

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE AGRONOMIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM GENÓTIPOS DE MILHO (*Zea mays* L.)

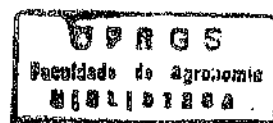
ANA CRISTINA MAZZOCATO

Bióloga (UFSM)

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de Mestre
em Fitotecnia - Área de Concentração Plantas de Lavoura.

Porto Alegre, (RS), Brasil

Maio, 2000



CIP - CATALOGAÇÃO INTERNACIONAL NA PUBLICAÇÃO

M477t Mazzocato, Ana Cristina
Tolerância ao alumínio em genótipos de milho (*Zea mays L.*) / Ana Cristina
Mazzocato. -- Porto Alegre : A.C. Mazzocato, 2000.

xiii, 69f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Faculdade de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre,
2000.

1. Milho : Melhoramento genético vegetal : Comportamento de variedade :
Tolerância ao alumínio. I. Título. I.

CDD: 633.152 3

CDU: 633.15

Catálogo na publicação:

Biblioteca Setorial da Faculdade de Agronomia da UFRGS

ANA CRISTINA MAZZOCATO
Bióloga - UFSM

DISSERTAÇÃO


Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

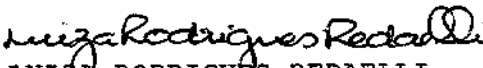
MESTRE EM FITOTECNIA


Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 26.05.2000
Pela Banca Examinadora


Homologado em: 19.06.2000
Por



MARIA JANE CRUZ DE MELO SERENO
Orientadora-PPG-Fitotecnia


LUIZA RODRIGUES REDAELLI
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia


JOSÉ FERNANDES BARBOSA NETO
PPG-FITOTECNIA


ANA LUCIA CUNHA DORNELLES
PPG-Fitotecnia


FERNANDO IRAJÁ FÉLIX DE CARVALHO
UFFEL


SERGIO NICOLAJEWSKY
Diretor da Faculdade
de Agronomia

Dedico este trabalho ao meu noivo Flávio André Pavan por sempre estar presente, mesmo distante em grande parte do meu Mestrado. Aos meus pais Severino e Ereni Mazzocato e meus irmãos Ana Paula e Gustavo Facco Mazzocato que sempre me apoiaram à distância e à memória de meus avós Roberto Mazzocato e Regina Lazzarin Mazzocato e de Araci R. Mazocato.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, especialmente à Faculdade de Agronomia pela oportunidade da realização do curso e ao CNPq pela bolsa concedida.

À professora Maria Jane Cruz de Melo Sereno pela orientação, amizade e pela confiança depositada para a realização deste trabalho.

Ao professor José Fernandes Barbosa Neto pela sua valiosa contribuição, conhecimentos compartilhados e dedicação.

Aos professores da banca examinadora, Ana Lúcia Cunha Dornelles, Fernando Irajá Félix de Carvalho e José Fernandes Barbosa Neto pelas contribuições sugeridas.

Aos demais professores pelos conhecimentos adquiridos durante o curso, imprescindíveis na minha formação acadêmica.

Aos funcionários da Faculdade de Agronomia, principalmente à Marisa pela disponibilidade e compreensão. Agradeço também ao Celso de Andrade Alves pela sua preocupação, amizade e colaboração com o material fotográfico.

Aos professores e colegas dos Laboratórios de Cultura de Tecidos Vegetais, Citogenética e Eletroforese, do Departamento de Genética e Biologia Molecular, pela receptividade e apoio para a realização de mais uma etapa do

trabalho, em especial à professora Helga Winge pela ajuda, amizade e confiança em mim depositadas durante os anos de convivência profissional.

Ao Mozart S. Lauxen por sua amizade e prestatividade na realização da análise citogenética.

À Vanderlise Giongo pelo incentivo e pela troca de experiências, decisivos na realização dos experimentos.

Ao bolsista de Iniciação Científica Leo Duc Haa Carson Schwartzhaupt da Conceição pela sua colaboração e dedicação.

Aos colegas dos Laboratórios do Departamento de Plantas de Lavoura, Caroline Wagner, Caren Regina Cavichioli-Lamb, Dirceu Agostinetto, Édson Perito Amorim, Patrícia R. da Rosa Mairesse de Castro, Paulo Henrique de Oliveira, Paulo Sérgio Rocha, Raquel Barro, Renata Pereira da Cruz e Sérgio dos Anjos e Silva, pelo convívio diário, incentivo e amizade adquirida ao longo do trabalho.

Aos meus amigos e colegas de curso, Cândida B. Cabral, Caren Cavichioli-Lamb, Daniela Zahner Comiran, Leonardo C. Viecelli, Marta M. Barbosa, Melissa R. Kluge, Rosangela Lunardi e Sonia M. L. Schuch pelo apoio e bons momentos compartilhados, principalmente nas longas horas de estudo em Estatística.

Ao Volnei da Silva pela amizade e ajuda na correção do Abstract.

À toda a minha família pelo carinho, fé, amor, incentivo e compreensão pela minha ausência.

A todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização desta dissertação.

TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM GENÓTIPOS DE MILHO (*Zea mays* L.)¹

Autor: Ana Cristina Mazzocato

Orientadora: Maria Jane Cruz de Melo Sereno

RESUMO

O alumínio (Al^{3+}) é um metal abundante na crosta terrestre, ocorrendo principalmente em solos ácidos, tornando-se um problema para o desenvolvimento das culturas. O presente trabalho teve como objetivos identificar uma metodologia eficiente para a discriminação da tolerância ao Al^{3+} em milho; verificar a existência de variabilidade genética em duas populações de polinização aberta e estabelecer parâmetros genéticos para o caráter tolerância à toxicidade do Al^{3+} usando gerações segregantes do cruzamento entre linhagens sensíveis (S) e tolerantes (T). As concentrações de Al^{3+} testadas em solução tratamento foram 0, 2 e 6 mgL^{-1} e as de cálcio (Ca^{2+}) foram 20 e 40 mgL^{-1} . As variáveis utilizadas para discriminar a tolerância ao Al^{3+} foram PL (comprimento inicial da raiz principal), SL (comprimento final da raiz principal), diferença (DIF) entre SL e PL, diferença relativa (DIFR) e peso (PESO) das plântulas após o tratamento. Os resultados obtidos indicam que a melhor combinação para as concentrações de Al^{3+} e Ca^{2+} foi de 6 e 40 mgL^{-1} , respectivamente. A variável DIF demonstrou ser a melhor para discriminar genótipos tolerantes ao Al^{3+} . Foi detectada variabilidade genética nas populações avaliadas, sendo que a Sintético Elite apresenta maior tolerância do que a Tuxpeño. Por outro lado, só foi encontrada variabilidade genética no cruzamento $T_1 \times S_3$ (SR1502 (T)/SH6707 (S)). Os resultados observados no cruzamento $T_1 \times T_2$ (SR1502(T)/CP2523 (T)) indicaram a presença do mesmo gene entre as linhagens. Foi também sugerido o envolvimento de poucos genes com grande efeito e herança do tipo dominância para a sensibilidade ao Al^{3+} . Com base nas análises citogenéticas realizadas não foram observadas diferenças no tratamento com o Al^{3+} .

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia. Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (69p.) - Maio, 2000.

ALUMINUM TOLERANCE IN GENOTYPES OF MAIZE (*Zea mays* L.)¹

Author: Ana Cristina Mazzocato

Adviser: Maria Jane Cruz de Melo Sereno

ABSTRACT

The aluminum (Al^{3+}) is an abundant metal in the crust of the Earth, occurring in acid soils. The present work had as objectives identify a methodology to discriminate Al^{3+} tolerance in maize; verify the existence of genetic variability for the trait in two open-pollination populations and three segregants populations and determine genetic parameters for Al^{3+} tolerance. The concentrations of the Al^{3+} tested in treatment solution were 0; 2 and 6 mgL^{-1} and the calcium (Ca^{2+}) concentrations were 20 e 40 mgL^{-1} . The variables used to discriminate the Al^{3+} tolerance was PL (the main root initial length), SL (the main root final length), difference (DIF) between SL and PL, relative difference (DIFR) and weight (WEIGHT) of the seedlings after treatment. According to the results, the best combination of Al^{3+} and Ca^{2+} were 6 and 40 mgL^{-1} , respectively. The variable DIF showed the best discrimination of Al^{3+} tolerant genotypes. There was genetic variability for the trait in both open-pollinated populations evaluated. Sintético Elite showed higher tolerance level than Tuxpeño. On the other hand, genetic variability could only be found on F_2 generation of the cross $T_1 \times S_3$ (SR1502 (T)/SH6707 (S)). The results obtained in the cross $T_1 \times T_2$ (SR1502(T)/CP2523 (T)) suggested that the same gene for tolerance was present in both inbreds. It was suggested the presence of few genes with effect large and the presence of dominance to Al^{3+} sensibility. Based on cytogenetic analysis carried out, differences have not been observed in Al^{3+} treatment.

¹ MSc. Dissertation in Agronomy. Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (69p.) - May, 2000.

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
RELAÇÃO DE TABELAS.....	ix
RELAÇÃO DE FIGURAS.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Efeitos do alumínio em níveis tóxicos em plantas.....	4
2.2. Relações do alumínio com outros elementos químicos.....	8
2.3. Mecanismos de tolerância à toxicidade do Al ³⁺	10
2.4. Tolerância ao alumínio em milho.....	12
2.5. Herança da tolerância à toxicidade do alumínio.....	14
2.6. Relação entre tolerância ao alumínio e estabilidade cromossômica.....	16
2.7. Métodos de avaliação para a tolerância ao alumínio.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1. Adequação da técnica para avaliar a tolerância ao alumínio em milho.....	23
3.1.1. Desinfestação e Germinação das sementes de milho.....	24
3.1.2. Ensaio para avaliação da melhor combinação de Al ³⁺ e Ca ²⁺	25
3.2. Avaliação da variabilidade genética da tolerância ao alumínio nas populações Tuxpeño e Sintético Elite.....	27
3.3. Avaliação da variabilidade genética da tolerância ao alumínio nas gerações F ₁ e F ₂	29
3.4. Análise Citogenética.....	32
3.4.1. Coleta das raízes.....	32
3.4.2. Pré-tratamento e fixação das raízes.....	32
3.4.3. Coloração do material.....	33
3.4.4. Confecção das lâminas de mitose.....	34

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1. Adequação da técnica para avaliar a tolerância ao alumínio em milho	35
4.2. Avaliação da variabilidade genética da tolerância ao alumínio nas populações Tuxpeño e Sintético Elite	43
4.3. Avaliação da variabilidade genética da tolerância ao alumínio nas gerações F ₁ e F ₂	51
4.4. Análise Citogenética	55
5. CONCLUSÕES.....	60
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

RELAÇÃO DE TABELAS

Páginas

1. Resumo da análise de variância para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL) e DIFR (PL/DIF) medidos em dois híbridos de milho submetidos a diferentes concentrações de Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 36
2. Médias para PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL) e DIFR (PL/DIF) medidos em dois híbridos de milho submetidos a três concentrações de Al^{3+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 39
3. Médias para PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e DIFR (PL/DIF) em dois híbridos de milho submetidos a diferentes concentrações de Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 41
4. Coeficiente de correlação linear entre as variáveis PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e DIFR (PL/DIF) em dois híbridos de milho submetidos a diferentes concentrações de Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 42

5. Médias e variâncias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e PESO (peso de plântula após ensaio em solução tratamento) nas testemunhas Tolerante (C929) e Sensível (P32R21) ao Al^{3+} na população Tuxpeño. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 46
6. Médias e variâncias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e PESO (peso de plântula após ensaio em solução tratamento) nas testemunhas Tolerante (C929) e Sensível (P32R21) ao Al^{3+} na população Sintético Elite. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 47
7. Resumo da análise de variância para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e PESO (peso de plântula após ensaio em solução tratamento) medidos em duas populações de milho submetidas a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 48
8. Médias e variâncias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e PESO (peso de plântula após ensaio em solução tratamento) em duas populações de milho submetidas a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 49
9. Variâncias genética (VG), fenotípica (VP) e de ambiente (VE) e herdabilidade (h^2) para as populações Tuxpeño e Sintético Elite submetidas a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 51

10. Médias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm) e DIF (diferença entre SL e PL - cm) das gerações F₁ e F₂ de três cruzamentos de linhagens de milho submetidos a solução tratamento com Al³⁺ e Ca²⁺. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 52
11. Variâncias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm) e DIF (diferença entre SL e PL - cm) das gerações F₁ e F₂ de três cruzamentos de linhagens de milho submetidos a solução tratamento com Al³⁺ e Ca²⁺. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 53
12. Variâncias genética (VG), fenotípica (VP) e de ambiente (VE) e herdabilidade (h²) para três cruzamentos de linhagens de milho submetidos a solução tratamento com Al³⁺ e Ca²⁺. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 53
13. Análise citogenética de células de pontas de raízes de milho com e sem divisão mitótica submetidas a solução tratamento com Al³⁺ e Ca²⁺ e teste do χ^2 . Departamento de Genética/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 56

