na região tritícola centro-sul do Brasil relativas ao crestamento. In: REUNIÃO DA COMISSÃO CENTRO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO, 6, 1988. (s.n.t.)

- EMBRAPA. CENTRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DOS CERRADOS. Competição de cultivares de trigo conduzido pelo CPAC em 1990. (s.n.t.)
- FOY, C.D.; LAFEVER, H.N.; SCHWARTS, J.W.; FLEMING, A.L. Aluminum tolerance of wheat cultivars related to region of origin. *Agronomy Journal* v. 66, p.751-758, 1974.
- GOEDERT, W.J. (Ed.) 1985. Solos dos Cerrados: tecnologias estratégicas de manejo. Planaltina: EMBRAPA-CPAC/São Paulo: Nobel, 1989. 24p.
- IORCZESKI, E.J. 1979. Segregation for aluminum tolerance in wheat. (s.l.): Purdue University, 1979. p.15-17. Tese Mestrado.
- KERRIDGE, P.C.; KRONSTAD, W.E. Evidence of genetic resistance to aluminum toxicity in wheat (*Triticum aestivum*). *Agronomy Journal* v. 60, p.710-711, 1968.
- LAFEVER, H.N.; CAMPBELL, L.G.; FOY, C.D. Differential response of wheat cultivars to aluminum. *Agronomy Journal* v. 69, p.563-568, 1977.
- MAKITA, M.; IORCZESKI, E.J. Studies on cropping season in some leading varieties of wheat in the cerrados, I. Cultivation in the rainy season. Japan. *J.Trop. Agr.* v. 30, p.82-87, 1986.
- MINELLA, E. Aluminum tolerance in barley: Inheritance, chromosome location, genetic relationship of sources of diverse origins, and breeding implications. Ithaca, N.Y: Cornell University, 1989. Tese Doutorado.
- NYACHIRO, V.J.M. Development of aluminum-tolerant bread wheat varieties in Kenya. Wheat for the Nontraditional Warm Areas, CIMMYT 1991. p.491-495,
- POLLE, E.; KONZAC, C.F.; KITTRICK, J.A. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedling roots. *Crop Science* v. 18, p.823-827, 1978.
- SOUZA, C.N.A. 1991. **Reação de cultivares de trigo ao crestamento.** EMBRAPA. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO. Carta particular.
- TAKAGI, H.; NAMAI, H.; MURAKAMI, K. Evaluation of the hematoxylin staining method for detecting wheat tolerance to aluminum. Japan. *J.Breed.* v. 31, p.152-160, 1981.
- TAKAGI, H.; NAMAI, H.; MURAKAMI, K. Aluminum tolerance of registered wheat varieties in Japan. Japan *J.Breed.* v. 33, p.69-75, 1983.

- TANAKA, A. **Solos ácidos e seus usos agrícolas** - situação e futuro, principalmente nos tópicos. (s.l.): Ed. Hakuyu, 1989. 226p.
- VOSE, P.B.; RANDALL, P.J. 1962. Resistance to aluminum and manganese toxicities in plants related to variety and cation exchange capacity. *Nature* v. 196, p.85-86.
- YOSHIDA, T. 1981. Danos de alumínio nas raízes de plantas do cerrado. Relatório Parcial dos Consultores do Projeto de Cooperação em Pesquisa Agrícola nos Cerrados do Brasil(2), JICA 1981. p.10-18.