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Páginas
1. Visão geral do tanque de banho-maria com a disposição dos potes com solução de Al^{3+} e Ca^{2+} em plântulas de milho. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.....	26
2. Esquema geral de avaliação para a tolerância ao Al^{3+} em milho. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.....	31
3. Germinação das sementes dos híbridos de milho (a) C929 (tolerante) e (b) P32R21 (sensível). Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.....	37
4. Desenvolvimento das raízes e parte aérea de plântulas dos híbridos de milho C929 (tolerante) (a) e P32R21 (sensível) (b) com 6 mgL^{-1} de Al na solução tratamento. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.....	40
5. Germinação em rolo de papel das sementes de milho da população Sintético Elite (a), dos híbridos C929 (tolerante) (b) e P32R21 (sensível) (c). Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.....	44
6. Distribuição de freqüências para os caracteres SL (comprimento final da raiz principal - cm) (a) e DIF (diferença entre SL e PL - cm) (b) para as populações de milho Tuxpeño e Sintético Elite submetidas a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.....	50

7. Distribuição de frequências para o caráter DIF (diferença entre SL - comprimento final da raiz principal e PL - comprimento inicial da raiz principal) em três cruzamentos de linhagens de milho (^A SR1502(T)/CP2523(T); ^B SR1502(T)/SH6707(S) e ^C SH4216(S)/SH4103(S)) submetidos a solução tratamento com Al³⁺ e Ca²⁺. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 54
8. Célula de ponta de raiz de uma plântula de milho do híbrido C929 (tolerante) em processo de mitose contendo o número de cromossomos característicos da espécie, 2n = 20. Departamento de Genética/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 57
9. Célula de ponta de raiz de uma plântula de milho do híbrido P32R21 (sensível) em processo de mitose apresentando aderência cromossômica (setas). Departamento de Genética/UFRGS, Porto Alegre, 1999..... 59

1. INTRODUÇÃO

A cultura do milho possui significativa importância sócio-econômica para o estado do Rio Grande do Sul, ocupando aproximadamente 27% do total das áreas semeadas com cultivos de grãos de primavera-verão, estando presente em 380.656 propriedades rurais, das quais 78% têm menos de 50 hectares. No Brasil, o milho apresenta uma forte dispersão geográfica sendo produzido, praticamente, em todo o Território Nacional. Este fato, ao mesmo tempo em que mostra a grande importância social e econômica desse produto, fornece a evidência de que existem grandes variações nas formas de produção, determinadas por condições diferentes de clima e solo.

Nesse contexto, os fatores abióticos são importantes na medida em que podem afetar grandemente a produtividade deste cereal. Entre eles, a presença de alumínio em níveis tóxicos é um dos fatores mais limitantes à agricultura. O alumínio (Al^{3+}) é um metal abundante na crosta terrestre, ocorrendo, principalmente, em solos ácidos. A acidez do solo é uma importante causa de indisponibilidade de nutrientes em solos tropicais, sendo que o milho se desenvolve em aproximadamente oito milhões de hectares destes solos. Portanto, em solos com pH menor do que 5,5 a produtividade de milho diminui devido à toxicidade de Al^{3+} e manganês (Mn^{2+}) e à deficiência de cálcio (Ca^{2+}), magnésio

(Mg^{2+}), fósforo (P^{2+}) e molibdênio (Mo^{2+}). Em tais solos, o desenvolvimento de raízes é inibido e a absorção de água e outros nutrientes é reduzida.

A utilização de corretivos de acidez do solo nem sempre é uma técnica viável sob o ponto de vista técnico e econômico, principalmente considerando os custos crescentes dos processos de obtenção, transporte e aplicação desse insumo. A incorporação de calcário abaixo da camada arável é mais eficiente para o desenvolvimento do milho, já que é considerado uma planta sensível por ter dificuldade em aprofundar as raízes além da camada corrigida pelo calcário. No entanto, a combinação da técnica de calagem com a semeadura de cultivares tolerantes ao Al^{3+} parece ser uma excelente alternativa. Assim sendo, a identificação de genótipos tolerantes a este metal assume grande importância nos programas de melhoramento visando a adaptação a solos com elevada acidez e com problemas de excesso de Al^{3+} . Como consequência, a análise da variabilidade genética existente em genótipos de milho, a identificação de plantas tolerantes e o estudo da herança desse caráter são aspectos fundamentais para a seleção, caracterização e desenvolvimento de novos genótipos superiores.

Sendo assim, os objetivos do presente trabalho foram:

- Identificar uma metodologia eficiente para a discriminação da tolerância à toxicidade do Al^{3+} em milho;
- verificar a existência de variabilidade genética para a referido caráter em duas populações de polinização aberta e em três populações segregantes;
- determinar parâmetros genéticos para o caráter tolerância à toxicidade do Al^{3+} em milho com a finalidade de aumentar a eficiência da seleção.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A presença de alguns elementos químicos no solo, principalmente quando em excesso, podem afetar as plantas de modo geral, provocando sintomas como crescimento reduzido e menor rendimento devido a seus efeitos tóxicos, podendo induzir quebras e alterações cromossômicas e também, mutações gênicas.

Como consequência, o estudo da contaminação de solos e águas por metais tem despertado grande interesse de pesquisadores, devido ao efeito cumulativo e à toxicidade destes poluentes. O aumento da concentração de metais em plantas causam vários efeitos danosos, dentre estes, o retardo do crescimento, resultando em plantas atrofiadas. A absorção e o acúmulo de metais em diferentes partes da planta afetam células e suas organelas, nos níveis morfológico, citogenético e fisiológico, prejudicando seu desenvolvimento, principalmente da parte radicular (Zanella, 1987; Kumar et al., 1995; Wagatsuma et al., 1995).

Entre esses elementos está o alumínio, e sua toxicidez normalmente ocorre em solos com pH abaixo de 5,5, uma vez que a disponibilidade desse elemento aumenta com a redução do pH (Prioli et al., 1985).

A toxicidez causada pelo Al^{3+} foi observada por vários autores (Foy, 1974), primeiramente na década de 20. Muitos pesquisadores não sabiam ao certo o que

provocava os sintomas nas plantas (principalmente queima ou morte das pontas das folhas). Atualmente não há mais dúvidas de que o alumínio trocável, em altas concentrações, causa toxicidade em plantas, fenômeno denominado de crestamento em trigo (Nodari, 1980).

2.1 – Efeitos do alumínio em níveis tóxicos em plantas

O alumínio é um elemento bastante reativo no solo (Haug, 1984). Em condições de pH baixo, o Al^{3+} permanece ligado aos minerais de argila, sendo dissolvido na solução do solo e ficando disponível às raízes (Rincón & Gonzales, 1992). Nessas condições ele é denominado de alumínio tóxico (Zanella, 1987). O pH e a quantidade do metal presente no solo não são os únicos responsáveis pela toxicidade do Al^{3+} , uma vez que solos ricos em matéria orgânica possuem agentes quelantes de metais na sua fração orgânica, o que minimiza a toxicidade do íon Al^{3+} (Haug, 1984).

A ocorrência de solos ácidos é um fator importante na agricultura mundial. Os solos dos trópicos e subtropicais úmidos, normalmente, sofrem intensa lixiviação de bases, com conseqüente aumento de acidez. Esse fato condiciona a presença de elementos trocáveis (Al^{3+} e Mn^{2+}) em níveis que podem ser tóxicos ou influenciar a retenção e disponibilidade de cátions e ânions trocáveis, alterando o rendimento das culturas (Foy et al., 1978; Pandey et al., 1995).

Existem alternativas para o aproveitamento de solos ácidos: (1) calagem a grandes profundidades para correção da acidez; (2) calagem superficial; (3) melhoramento para aumentar a tolerância de genótipos ao Al^{3+} ; (4) combinação

dos itens 2 e 3, isto é, correção do solo associada ao melhoramento genético de plantas (Prioli et al., 1985).

Do ponto de vista agrônômico, as diferenças no uso eficiente de nutrientes entre as espécies vegetais são definidas pelo desenvolvimento relativo ou no rendimento final, quando existem limitações de um ou mais nutrientes inorgânicos em solos ou soluções nutritivas (Marschner, 1986). A diferença de tolerância ao Al^{3+} é manifestada no sistema de raízes, sendo que a toxicidade é mais pronunciada nos primeiros estádios de desenvolvimento das plantas (Rorison, 1958). De maneira geral, o aumento na concentração de alumínio deprime o sistema de raízes e, em consequência, há um diferencial de produção de matéria seca de raízes entre os genótipos.

Vários são os sintomas das injúrias causadas pelo Al^{3+} . Em algumas plantas os sintomas nas folhas lembram a deficiência de P^{2+} , em outras, a deficiência de Ca^{2+} ou ainda de Fe^{3+} . As raízes danificadas pelo Al^{3+} apresentam um desenvolvimento característico nas extremidades, sendo que a região meristemática das raízes principais e laterais engrossa e tem uma coloração mais escura, sendo estas ineficientes na absorção de nutrientes e água. Quanto aos efeitos fisiológicos do Al^{3+} , tem sido demonstrado que esse elemento interfere na divisão celular, fixa o P^{2+} em formas menos disponíveis às plantas, diminui a respiração da raiz, interfere com enzimas responsáveis pela deposição de polissacarídeos na parede celular, aumenta a rigidez da parede celular e interfere com a absorção, transporte e uso de alguns elementos químicos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , P^{2+} , K^{2+}) e água; além disto, o Al^{3+} tem a capacidade de precipitar ácidos nucleicos (Foy et al., 1978).

Foi verificado que a absorção do Al^{3+} ocorre inicialmente nas células da capa da ponta da raiz, movendo-se após para as células de camadas adjacentes. Como consequência, o excesso de Al^{3+} reduz a replicação de DNA (Bennet & Breen, 1991). A inibição do crescimento da raiz tem sido considerada como o resultado de distúrbios na divisão celular de sua região meristemática, sendo que o elemento cálcio poderia também ser um fator envolvido nessa interrupção da mitose (Nichol e Oliveira, 1995).

Naidoo et al. (1978) localizaram os sítios de acumulação do Al^{3+} nas raízes de duas cultivares de *Phaseolus vulgaris* L., uma tolerante e outra sensível, e em uma cultivar sensível de *Gossypium hirsutum* L., desenvolvidas em solução nutritiva com 20 ppm de Al^{3+} durante 12 dias. Os autores observaram que o Al^{3+} e o P^{2+} co-precipitaram dentro e fora das células mais externas da cápsula da raiz. Nas células meristemáticas a concentração mais elevada do metal foi encontrada no núcleo. Portanto, os autores sugeriram a existência de dois mecanismos independentes de inibição do crescimento das raízes tratadas com o Al^{3+} : o primeiro seria consequência da precipitação do Al^{3+} com o P^{2+} na superfície das raízes, diminuindo a disponibilidade do P^{2+} ; no segundo, o metal atuaria interferindo em funções metabolicamente importantes, como na replicação dos ácidos nucleicos.

Para explicar a tolerância diferencial ao Al^{3+} em duas cultivares de cevada, uma tolerante e outra sensível, Hecht-Buchholz & Foy (1981) utilizaram solução nutritiva com 9 ppm de Al^{3+} , verificando que a cultivar sensível demonstrava sintomas característicos na estrutura celular antes (24 h) da cultivar tolerante (2-4

dias), sendo explicado pela maior tolerância da membrana plasmática ao estresse de Al^{3+} pela cultivar tolerante.

Matsumoto et al. (1976), Morimura & Matsumoto (1978) e Matsumoto & Morimura (1980) registraram em raízes de ervilha redução na síntese de RNA e DNA e maior condensação da cromatina. Os autores sugeriram que polímeros de alumínio (Al^{3+}), fazendo ligação com grupos fosfatos dentro e entre duplas fitas de DNA, levariam à estabilização da molécula. Os autores ainda especularam que a ligação do Al^{3+} com o P^{2+} do DNA ocorreria na cromatina transcricionalmente ativa, ocasião em que há deslocamento parcial das histonas.

Ainda com relação aos efeitos do Al^{3+} na síntese do DNA, Sampson et al. (1965) estudando raízes de cevada com divisão celular alterada pelo tratamento com o referido íon, constataram que a síntese de DNA continuava; entretanto, o tipo de DNA sintetizado tinha uma composição de bases incomuns e era metabolicamente lábil. Uma porção deste DNA lábil era encontrado formando um composto híbrido de DNA genético e DNA lábil. Wallace & Anderson (1984) com o objetivo de documentar alguns problemas decorrentes da exposição ao Al^{3+} em raízes de duas cultivares sensíveis de trigo, verificaram que a inibição no crescimento da raiz induzida pelo metal precedia qualquer efeito mensurável na síntese de DNA. Conseqüentemente, o Al^{3+} teria dois efeitos em cultivares sensíveis: uma rápida inibição do crescimento radical seguido pela inibição da síntese de DNA.

Fiskesjö (1983) observou, em raízes de *Allium cepa* L. expostas ao Al^{3+} , a desintegração e extrusão do material nucleolar do núcleo para o citoplasma, em

algumas células das zonas afetadas. Este fenômeno indica um efeito específico do Al^{3+} nos nucléolos de certas células das raízes.

Com o objetivo de identificar o local específico principal para a toxicidade ou a tolerância ao Al^{3+} em células de raízes de ervilha, milho e arroz, Wagatsuma et al. (1995) verificaram uma grande destruição celular nas regiões com alto acúmulo de Al^{3+} , ou seja, nas pontas das raízes. A ordem para o acúmulo de Al^{3+} nesta região das plantas foi ervilha > milho > arroz, sendo considerada a mesma para a sensibilidade ao Al^{3+} . Os autores observaram também, que os protoplastos das pontas de raízes de ervilha incubados com Al^{3+} mostravam uma superfície enrugada e irregular. Estes resultados sugeriram que o local específico para a toxicidade do Al^{3+} era a membrana plasmática de células jovens ou externas das raízes e que a tolerância ao Al^{3+} dependia muito da integridade desta membrana.

2.2 – Relações do alumínio com outros elementos químicos

A presença do Al^{3+} em solos ácidos reduz a absorção de diversos nutrientes nas plantas, principalmente Ca^{2+} e P^{2+} . A interação Al^{3+} - P^{2+} ao nível de raízes provoca redução no transporte do P^{2+} para a parte aérea (Clarkson, 1966). Quanto ao Ca^{2+} , um dos mecanismos da redução de absorção pode estar associado à destruição ou inibição da formação de tecidos novos, que são mais eficientes na absorção e transporte de Ca^{2+} (Kirkby, 1979).

Neste sentido, Andrade (1976) demonstrou que a razão $\text{Al}^{3+}/\text{Ca}^{2+}$ possui uma importante influência na expressão de fenótipos sensíveis, salientando que esta relação era extremamente importante na separação de genótipos de diferentes reações à toxicidade de Al^{3+} , o que posteriormente foi comprovado por

Camargo (1978). Da mesma forma, Nodari (1980) concluiu que a relação Al^{3+}/Ca^{2+} parecia ser a principal causa de ambiente determinante da diferenciação do tipo de reação das plantas à toxicidade de Al^{3+} .

Foy et al. (1978), revisando a fisiologia da toxicidade de metais em plantas, citaram trabalhos em que os autores não separaram a toxicidade do Al^{3+} por si só da toxicidade do metal como indutor da deficiência de cálcio. Assim, a tolerância ao Al^{3+} em certas cultivares de soja, trigo, cevada e feijão estaria associada à habilidade da planta de suportar deficiência ou redução no transporte de cálcio.

Foi verificada uma redução do efeito tóxico do Al^{3+} pela aplicação de Ca^{2+} , bem como a não transferência da ação tóxica do Al^{3+} para a porção basal da raiz de milho, salientando que para o contínuo crescimento de raiz era exigido um suprimento permanente de Ca^{2+} da solução externa (Canal & Mielniczuk, 1983a). Os mesmos autores Canal & Mielniczuk (1983b) também observaram que o aumento de Ca^{2+} na solução de 20 para 40 ppm contribuiu para o aumento do comprimento de raiz, tanto no tratamento com Al^{3+} como no sem Al^{3+} .

Foram observadas diferenças entre cultivares de trigo quanto aos teores de Ca^{2+} , Zn^{2+} e Mn^{2+} na parte aérea, e de P^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{3+} , no sistema radical, na presença de Al^{3+} , sendo que a tolerância diferencial ao Al^{3+} entre as duas cultivares parece estar relacionada com a absorção e translocação não apenas de P^{2+} , mas também de outros nutrientes (Alves et al., 1988).

Também em trigo, Huang et al. (1992) observaram que o Al^{3+} bloqueava os canais de entrada do Ca^{2+} na membrana plasmática das células radicais por uma interação do Al^{3+} com estes canais na face externa da membrana.

Verificando que a relação Al^{3+}/Ca^{2+} era importante, Menosso (1994) utilizou somente concentrações de Al^{3+} e Ca^{2+} para a composição das soluções nutritivas para a detecção da tolerância ao Al^{3+} em soja, mas constatou que a relação utilizada não foi suficiente para amenizar a fitotoxicidade causada pelas concentrações de Al^{3+} .

O Al^{3+} na presença de Ca^{2+} reduzia significativamente o comprimento da maior raiz (CMR) apenas no híbrido de milho sensível. Por outro lado, no híbrido tolerante, os autores observaram uma redução apenas na ausência de Ca^{2+} . Esse fato demonstra a importância do Ca^{2+} na tolerância das plantas ao Al^{3+} (Cabraia & Cabraia, 1995).

2.3 - Mecanismos de tolerância à toxicidade do Al^{3+}

A distribuição subcelular de Al^{3+} é o aspecto fundamental na reação a toxicidade das plantas (Aniol, 1984). Segundo o autor, existe um mecanismo de tolerância ao alumínio ligado à síntese de proteínas presentes em genótipos sensíveis e tolerantes. Em genótipos tolerantes, este mecanismo atua com maior eficiência, permitindo um incremento no acúmulo de alumínio nos componentes celulares da raiz. A continuação da divisão celular e do alongamento, a modificação do ambiente radical e a redução do alumínio disponível são características apresentadas por plantas tolerantes quando colocadas em condições de estresse por alumínio (Fleming & Foy, 1968).

Os mecanismos de tolerância ao alumínio ainda não estão totalmente elucidados. Foy et al. (1978) indicaram que estes mecanismos poderiam ser distintos conforme a espécie vegetal, sendo controlados por genes envolvidos em

diferentes processos bioquímicos. As plantas que manifestam tolerância ao Al^{3+} têm a capacidade de eliminá-lo após ser absorvido (Foy & Fleming, 1978). A exclusão do Al^{3+} e a detoxificação do interior das raízes têm sido propostos por Foy (1988) como mecanismos que determinam a tolerância ao elemento nas plantas.

Rincón & Gonzalez (1992), trabalhando com raízes intactas de trigo, após 24 h de exposição ao alumínio, observaram a distribuição deste elemento ao longo da raiz, concluindo que a sensibilidade diferencial ao alumínio estava correlacionada com sua concentração nos meristemas. Esta observação reforça a hipótese de que parte do mecanismo de tolerância ao alumínio em trigo está baseado em uma exclusão metabólica do alumínio dos meristemas de plantas sensíveis.

Segundo Menosso (1994), entre os mecanismos propostos para a tolerância ao Al^{3+} , a capacidade das raízes de produzirem diferentes ácidos alifáticos di e tricarboxílicos tem se destacado por sua grande importância, sendo que a variabilidade entre genótipos poderia ser medida pela concentração de ácidos orgânicos no sistema radical ou na solução.

Em vários casos, a tolerância ao Al^{3+} tem sido correlacionada com a capacidade de liberação de ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, que pode quelar ao Al^{3+} no exterior da membrana plasmática, prevenindo a absorção. Neste sentido, Fuente et al. (1997) utilizaram técnicas moleculares com o objetivo de verificar se o aumento da síntese do citrato e sua liberação em plantas transformadas de tabaco e papaia conferia tolerância ao Al^{3+} . Os autores verificaram um aumento significativo de síntese de citrato nas plantas

transformadas e também, uma menor concentração de hematoxilina nas raízes destas plantas, indicando que nas plantas transformadas a absorção do Al^{3+} foi menor. Também, indicaram que os ácidos orgânicos diminuíram os efeitos tóxicos do Al^{3+} em cultura *in vitro* e o ácido cítrico foi mais eficiente do que o ácido succínico ou ácido málico.

2.4 - Tolerância ao alumínio em milho

Muitos estudos sobre tolerância à acidez do solo em milho envolvem o efeito do Al^{3+} no desenvolvimento das raízes, geralmente em solução nutritiva. A toxicidade do Al^{3+} é raramente o único fator responsável para a baixa produção de milho em solos ácidos. Toxicidades e deficiências causadas por vários elementos, incluindo Al^{3+} , interação entre eles, e interações entre esses elementos e a matéria orgânica constitui um complexo que reduz a produção de milho em solos ácidos (Duque-Vargas et al., 1994). Clark e Brown (1974) verificaram diferentes respostas a níveis de alumínio e fósforo em linhagens de milho. Os trabalhos desenvolvidos por Bahia Filho et al. (1978) mostraram a grande variabilidade genética para a tolerância à elevada acidez no milho, o que também foi constatado por Gorsline et al. (1964), Lutz et al. (1971), Reid (1976), Lewis (1976) e Naspolini Filho et al. (1981).

Pintro et al. (1995) relataram que as concentrações de Al^{3+} foram menores na parte aérea das plantas de milho e os efeitos da toxicidade foram mais evidentes nas raízes, sendo que a cultivar tolerante demonstrou um menor transporte de Al^{3+} das raízes para a parte aérea. Da mesma forma, Machado e Pereira (1990) observaram que em cultivares de milho sensíveis, o Al^{3+} causava

queda de 20% na produção fotossintética bruta, enquanto que nas tolerantes tal efeito era desprezível. Sob estresse de Al^{3+} , em todas as cultivares, a respiração da planta, das raízes e da parte aérea foram menores, em comparação às plantas sem estresse.

Foi observado por Prioli et al. (1985) que a seleção para tolerância à toxicidade do Al^{3+} influenciava na estatura da planta, no comprimento da radícula e no comprimento da raiz nodal, em solução nutritiva. Em condições de campo, a análise de regressão linear simples, em função do nível de Al^{3+} , revelou que a seleção teve efeito sobre a estatura da planta, altura da espiga, número de plantas acamadas e número de folhas acima da espiga. Na avaliação de populações de milho, Lopes et al. (1987) concluíram que a percentagem de crescimento relativo da raiz seminal (CRRS) discriminava genótipos tolerantes de não tolerantes. Peso de matéria seca da parte aérea (MSPA) e sistema radicular (MSSR) foram ineficientes para este fim.

Na presença de Mg^{2+} , Cambraia & Cambraia (1995) verificaram que o Al^{3+} reduziu significativamente o CMR (comprimento da maior raiz) apenas no híbrido sensível. No híbrido tolerante foi observada uma redução dos efeitos tóxicos do Al^{3+} nos dois níveis de Mg^{2+} estudados. Essa ação protetora do Mg^{2+} já foi constatada por Rhue & Grogan (1977) e Furlani & Clark (1981), e, possivelmente, resulta da competição entre o Mg^{2+} e o Al^{3+} por sítios de ligação na membrana. Os autores constataram ainda que o método utilizado, baseado na medida do CMR, permitia avaliar plantas de milho quanto à tolerância ao Al^{3+} , de modo simples, rápido e confiável.

Embora os mecanismos de tolerância ao excesso de alumínio em milho não sejam bem entendidos, uma planta tolerante deve prevenir a absorção do excesso de alumínio ou detoxificar o Al^{3+} que é absorvido (Pandey et al., 1995). O primeiro mecanismo envolve exclusão de Al^{3+} da zona meristemática da raiz de milho. Alguns genótipos de milho tolerantes ao alumínio aumentam o pH através de sua secreção, reduzindo a solubilidade ao Al^{3+} ao redor das raízes. O segundo mecanismo envolve capacidade de tolerância de genótipos, uma vez que o Al^{3+} penetrou na célula, podendo ter diferentes capacidades para neutralizá-lo. Genótipos tolerantes aumentam a capacidade de enviar o Al^{3+} absorvido para os vacúolos nas células, onde eles ficam relativamente inativos, sendo que o excesso de Al^{3+} inibe a replicação do DNA. Diferenças na permeabilidade do plasmalema e tonoplasto com relação ao Al^{3+} têm sido sugeridas como possíveis causas para tolerância a solos ácidos em milho (Pandey et al., 1995).

2.5 – Herança da tolerância à toxicidade do alumínio

Em várias espécies têm sido detectada variabilidade genética para tolerância ao alumínio. Berzonsky & Kimber (1989) detectaram variabilidade genética estudando mais de 500 genótipos de trigo, sendo que vários autores sugeriram uma herança envolvendo um ou dois genes para esse caráter em trigo (Kerridge & Kronstad, 1968; Nodari et al., 1982). Por outro lado, Lafever et al. (1977), testando diferentes cruzamentos em trigo, obtiveram diversas classes de genótipos tolerantes ao Al^{3+} , indicando um modo de herança complexo para o caráter. Da mesma forma, Aniol (1991) e Delhaize et al. (1993) verificaram que algumas cultivares possuíam uma herança mais complexa, indicando a presença

de vários genes aditivos. Lagos et al. (1991) estudando a genética da tolerância ao Al^{3+} também em trigo, encontraram um gene para este caráter no genótipo BH 1146. A análise monossômica revelou que o gene para a tolerância ao Al^{3+} no referido genótipo estava localizado no cromossomo 4D.

Em estudos com a cultura da aveia, Sánchez-Chacón (1998) demonstrou que a tolerância ao Al^{3+} é geneticamente herdável e controlada por um par de alelos com ação gênica de dominância. Por outro lado, Wagner (1999) identificou dois genes segregando para este caráter, bem como valores médios e altos de herdabilidade.

Pela pressuposição de que a ocorrência de mais de um mecanismo de tolerância possa atuar, poderá ser evidenciado um número de genes maior do que um, desde que os mecanismos sejam controlados por bases genéticas distintas e das possíveis interações entre elas (Nodari et al., 1982).

O modo de herança da tolerância ao Al^{3+} em milho não está bem definido. Prioli et al. (1985) verificaram que o caráter tolerância à toxicidade do alumínio não revelou herança citoplasmática, sendo que a capacidade geral de combinação foi o parâmetro de maior magnitude no estudo de cruzamentos dialélicos entre populações de milho tolerantes e não tolerantes à toxicidade do alumínio, sugerindo efeito de ação gênica aditiva na herança do caráter. Sawazaki & Furlani (1987) observaram alta tolerância ao alumínio em uma das linhagens analisadas para este caráter em milho cateto, sendo que essa alta tolerância foi devida, principalmente, à ação de genes menores, de efeitos genéticos aditivos. Da mesma forma, a herdabilidade no sentido amplo e restrito foi alta, indicando que a seleção de genótipos tolerantes na geração F_2 poderia ser eficiente. Estes

resultados concordam com os dados de Magnavaca (1982), mas deixam dúvidas quanto à existência de um gene maior dominante relatado por Rhue et al. (1978) e Garcia Júnior & Silva (1979), no entanto, não permitem concordar com a hipótese da herança dessa tolerância ser devida a dois genes dominantes complementares (Miranda et al., 1984). Brondani (1993) observou que o caráter tolerância à toxicidade do Al^{3+} era de natureza quantitativa e que haveria ocorrência de interação alélica de dominância, sendo que a análise com marcadores moleculares indicou regiões no cromossomo 2 relacionadas com locos da referida característica. Magnavaca & Bahia Filho (1995) ressaltaram a importância de genes de efeitos aditivos e, em menor escala, dos de dominância, evidenciando que a tolerância ao Al^{3+} é um caráter de herança quantitativa. No entanto, estes autores relataram ainda, que a grande diferença quanto à tolerância entre milhos do Brasil e Estados Unidos permitia especular sobre a presença de um gene maior para tolerância. Sibov et al. (1999) identificaram dois locos ligados à tolerância ao Al^{3+} em milho por marcadores moleculares, indicando que o loco no cromossomo 10 possuía maior efeito e era responsável pela maior parte da variabilidade para o caráter em questão.

2.6 - Relação entre tolerância ao alumínio e estabilidade cromossômica

Clarkson (1965) observou que o alongamento das pontas das raízes de *Allium cepa* era completamente inibido após 6-8 horas de tratamento em solução de sulfato de alumínio, sendo que essa interrupção do alongamento das raízes estava estreitamente correlacionada com o desaparecimento das divisões

mitóticas. Assim sendo, o autor concluiu que algum mecanismo relacionado com a divisão celular era altamente sensível ao Al^{3+} mesmo a uma curta exposição, danificando permanentemente o organismo. Nichol e Oliveira (1995) também relataram que o alumínio, além do cálcio, provocava distúrbios na mitose na região meristemática da raiz de cevada.

Segundo Fiskesjö (1983), sabe-se que o Al^{3+} , mesmo em baixas concentrações, induz certos efeitos tóxicos nos cromossomos, principalmente sob a forma de aderências. Levan (1945) inclui o Al^{3+} entre os metais que causam formação de aderências cromossômicas e pontes anafásicas.

Avaliando o comportamento meiótico em CMP (células-mãe-de-pólen) de plantas da cultivar de trigo Cotiporã que cresceram em solo ácido e em solo corrigido com calcário, Zanella et al. (1984), observaram um aumento de anormalidades cromossômicas em células de plantas cultivadas em solo ácido.

Wallace & Anderson (1984) sugerem que o Al^{3+} teve dois efeitos em cultivares sensíveis de trigo: uma rápida inibição da elongação das raízes seguida por uma inibição da síntese de DNA.

No sul do Brasil, Moraes-Fernandes et al. (1985) observaram uma alta frequência de anormalidades meióticas em trigo, sugerindo efeitos de ambiente como os prováveis causadores dessas anormalidades, em especial o alumínio tóxico (Al^{3+}).

Zanella et al. (1991) verificaram uma série de anormalidades cromossômicas nas CMPs da cultivar PAT-7392 de trigo plantadas em solos ácidos. Entretanto, estas anormalidades diminuíram significativamente à medida que calcário foi acrescentado ao solo. Já com a cultivar CNT-10, as frequências

das irregularidades permaneceram constantes nos quatro níveis de adição de calcário, indicando uma tolerância à toxicidade causada por elementos que estão disponíveis em solos ácidos. Também estudando trigo, Moraes-Fernandes et al. (1991) mostraram que oscilações climáticas drásticas, moléstias fúngicas e viróticas, agrotóxicos e acidez do solo contribuem para aumentar a incidência de anomalias cromossômicas, ressaltando mais uma vez a problemática dos solos ácidos.

Alguns trabalhos em milho têm mostrado a importância do Al^{3+} em causar efeitos danosos em cromossomos de milho. Assim, Caetano-Pereira et al. (1995) determinaram a influência da acidez do solo no comportamento meiótico de micrósporos de milho, sendo o material cultivado em solo ácido e corrigido em dois locais, no Brasil Central e na região Sudeste do país. As análises citogenéticas revelaram a ocorrência de inúmeras anormalidades cromossômicas, que afetam tanto a mitose quanto a meiose, caracterizando-se por intensa fragmentação cromossômica. Verificaram que a frequência de células anormais foi maior em plantas cultivadas em solos ácidos. Em 1996, Caetano-Pereira & Pagliarini observaram também micrósporos de milho com mudanças na morfologia celular, devido novamente à acidez do solo, uma vez que a frequência de células com forma alterada foi maior em plantas crescidas neste tipo de solo.

Desta forma, os estudos citogenéticos relacionados com as alterações observadas na divisão celular, sob condições naturais de cultivo, podem contribuir para a obtenção de informações fundamentais, auxiliando no esclarecimento dos mecanismos envolvidos nos problemas de adaptação da cultura às regiões com

condições estressantes, o que será útil para o melhoramento vegetal (Moraes-Fernandes et al., 1985).

2.7 – Métodos de avaliação para tolerância ao alumínio

Para que o processo de identificação de fontes de tolerância ao excesso de Al^{3+} possa ser realizado, há necessidade de desenvolvimento e utilização de técnicas de avaliação que permitam testar um número elevado de plantas de forma rápida, eficiente e de baixo custo operacional. Os métodos de laboratório, envolvendo hidroponia, parecem os mais viáveis, pois utilizam pouco espaço físico e possibilitam sua aplicação praticamente durante o ano todo, o que permitiria uma aceleração nos programas de melhoramento de cultivares (Furlani & Hanna, 1984).

O uso de solo tem como desvantagens, além do tempo consumido e de sua desuniformidade, a dificuldade de obtenção do substrato adequado, uma vez que solos ácidos com alta toxicidez de Al^{3+} apresentam altas doses de Mn^{2+} . Além disto, solos com níveis de acidez e Al^{3+} elevados o suficiente para a manifestação de injúrias em plantas sensíveis ao Al^{3+} podem também limitar o desenvolvimento de genótipos tolerantes, dificultando o trabalho de seleção (Foy, 1976).

Vários métodos, baseados no uso de solução nutritiva, têm sido desenvolvidos para a avaliação das plantas quanto à tolerância ao Al^{3+} . Em geral, esses métodos permitem a comparação de grande número de espécies e, ou, variedades em pequenas áreas, são rápidos e eficientes, fáceis de conduzir e possibilitam a utilização das plantas após a avaliação dos efeitos tóxicos do Al^{3+} . Além disso, permitem o controle rígido dos fatores associados à toxicidade, como

temperatura, pH, composição da solução nutritiva, dentre outros, evitando assim, a interferência de fatores incontrolláveis do complexo solo. O desenvolvimento de um método rápido para a avaliação de plantas pressupõe a definição de pelo menos dois aspectos: a composição da solução nutritiva e o parâmetro de crescimento a ser avaliado (Cabraia & Cabraia, 1995).

No melhoramento para tolerância ao Al^{3+} , Kerridge et al. (1971); Camargo & Oliveira (1981) e Dornelles et al. (1996) demonstraram que a seleção de genótipos em populações segregantes pode ser realizada eficientemente em condições controladas com a utilização de solução nutritiva. Um método utilizado é a avaliação de raiz (coloração e ramificação), a qual tem sido indicada como mais eficiente do que medidas de parte aérea para a seleção de genótipos tolerantes ao alumínio (Foy, 1976). Lafever et al. (1977) indicaram que o comprimento de raiz era o caráter de melhor correlação com a tolerância ao alumínio. De maneira similar, Andrade (1976) e Ruiz-Torres et al. (1992) também constataram que a avaliação de caracteres de raiz era mais eficiente para a detecção de genótipos tolerantes ao alumínio. Outro método considerado efetivo para a avaliação de tolerância ao Al^{3+} está baseado no peso seco de raízes e parte aérea, nas taxas de crescimento das raízes e parte aérea e no rendimento de grãos; entretanto, esse método é trabalhoso e freqüentemente destrutivo (Fonseca Júnior et al., 1981).

Alguns autores (Dornelles, 1994; Sánchez-Chacón, 1998; Wagner, 1999) utilizaram soluções complexas envolvendo macro e micronutrientes na composição da solução nutritiva para o desenvolvimento de plântulas, como trigo e aveia, respectivamente, para o estudo da tolerância ao Al^{3+} . Entretanto,

Menosso (1994) utilizou somente concentrações de Al^{3+} e Ca^{2+} na composição da solução nutritiva para análises realizadas em soja, demonstrando uma metodologia mais rápida, econômica com relação à quantidade de nutrientes utilizados e ao mesmo tempo, eficiente para detectar a tolerância ao Al^{3+} em soja, que é considerada uma cultura de grãos grandes, como a do milho.

Alguns experimentos já foram conduzidos demonstrando o sucesso desta técnica, como por exemplo o de Brondani (1993) que realizou dois experimentos em solução nutritiva utilizando pais, híbridos F_1 , híbrido Pioneer 3072 como testemunha e F_2 em casa de vegetação. Foram feitos também, estudos com marcadores moleculares. As medidas do comprimento inicial e final da raiz principal das plântulas foram realizadas, calculando o CRRS (comprimento relativo de raiz seminal) através da diferença entre comprimento final e inicial, dividido pelo comprimento inicial. Este cálculo, apesar de avaliar uma importante variável de medida da tolerância, que é o crescimento da raiz em condições de toxicidade de Al^{3+} , deve apenas servir de apoio aos ensaios em nível de campo. Por outro lado, o autor verificou que a solução nutritiva contendo o Al^{3+} tóxico era eficiente para discriminar os indivíduos tolerantes dos sensíveis. Cambraia & Cambraia (1995) utilizaram dois híbridos, um sensível e outro tolerante ao Al^{3+} , que foram submetidos, em solução nutritiva, a diferentes valores de pH. Aos sete dias de cultivo foi avaliado o efeito do Al^{3+} sobre o comprimento da maior raiz (CMR), permitindo avaliar plantas de milho quanto à tolerância ao Al^{3+} , de modo simples, rápido e confiável. Utilizando metodologia semelhante, Martins et al. (1999) testando plântulas de milho de genótipos tolerantes e sensíveis ao Al^{3+} submetidas a solução nutritiva contendo nível tóxico deste elemento,

determinaram os valores de CRRS e CLRS (comprimento líquido de raiz seminal), verificando que quando foram utilizados os valores médios, os dois índices discriminaram com eficiência os materiais tolerantes dos sensíveis. Entretanto, quando foram utilizados os valores para os dois índices obtidos de plantas individuais, foi observada a existência de plantas tolerantes com valores típicos de plantas sensíveis, indicando que a avaliação fenotípica de plantas individuais pelos índices CRRS e CLRS está sujeita a erros significativos, principalmente na caracterização de plantas sensíveis.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi composto por três etapas. A primeira constou da adequação da técnica para avaliação da tolerância ao alumínio em milho, a segunda foi a análise para verificar a variabilidade genética dentro e entre duas populações de polinização aberta de milho e a terceira etapa foi a análise da variabilidade genética entre populações segregantes. Todas as etapas do trabalho foram desenvolvidas no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Departamento de Plantas de Lavoura da Faculdade de Agronomia da UFRGS, sendo que a última etapa também foi desenvolvida na Estação Experimental Agrônômica (EEA – Eldorado do Sul) / UFRGS. Nas duas últimas etapas do trabalho foram realizadas coletas de pontas de raízes para análise citogenética, para verificar se havia ocorrência normal de divisões mitóticas. As análises citogenéticas foram realizadas no Laboratório de Citogenética Vegetal - Departamento de Genética/UFRGS.

3.1 - Adequação da técnica para avaliar a tolerância ao alumínio em milho

Foram utilizados dois híbridos de milho, anteriormente identificados como sensível (P32R21) e outro tolerante (C929) ao Alumínio, para verificar qual a

melhor concentração para diferenciar estes genótipos, em solução tratamento. Os genótipos foram fornecidos pela empresa Cargill Agrícola S.A.

3.1.1 – Desinfestação e Germinação das sementes de milho

Foram realizados vários testes de germinação das sementes, onde foram verificados o tempo de germinação, a diferença entre um genótipo e outro e o tempo e modo de desinfestação.

O hipoclorito de sódio (NaOCl) do produto comercial Mazzarollo (7 a 9% de cloro ativo) foi usado como desinfestante (2,5% do princípio ativo) por 10 e 15 minutos e após foi utilizada água destilada autoclavada para o enxágüe das sementes. Também foi testada a concentração de hipoclorito a 1,8% durante 15 minutos e somente o uso de água destilada autoclavada.

Quanto a germinação, as sementes foram colocadas em placas de Petri forradas com papel germinador e com 10 mL de água destilada. As placas de Petri com cinco sementes de milho permaneceram em câmara de germinação B.O.D. (demanda biológica de oxigênio) durante quatro dias a uma temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz.

Nos últimos ensaios (populações Tuxpeño e Sintético Elite, juntamente com os híbridos C929 (tolerante) e P32R21 (sensível)) foi utilizado o procedimento de germinação onde as sementes foram colocadas enroladas em papel germinador previamente umedecido em água destilada. Foram utilizadas 20 sementes por rolo de papel, num total de 200 sementes por população, sendo estas acondicionadas em sacos plásticos com um furo na parte inferior para a eliminação do excesso de

água e colocados verticalmente em B.O.D. durante dois a três dias com temperatura de 25 - 27 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz.

3.1.2 – Ensaio para avaliação da melhor combinação de Al^{3+} e Ca^{2+}

Foi realizado um ensaio para avaliar a melhor combinação das concentrações de cálcio e alumínio. As soluções foram preparadas de acordo com as concentrações de Al^{3+} , sob a forma de $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ e Ca^{2+} , $CaCl_2 \cdot 2H_2O$. O Alumínio, foi utilizado nas concentrações 0 mgL^{-1} , 2 mgL^{-1} e 6 mgL^{-1} e o Cálcio, com concentrações de 20 mgL^{-1} e 40 mgL^{-1} . Para todas as soluções foi utilizada água destilada em potes contendo 8,8 L. As soluções estoque foram acondicionadas em garrafas plásticas de 2 L na ausência de luminosidade, preparadas com antecedência para sua homogeneização. O pH de todas soluções foi ajustado com pHmetro na faixa de 4,2 a 4,6, utilizando NaOH ou $H_2SO_4\ 1N$.

Após a germinação, as plântulas de milho dos híbridos C929 (tolerante) e P32R21 (sensível) foram colocadas sobre uma tela plástica (2,5 mm X 2,5 mm) adaptada à tampa de um pote contendo solução (8,8 L), de modo que as raízes ficassem em contato com a mesma. Os potes com solução foram colocados no tanque de banho-maria, com as dimensões 2,00 m x 1,00 m x 0,40 m (Figura 1) e iluminação artificial com quatro lâmpadas fluorescentes e duas incandescentes de 100W. A água foi mantida a 25 °C com auxílio de resistências e ar condicionado instalado na sala do laboratório, e as soluções foram aeradas continuamente com auxílio de bombas de aquário.

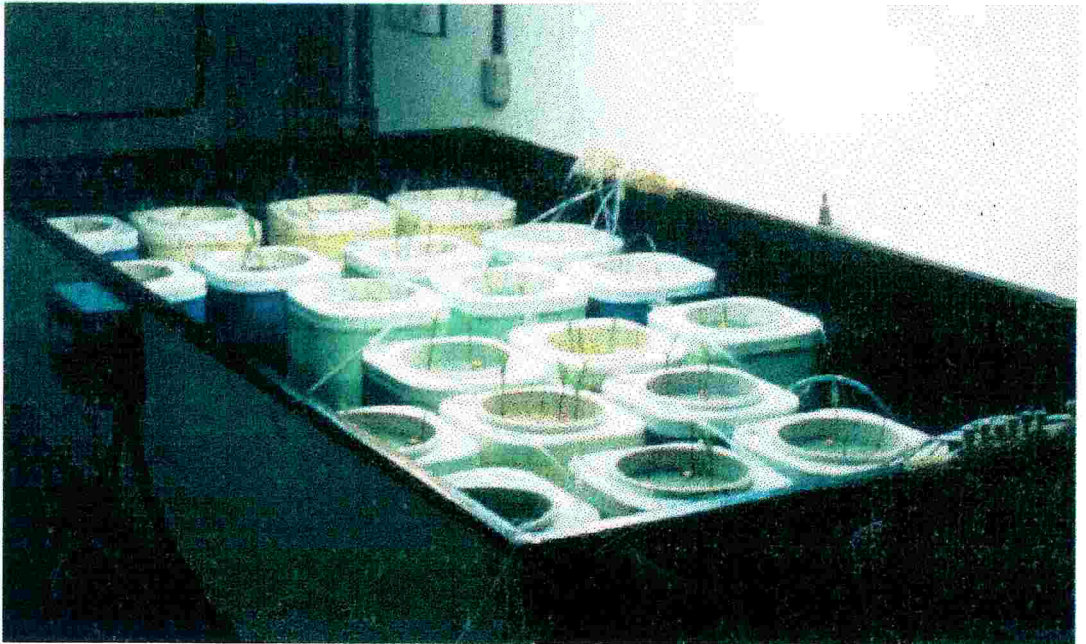


FIGURA 1 – Visão geral do tanque de banho-maria com a disposição dos potes com solução de Al^{3+} e Ca^{2+} em plântulas de milho. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.

Foram feitas medidas iniciais do comprimento da raiz principal (cm), denominada de primeira leitura (PL), com um total de 72 plântulas e 24 potes (três plântulas por tela), sendo que 12 potes continham 20 mgL^{-1} de cálcio e os outros 12 continham 40 mgL^{-1} de cálcio, combinados, com as três concentrações de Al^{3+} . Após 48 horas em solução nutritiva todos os potes foram trocados por soluções com água destilada e cálcio, permanecendo por mais 48 horas, onde foi realizada a medida do comprimento final da raiz principal, denominada de segunda leitura (SL).

Os potes com solução nutritiva foram dispostos no tanque de banho-maria segundo o delineamento completamente casualizado (DCC) com três repetições (três plântulas por pote), sendo considerado o pote como unidade experimental.

Os caracteres avaliados, em cm, foram comprimento inicial da raiz principal – primeira leitura (PL), comprimento final da raiz principal – segunda leitura (SL), diferença (DIF) entre PL e SL e comprimento relativo da raiz principal – diferença relativa (DIFR), através do cálculo DIF/PL.

Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS (SAS Institute, 1988), onde foi realizada a análise de variância utilizando uma significância de 5% de probabilidade. Foram calculadas também as médias para PL, SL, DIF e DIFR, pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade e as correlações (r) entre as variáveis.

3.2 – Avaliação da variabilidade genética da tolerância ao alumínio nas populações Tuxpeño e Sintético Elite

Foram avaliadas as populações Tuxpeño e Sintético Elite, provenientes da EMBRAPA – CNPMS (Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo) utilizadas para a identificação de variabilidade genética para a tolerância ao Alumínio dentro e entre populações em solução tratamento.

A avaliação em solução tratamento foi realizada no laboratório utilizando as concentrações de 6 e 40 mgL^{-1} de alumínio e cálcio, respectivamente, que mostrou ser a melhor combinação das concentrações utilizadas no ensaio anterior, conforme item 3.1.2. Os híbridos de milho tolerante (C929) e sensível (P32R21) utilizados no ensaio anterior serviram de testemunha para a comparação dos resultados obtidos após análise das plântulas em solução tratamento.

As sementes de milho das populações anteriormente citadas foram desinfestadas e germinadas conforme descrito no item 3.1.1. Após a germinação

foram feitas as medidas iniciais do comprimento da raiz principal (PL). Posteriormente, quatro plântulas de cada genótipo foram colocadas sobre uma tela plástica. Os híbridos que serviram de testemunha foram dispostos em dois potes, contendo solução com concentrações idênticas à população testada. Em cada pote foram dispostas duas plântulas do híbrido tolerante e duas do híbrido sensível. Todo o material permaneceu por 48 horas, sendo após feita a troca de solução tratamento dos potes por solução com cálcio, ficando por mais 48 horas, onde era realizada a medida final do comprimento da raiz principal (SL).

As plântulas também foram pesadas em balança digital e as raízes coletadas para a análise citogenética.

Os potes contendo 8,8 L de solução tratamento foram dispostos em um tanque de banho-maria segundo o delineamento completamente casualizado (DCC), com quatro plântulas por pote, sendo considerado o pote como unidade experimental.

Os caracteres avaliados, em cm, foram comprimento inicial da raiz principal – primeira leitura (PL), comprimento final da raiz principal – segunda leitura (SL), diferença (DIF) entre PL e SL e peso das plantas após solução tratamento (PESO).

Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS (SAS Institute, 1988), onde foram obtidas as médias e variâncias para PL, SL, DIF e PESO e verificada a significância pelo teste t e F, respectivamente, ao nível de 5% de probabilidade. Também foram realizadas distribuições de frequências, calculadas as variâncias genotípica, fenotípica e de ambiente e estimada a herdabilidade para a característica tolerância ao Al em milho, segundo Allard (1960). A variância de

ambiente (VE) foi calculada pela média dos híbridos utilizados como testemunhas (considerados como genótipos fixos), sendo que a variância genética (VG) foi extraída da diferença entre as variâncias fenotípica (VP) e de ambiente e calculada a herdabilidade segundo a fórmula:

$$h^2 = \frac{VG}{VP}$$

3.3 - Avaliação da variabilidade genética da tolerância ao alumínio nas gerações F₁ e F₂

Além dos genótipos anteriores, também foram avaliados três genótipos de milho da geração F₁ oriundos de cruzamentos entre linhagens tolerantes (T) e sensíveis (S): 1 - SR1502(T)/ CP2523 (T), 2 - SR1502 (T)/ SH6707 (S) e 3 - SH4216(S)/ SH4103(S) com as respectivas F₂ para o estudo da variabilidade e da herança genética para a tolerância à toxicidade do Al em milho. Estes genótipos foram cedidos pela Empresa Cargill Agrícola S.A. Foram utilizados como testemunhas os híbridos tolerante (C929) e sensível (P32R21) ao Alumínio.

Para a obtenção da geração F₂ foram plantados os três híbridos simples de milho (F₁) SR1502(T)/ CP2523 (T), 2 - SR1502 (T)/ SH6707 (S) e 3 - SH4216(S)/ SH4103(S) na Estação Experimental Agronômica / UFRGS, em janeiro de 1999, dispostos em duas linhas cada, para o avanço de gerações. Foi feita a capina para retirar plantas invasoras, com posterior aplicação de uréia, sendo que as espigas foram protegidas com sacos plásticos para posterior realização de polinização controlada. No mês de março foi feita a polinização, onde foi coletado pólen de plantas doadoras, do mesmo híbrido, polinizando as espigas receptivas

dos mesmos para a obtenção da geração F₂. As espigas F₂ foram debulhadas e os grãos passaram por secagem em estufa durante dois dias a 45 °C. Também foi realizada a contagem dos grãos de cada população F₂.

A metodologia empregada foi conforme item 3.2 (Figura 2).

O delineamento experimental empregado foi o completamente casualizado (DCC), com quatro plântulas por pote, sendo considerado o pote como unidade experimental.

Os caracteres avaliados, em cm, foram comprimento inicial da raiz principal – primeira leitura (PL), comprimento final da raiz principal – segunda leitura (SL), diferença (DIF) entre PL e SL e peso das plantas após solução tratamento (PESO).

Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS (SAS Institute, 1988), onde foi realizada análise de variância, sendo obtidas as médias e variâncias para PL, SL, DIF e PESO e verificada a significância pelo teste t e F, respectivamente, em nível de 5% de probabilidade. Também foram realizadas distribuições de freqüências, calculadas as variâncias genotípica, fenotípica e de ambiente e estimada a herdabilidade para o caráter tolerância ao Al³⁺ em milho, segundo Allard (1960). A variância de ambiente (VE) foi calculada pela média dos híbridos utilizados como testemunhas, sendo que a variância genética (VG) foi extraída da diferença entre as variâncias fenotípica (VP) e de ambiente e calculada a herdabilidade segundo a fórmula:

$$h^2 = \frac{VG}{VP}$$

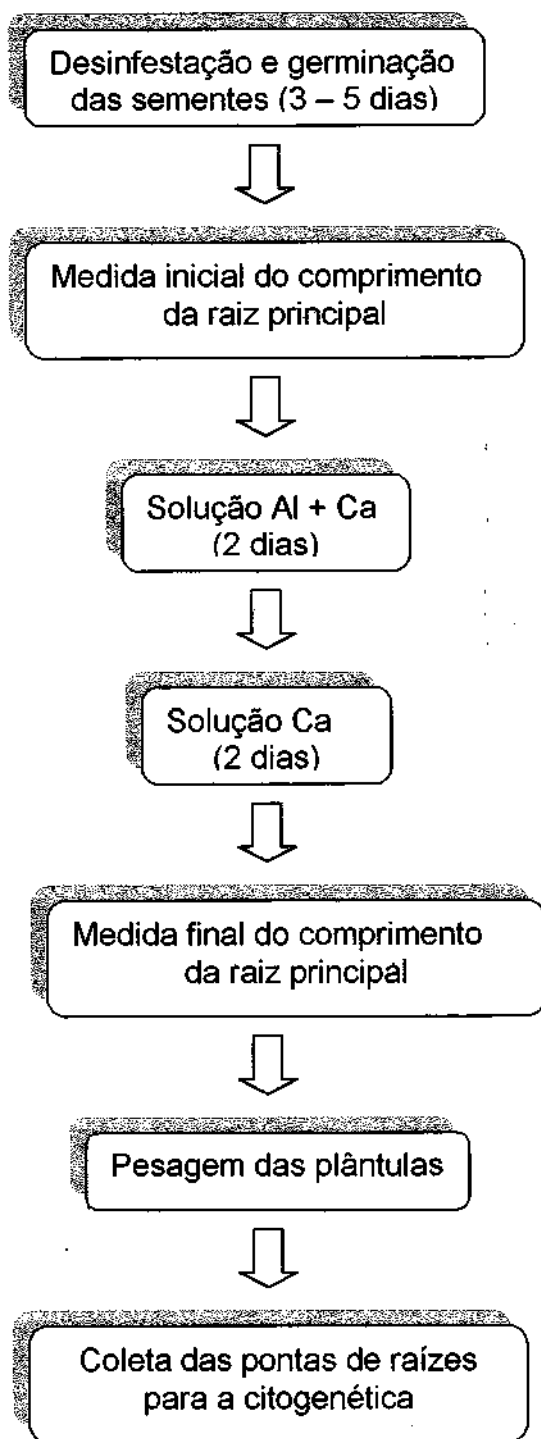


FIGURA 2 – Esquema geral de avaliação para a tolerância ao Al^{3+} em milho. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

3.4– Análise Citogenética

A análise citogenética constou do exame de pontas de raízes coletadas após os experimentos com alumínio em solução tratamento em todos os ensaios. O trabalho foi realizado no Laboratório de Citogenética Vegetal - Departamento de Genética/UFRGS.

3.4.1 – Coleta das raízes

Após ser realizada a medida final do comprimento da raiz principal e a pesagem de cada plântula, foram feitas coletas de pontas de raízes com auxílio de uma pinça de ponta fina, sendo acondicionadas em recipientes transparentes de 7 mL com PDB (paradiclorobenzeno), individualizadas e etiquetadas por plântula. Foram coletadas no mínimo duas raízes por plântula de cada genótipo. A metodologia utilizada para o pré-tratamento, fixação e coloração das raízes de milho foi a descrita por Palmer & Heer (1973).

3.4.2 – Pré-tratamento e fixação das raízes

O pré-tratamento das raízes com PDB, em solução aquosa saturada, tem por objetivo provocar maior contração cromossômica e produzir maior espalhamento cromossômico, por destruir ou inibir a formação das fibras do fuso acromático. Este pré-tratamento teve a duração de 24 h a 4 °C, sendo após as raízes lavadas em água destilada e transferidas para o fixador Farmer 3:1 (3 partes de álcool etílico absoluto : 1 parte de ácido acético glacial) e deixadas em temperatura ambiente por 24 h. O fixador tem a função de amaciar os tecidos que

serão esmagados na lâmina, evitar a desintegração dos constituintes celulares, tornando-os receptivos ao corante. Após este período, as raízes foram transferidas para álcool 70%, onde foram armazenadas em congelador a $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior confecção das lâminas.

3.4.3 – Coloração do material

As raízes de cada recipiente foram enxaguadas em água destilada três vezes por 3 min. Após, estas foram secas em papel absorvente e transferidas para HCl 1N a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde a hidrólise foi feita por 13 min. Foram testados tempos diferentes: 7, 9, 11, 12 e 13 min, sendo que o melhor resultado foi o obtido com o maior tempo. Com o término da hidrólise, as raízes foram novamente lavadas em água destilada três vezes por 3 min. Após, as mesmas foram secas novamente em papel absorvente e transferidas para o reagente de Schiff (coloração de Feulgen), onde foram feitos testes com tempos diferentes: 1 h e 15 min, 1 h e 30 min e 2 h. Foi utilizado o tempo de 1 h e 30 min, deixando os vidros no escuro. Após este intervalo, as raízes foram colocadas em água gelada ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 20 min. Foi realizado o tratamento das raízes com celulase-pectinase 2% a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde foram testados tempos diferentes: 15, 30 e 45 min. O melhor tempo foi 45 min. Após este período, as raízes foram colocadas em recipientes com álcool 70% para a confecção das lâminas.

3.4.4 - Confeção das lâminas de mitose

As lâminas foram confeccionadas pelo método de esmagamento, utilizando como corante o carmim propiônico a 0,6%.

Uma ponta de raiz era colocada sobre uma lâmina para a retirada da coifa com auxílio de uma lâmina de corte e uma agulha histológica. Após ser cortada a ponta da raiz (região mais corada), o material era seco com papel absorvente, adicionando-se em seguida uma gota de carmim propiônico. A ponta de raiz era seccionada em pequenos fragmentos espalhando-os na lâmina e colocando posteriormente uma lamínula. Após, a lâmina era envolta com papel filtro para ser feito o esmagamento com auxílio de um lápis borracha e posteriormente pressionando-a com o polegar. As lâminas foram analisadas com microscópio óptico no menor aumento (200X) para verificar se tinham divisões mitóticas sendo posteriormente vedada com "luto" que é uma mistura de breu e cera de abelha. Após era feita análise mitótica em microscópio Zeiss Axioplan com aumentos de 400 e 1000X, onde foram observados cinco campos aleatórios na lâmina com contagem do número de células em divisão num total de 200 células por campo.

Foi utilizado o teste do χ^2 em nível de 5% de probabilidade para testar a significância entre o número de células sem e com divisões mitóticas.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1– Adequação da metodologia para avaliação da tolerância ao Al^{3+} em milho

O desenvolvimento de um método eficiente para discriminar genótipos com tolerância ao alumínio é o primeiro passo para a realização de estudos de mecanismos genéticos envolvidos na herança desse caráter. Assim sendo, dois híbridos de milho, um tolerante (C929) e outro sensível (P32R21), foram avaliados em solução tratamento contendo diferentes combinações de Al^{3+} e Ca^{2+} . O Ca^{2+} foi adicionado na solução com o intuito de minimizar os sintomas provocados pelo Al^{3+} , pois o Ca^{2+} compete com o Al^{3+} por sítios na parede celular e, principalmente, na membrana plasmática. Portanto, o seu nível no solo ou em soluções nutritivas é um importante fator a ser considerado na avaliação da tolerância de plantas ao Al^{3+} (Foy, 1974; Pavan & Bingham, 1982; Camargo, 1985).

O resumo da análise de variância mostrou que os fatores híbrido e Al^{3+} apresentaram diferença significativa em todas as variáveis analisadas (Tabela 1), exceto o fator Al^{3+} na primeira leitura do comprimento de raiz principal (PL) e o fator híbrido na variável diferença de crescimento relativo (DIFR). A interação entre híbrido e Ca^{2+} foi significativa para as variáveis segunda leitura do comprimento de raiz principal (SL), diferença entre SL e PL (DIF) e DIFR. Da

mesma forma, as interações híbrido X Al^{3+} e Al^{3+} X Ca^{2+} também foram significativas para a variável DIFR.

TABELA 1. Resumo da análise de variância para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL) e DIFR (PL/DIF) medidos em dois híbridos de milho submetidos a diferentes concentrações de Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Causas da variação	GL	Quadrados médios			
		PL	SL	DIF	DIFR
Híbrido (HIB)	1	74,75 *	202,32 *	31,11 *	0,49
Al^{3+}	2	3,74	49,42 *	79,16 *	4,10 *
Ca^{2+}	1	0,03	14,54	15,79	1,43
HIBX Al^{3+}	2	5,49	4,04	18,18	1,63 *
HIBX Ca^{2+}	1	0,09	28,00 *	31,30 *	2,38 *
Al^{3+} X Ca^{2+}	2	3,17	9,11	17,39	3,23 *
HIBX Al^{3+} X Ca^{2+}	2	3,22	1,17	7,56	1,31
CV(%)		27,04	23,79	49,96	62,33

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade por teste de F.

O coeficiente de variação oscilou de 23,79 a 62,33, indicando a possibilidade de obter maior precisão na avaliação para tolerância ao Al^{3+} . Essa variação encontrada pode ser explicada por fatores relacionados com a germinação das sementes de milho no presente experimento. Um dos fatores foi o tempo diferente para o início da germinação, onde o híbrido tolerante germinava antes do sensível, demonstrando desuniformidade para essa variável (Figura 3). Estas observações estão de acordo com Wagner (1999) quando estudou a herança da tolerância ao Al em aveia. Outro fator a ser considerado foi o pequeno espaço para germinação das sementes em placas de Petri. Foram colocadas cinco sementes de cada híbrido por placa; entretanto, o espaço disponível parece



FIGURA 3 - Germinação das sementes dos híbridos de milho (a) C929 (tolerante) e (b) P32R21 (sensível). Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.

ter afetado negativamente a germinação e o desenvolvimento das plântulas. Uma medida para reduzir essa desuniformidade poderia ser a utilização de um número maior de sementes para a germinação com a posterior seleção de plântulas uniformes para a realização dos testes. Neste caso não foi possível devido ao número reduzido da amostra obtida. Da mesma forma, uma metodologia que evite o uso de placas de Petri para a germinação tem potencial de aplicação.

As médias para todas as variáveis analisadas mostraram a diferença entre os híbridos C929 (tolerante) e P32R21 (sensível) e entre as concentrações de Al^{3+} (Tabela 2), com exceção da variável DIFR. Esses resultados estão de acordo com Canal & Mielniczuk (1983a) e Cambraia & Cambraia (1995). A variável PL, que foi obtida antes do tratamento com Al^{3+} , representa apenas a diferença entre os genótipos ou variações em decorrência da desuniformidade da germinação, não devendo ser posteriormente analisada.

O híbrido C929 apresentou na média um crescimento superior ao híbrido P32R21, confirmando sua maior tolerância ao Al^{3+} em níveis tóxicos na solução tratamento. Entre os sintomas observados pode ser destacada uma redução na parte aérea das plântulas no híbrido sensível e em suas raízes. Esses sintomas são característicos de injúria por toxicidade do Al^{3+} em plantas (Foy, 1974). Diversos autores também têm encontrado diferenças entre genótipos de milho avaliados em solução nutritiva (Furlani & Hanna, 1984; Furlani et al., 1986; Cambraia & Cambraia, 1995).

TABELA 2. Médias para PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal- cm); DIF (diferença entre SL e PL) e DIFR (PL/DIF) medidos em dois híbridos de milho submetidos a três concentrações de Al^{3+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Variáveis	Híbridos	Alumínio			Médias	
		0 mgL ⁻¹	2 mgL ⁻¹	6 mgL ⁻¹		
PL	C929	6,00	7,31	8,02	7,11	A
	P32R21	4,77	3,84	4,76	4,46	B
	Médias	5,39	5,58	6,39	5,79	
SL	C929	15,32	12,59	10,92	12,94	A
	P32R21	9,92	9,25	6,57	8,58	B
	Médias	12,62 a	10,92 ab	8,75 b	10,76	
DIF	C929	9,32	5,29	2,90	5,84	A
	P32R21	5,15	5,41	1,81	4,12	B
	Médias	7,24 a	5,35 ab	2,36 b	4,98	
DIFR	C929	1,61	0,83	0,36	0,93	
	P32R21	1,25	1,75	0,44	1,15	
	Médias	1,43 a	1,29 a	0,40 b	1,04	

¹ Médias seguidas pela mesma letra nas linhas (minúscula) e colunas (maiúscula) não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As raízes principais apresentaram um maior crescimento na ausência de Al^{3+} na solução (Tabela 2). A concentração de 6 mgL⁻¹ determinou menores valores para todas as variáveis, com exceção de PL, sendo que a concentração 2 mgL⁻¹ apresentou comportamento intermediário. A Figura 4 mostra o efeito da concentração de 6 mgL⁻¹ de Al^{3+} na solução tratamento. Outros pesquisadores também apontaram a concentração de 6 mgL⁻¹ como superior para a identificação da tolerância ao Al^{3+} em soluções nutritivas (Martins et al., 1999; Sibov et al., 1999). Por outro lado, Furlani & Hanna (1984), Furlani et al. (1986), Sawazaki & Furlani (1987), Machado & Pereira (1990) e Furlani & Furlani (1991) utilizaram 4,5 mgL⁻¹ na composição da solução nutritiva, demonstrando também eficiência na seleção de genótipos tolerantes ao Al^{3+} .

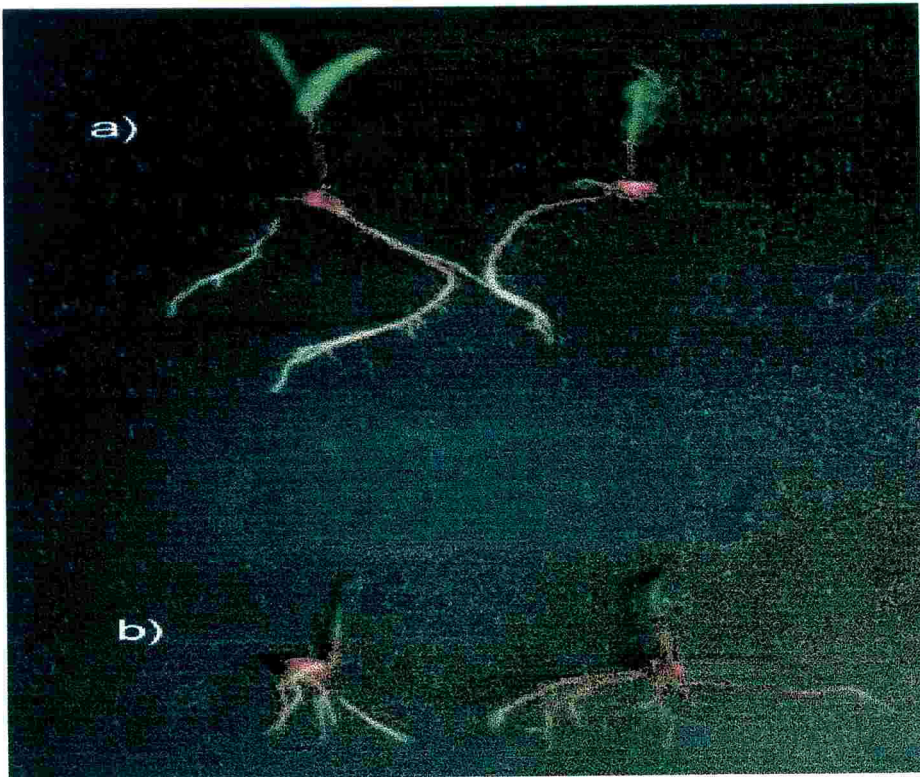


FIGURA 4. Desenvolvimento das raízes e parte aérea de plântulas dos híbridos de milho C929 (tolerante) (a) e P32R21 (sensível) (b) com 6 mgL^{-1} de Al^{3+} na solução tratamento. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.

O Ca^{2+} exerceu uma influência importante na resposta dos híbridos em relação à tolerância ao Al^{3+} , sendo observada uma interação entre o híbrido e essa variável (Tabela 3). De maneira geral, a concentração de 40 mgL^{-1} foi superior para a identificação de plântulas tolerantes e sensíveis. Por outro lado, Canal e Mielniczuk (1983a) detectaram que a concentração de 40 mgL^{-1} , mesmo sendo superior a de 0 mgL^{-1} , não era suficiente para evitar o dano provocado pelo Al^{3+} em plântulas de milho, já que na presença desse metal são necessárias quantidades maiores de Ca^{2+} para o bom desenvolvimento da planta e para visualizar o efeito do Al^{3+} nos genótipos sensíveis. Os mesmos autores também verificaram que o aumento de Ca^{2+} na solução de 20 para 40 mgL^{-1} contribuía

para o aumento do comprimento de raiz, tanto em presença como em ausência de Al^{3+} na solução (Canal e Mielniczuk, 1983b).

TABELA 3. Médias para PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e DIFR (PL/DIF) em dois híbridos de milho submetidos a diferentes concentrações de Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Variáveis	Híbridos	Cálcio		Médias
		20 mgL ⁻¹	40 mgL ⁻¹	
PL	C929	7,08 a ¹	7,13 a	7,11 A
	P32R21	4,53 a	4,38 a	4,46 A
SL	C929	13,17 a	12,71 a	12,94 A
	P32R21	7,18 b	9,98 a	8,58 B
DIF	C929	6,08 a	5,59 a	5,84 A
	P32R21	2,66 b	5,59 a	4,12 B
DIFR	C929	0,99 a	0,88 a	0,93 A
	P32R21	0,73 a	1,57 a	1,15 A

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna (maiúscula) e na linha (minúscula) não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A tabela de correlação (Tabela 4) entre as variáveis PL, SL, DIF e DIFR indicou uma correlação positiva para PL X SL e também uma alta correlação positiva entre SL X DIF, SL X DIFR e DIF X DIFR. A primeira correlação é justificável, uma vez que o híbrido tolerante ao Al^{3+} demonstrou um maior crescimento inicial da raiz principal. A segunda correlação indicou que, no presente trabalho, ambas as variáveis SL e DIF poderiam ser empregadas para separar os híbridos. A terceira e quarta correlações indicam que DIFR depende mais de PL do que DIF, indicando que a melhor variável é DIF. É fundamental destacar a importância da medida da raiz principal no início do experimento, possibilitando o cálculo da diferença (DIF), denominada de incremento por

Menosso (1994). Essas mesmas variáveis, com denominações diferentes, foram utilizadas por Sawazaki & Furlani (1987), onde os dados de correlação demonstraram que o crescimento líquido da radícula (CLR) (= DIF) foi o menos afetado pelo crescimento inicial (CIR) (= PL) e o mais correlacionado com o crescimento final (CFR) (= SL) obtido em solução nutritiva com alumínio. Ainda, os autores acima citados consideraram o CLR (= DIF) como a característica mais eficiente para discriminar genótipos de milho quanto ao grau de tolerância ao Al^{3+} . Por outro lado, autores como Magnavaca (1982), Lopes et al. (1987), Brondani (1993), Magnavaca & Bahia Filho (1995) e Martins et al. (1999) utilizaram o comprimento relativo da raiz seminal (CRRS) (= DIFR) para avaliar a tolerância ao Al^{3+} , demonstrando ser o único parâmetro que considerava diferenças de vigor de plântula entre os genótipos testados e que apresentava os menores coeficientes de variação para os ensaios.

TABELA 4. Coeficiente de correlação linear entre as variáveis PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e DIFR (PL/DIF) em dois híbridos de milho submetidos a diferentes concentrações de Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Variáveis	n	PL	SL	DIF	DIFR
PL	47	1,00	0,40 *	-0,17	-0,56
SL	47		1,00	0,83 *	0,43 *
DIF	47			1,00	0,80 *
DIFR	47				1,00

* Significativo a 5% de probabilidade.

Com base nos resultados obtidos, é possível afirmar que as variáveis SL e DIF foram as melhores para discriminar a tolerância ao Al^{3+} , sendo que a

metodologia utilizada foi eficiente para a diferenciação dos híbridos de milho testados. Prioli et al. (1985) e Magnavaca & Bahia Filho (1995) também destacaram a eficiência do método de solução nutritiva para o estudo da tolerância ao Al^{3+} em milho, indicando também uma boa correlação entre esse método com resultados de campo. Um fator importante a ser considerado foi o desenvolvimento e o comprimento da raiz principal no momento inicial de tratamento com a solução utilizada. A desuniformidade da variável PL parece ter contribuído para o incremento do erro experimental. Da mesma forma a variável DIFR também não foi eficiente, pois estava impregnada pela variação do comprimento da raiz principal no momento inicial. Assim sendo, a metodologia de germinação das sementes deve ser realizada de forma diferente daquela empregada nesse trabalho, objetivando preferencialmente a obtenção de plântulas vigorosas e com raízes principais uniformes. A melhor combinação de Al^{3+} e Ca^{2+} foi de 6 e 40 mgL^{-1} , respectivamente, devendo ser essa combinação empregada nos trabalhos subseqüentes.

4.2 - Avaliação da variabilidade genética da tolerância ao alumínio nas populações Tuxpeño e Sintético Elite

O ganho genético através da seleção requer a existência de variabilidade genética na população a ser melhorada (Hallauer & Miranda Filho, 1988). Assim sendo, a variabilidade genética das populações Tuxpeño e Sintético Elite quanto à tolerância ao Al^{3+} em solução tratamento foi avaliada, sendo utilizada uma solução com 6 mgL^{-1} de Al^{3+} e 40 mgL^{-1} de Ca^{2+} . Essas duas populações foram estudadas

por serem de extrema importância em programas de melhoramento de milho para o sul do Brasil (Vacaro, 1999).

Como uma tentativa para melhorar o processo de germinação, foi utilizada outra metodologia, onde as sementes foram dispostas em papel germinador umedecido em água destilada, enroladas, acondicionadas em sacos plásticos com um furo e dispostos verticalmente em B.O.D (Cabraia & Cabraia, 1995). Os resultados indicaram que esta metodologia foi mais eficiente do que a anteriormente utilizada, pois as sementes germinaram de modo mais rápido e uniforme, tanto dentro, quanto entre os híbridos (testemunhas) e populações (Figura 5).

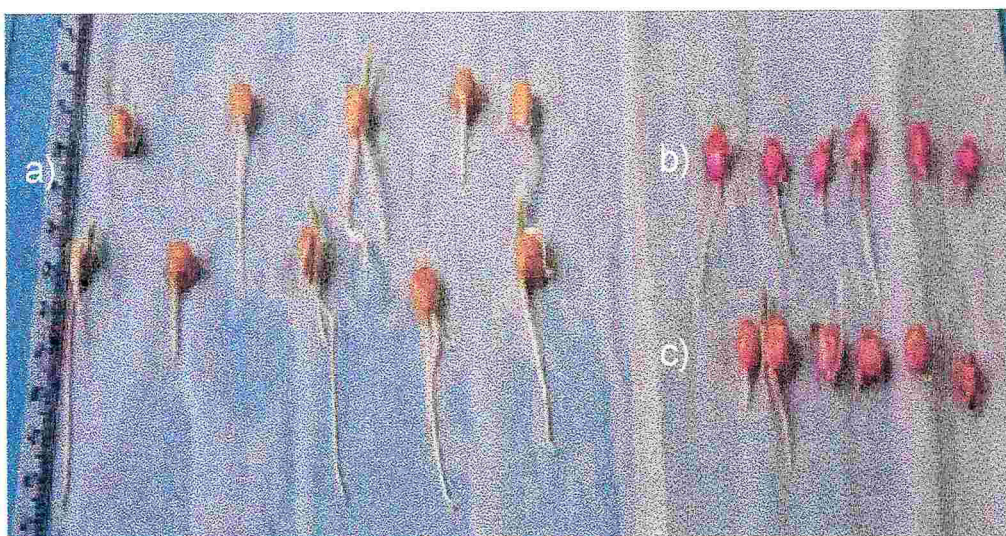


FIGURA 5. Germinação em rolo de papel das sementes de milho da população Sintético Elite (a), dos híbridos C929 (tolerante) (b) e P32R21 (sensível) (c). Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.

O tratamento controle com ausência de Al^{3+} na solução tratamento não foi empregado nesse experimento. As plantas avaliadas foram provenientes de populações de polinização aberta; desta forma, cada indivíduo era único, não sendo possível os tratamentos com e sem Al^{3+} nos mesmos indivíduos. Assim sendo, o artifício de incluir os híbridos C929 (tolerante) e P32R21 (sensível) foi empregado como mecanismo para verificar a qualidade de discriminação da tolerância ao Al^{3+} nas populações segregantes e de prover uma estimativa do efeito de ambiente para o cálculo da variância genética e da herdabilidade.

O comportamento dos híbridos testemunha no ensaio com a população Tuxpeño revelou que a solução tratamento utilizada permitiu a diferenciação de genótipos sensíveis e tolerantes. A média dos caracteres SL e DIF foi superior para o híbrido C929 (Tabela 5), indicando que os genótipos tolerantes cresceram mais do que os sensíveis no presente ensaio. Por outro lado, a variável peso de plântula (PESO), incluída nesta etapa, não foi eficiente para separar os genótipos sensíveis dos tolerantes. Furlani & Clark (1981), Magnavaca (1982) e Lopes et al. (1987) também indicaram que essa variável não era eficiente para a avaliação da tolerância ao Al^{3+} , verificando sua independência em relação ao nível de Al^{3+} e incapaz de detectar diferenças entre genótipos tolerantes e sensíveis. As variâncias também demonstraram um comportamento distinto em relação aos híbridos para as variáveis PL e DIF, onde o genótipo tolerante apresentou variâncias mais elevadas do que o sensível (Tabela 5). Desta forma, para a estimativa da variância do ambiente foi empregada a média da variância dos híbridos controle. Essa diferença de média e variância sugere que o híbrido

sensível P32R21 tinha uma qualidade inferior de sementes do que o híbrido C929. O vigor inicial das plântulas do híbrido sensível foi menor, revelado pela variável PL; assim sendo, prováveis desuniformidades na germinação teriam um impacto menor na variância desse genótipo.

TABELA 5. Médias e variâncias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e PESO (peso de plântula após ensaio em solução tratamento) nas testemunhas Tolerante (C929) e Sensível (P32R21) ao Al^{3+} na população Tuxpeño. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Parâmetros	Testemunha	PL	SL	DIF	PESO
Médias	C929	6,53 a ¹	11,45 a	4,93 a	1,09 a
	P32R21	3,73 a	5,85 b	2,13 b	0,96 a
Variâncias	C929	5,55 A ²	4,60 A	0,84 A	0,11 A
	P32R21	0,54 B	0,94 A	0,08 B	0,03 A

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de t ao nível de 5% de probabilidade.

² Variâncias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de F ao nível de 5% de probabilidade.

Por outro lado, na população Sintético Elite os híbridos controle apresentaram comportamento similar na média, com exceção da variável SL (Tabela 6); sugerindo maior cuidado no emprego da variável DIF para os estudos de variabilidade genética nessa população. As variâncias foram iguais para os híbridos C929 e P32R21, exceto para a variável DIF (Tabela 6). Novamente, para a população Sintético Elite, a estimativa da variância de ambiente foi realizada através da variância média dos dois híbridos.

TABELA 6. Médias e variâncias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e PESO (peso de plântula após ensaio em solução tratamento) nas testemunhas Tolerante (C929) e Sensível (P32R21) ao Al^{3+} na população Sintético Elite. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Parâmetros	Testemunha	PL	SL	DIF	PESO
Médias	C929	4,53 a ¹	9,28 a	4,75 a	0,65 a
	P32R21	3,13 a	6,25 b	3,13 a	0,65 a
Variâncias	C929	1,16 A ²	2,10 A	1,72 A	0,02 A
	P32R21	0,24 A	0,36 A	0,04 B	0,00 A

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de t ao nível de 5% de probabilidade.

² Variâncias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de F ao nível de 5% de probabilidade.

A análise de variância dos resultados observados revelou diferenças entre as populações Tuxpeño e Sintético Elite em relação ao caráter tolerância ao Al^{3+} , onde o quadrado médio de populações foi altamente significativo para as variáveis PL, SL e DIF (Tabela 7). Novamente os coeficientes de variação foram elevados, variando de 34,2 até 76,2. Esse alto valor de coeficiente de variação é atribuído ao erro experimental, sendo que a nova metodologia de germinação de sementes não contribuiu para a sua redução. Talvez o emprego de um delineamento de blocos casualizados pudesse reduzir esse erro, colocando as duas populações no mesmo experimento; entretanto, ele não foi considerado porque o experimento foi conduzido em condições controladas de ambiente.

As médias para as variáveis SL e DIF demonstraram que a população Sintético Elite possui maior tolerância ao Al^{3+} do que a Tuxpeño (Tabela 8). Da mesma forma, o vigor inicial da semente foi superior para essa população (medido

TABELA 7. Resumo da análise de variância para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e PESO (peso de plântula após ensaio em solução tratamento) medidos em duas populações de milho submetidas a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Causas da variação	GL	Quadrados médios			
		PL	SL	DIF	PESO
POP	1	52,2 *	115,3 *	14,3 *	0,1
CV (%)		41,3	34,2	76,2	24,0

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade por teste de F.

pela variável SL). De acordo com Vacaro (1999), a população Tuxpeño empregada no presente trabalho foi introduzida do México, sendo que genes para coloração de grão foram alterados em condições de ambiente brasileiro. Assim sendo, ela não sofreu grande pressão de seleção para tolerância ao Al^{3+} , haja vista não ser a toxicidade ao Al^{3+} um problema em solos mexicanos. Por outro lado, a população Sintético Elite foi totalmente desenvolvida e selecionada no Brasil em condições de solo de cerrado. Esse fato determinou uma intensa pressão de seleção para alelos de tolerância ao Al^{3+} , implicando em um nível mais elevado de manifestação desse caráter. As variâncias das duas populações não foram diferentes estatisticamente (Tabela 8), sendo que a variável SL produziu as maiores variâncias. A distribuição de freqüência para os caracteres SL e DIF nas populações Tuxpeño e Sintético Elite revelaram variabilidade para ambos os caracteres (Figura 6), sendo que a distribuição para SL foi aproximadamente normal e apresentou uma amplitude da classe três até a classe 24. Por outro lado, o caráter DIF demonstrou um desvio para o sentido da sensibilidade, tendo uma amplitude variando da classe zero até a classe 15.

TABELA 8. Médias e variâncias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm); DIF (diferença entre SL e PL - cm) e PESO (peso de plântula após ensaio em solução tratamento) em duas populações de milho submetidas a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

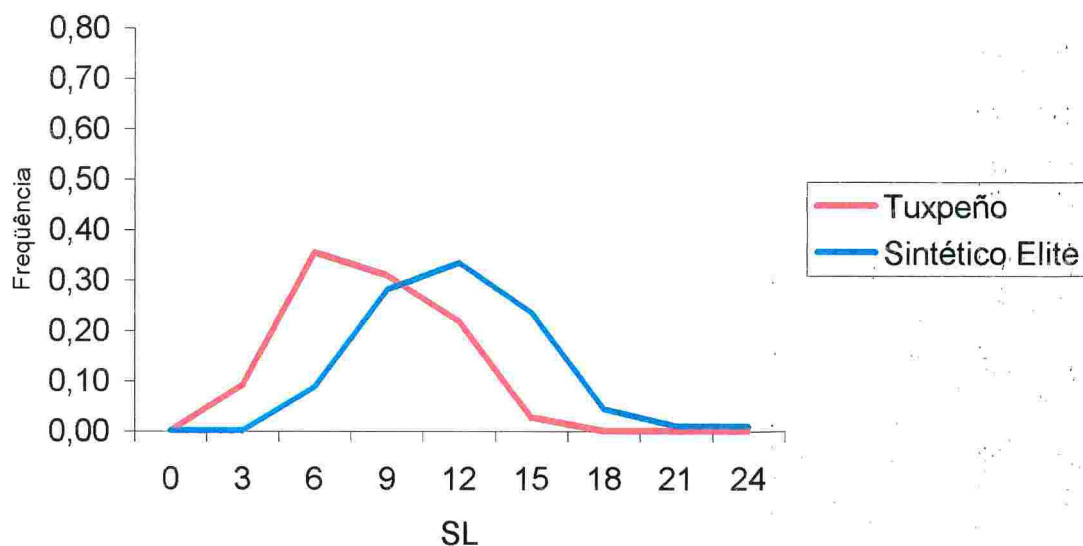
Variáveis	Populações	PL	SL	DIF	PESO
Médias	Tuxpeño	4,94 b ¹	6,75 b	1,78 b	0,99 a
	Sintético Elite	7,37 a	10,45 a	3,08 a	0,96 a
Variâncias	Tuxpeño	5,20 A ²	7,92 A	1,64 A	0,06 A
	Sintético Elite	7,66 A	9,44 A	5,03 A	0,05 A

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de t ao nível de 5% de probabilidade.

² Variâncias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de F ao nível de 5% de probabilidade.

Com base nas variâncias observadas nos híbridos controle e nas populações, as variâncias genética e de ambiente foram estimadas conforme metodologia apresentada por Allard (1960). A variância de ambiente foi estimada pela média dos híbridos sensível e tolerante para cada população separadamente. A variância genética foi detectada para os dois caracteres avaliados nas duas populações (Tabela 9), sendo mais reduzida na Tuxpeño. Esse fato era esperado conforme a origem do germoplasma. A herdabilidade no sentido amplo indicou que grande parte da variação observada para os caracteres foi determinada geneticamente. Apesar dessas estimativas serem preliminares, os valores obtidos foram elevados, principalmente na população Sintético Elite, indicando a possibilidade da seleção para o caráter tolerância ao Al^{3+} em populações altamente segregantes.

a)



b)

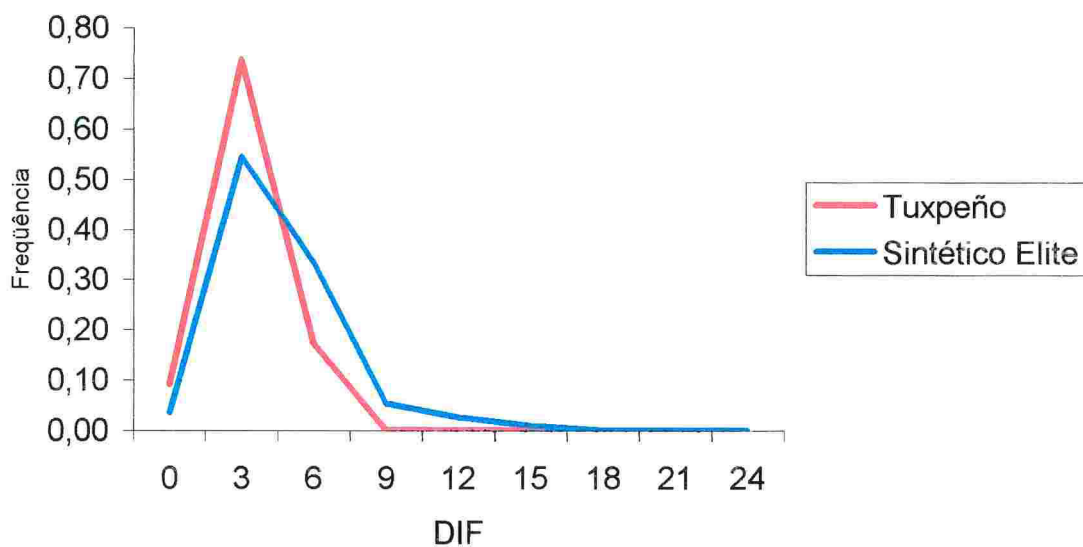


FIGURA 6. Distribuição de freqüências para os caracteres SL (comprimento final da raiz principal - cm) (a) e DIF (diferença entre SL e PL - cm) (b) para as populações de milho Tuxpeño e Sintético Elite submetidas a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.

TABELA 9. Variâncias genética (VG), fenotípica (VP) e de ambiente (VE) e herdabilidade (h^2) para as populações Tuxpeño e Sintético Elite submetidas a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Populações	VG		VP		VE		h^2	
	SL	DIF	SL	DIF	SL	DIF	SL	DIF
Tuxpeño	5,15	1,18	7,92	1,64	2,77	0,46	0,65	0,72
Sintético Elite	8,21	4,15	9,44	5,03	1,23	0,88	0,87	0,83

4.3 - Avaliação da variabilidade genética da tolerância ao alumínio nas gerações F_1 e F_2

As gerações F_1 e F_2 de três cruzamentos envolvendo linhagens como pais (SR1502(T)/CP2523(T); SR1502(T)/SH6707(S) e SH4216(S)/SH4103(S), onde T = tolerante e S = sensível ao Al^{3+}) foram avaliadas em solução tratamento com concentrações de 6 mgL^{-1} de Al^{3+} e 40 mgL^{-1} de Ca^{2+} . No cruzamento entre as linhagens tolerantes não foi observada diferença entre as gerações para nenhuma variável (Tabela 10). Por outro lado nos demais cruzamentos as gerações tiveram comportamento distinto, onde a geração F_2 do cruzamento entre as linhagens sensíveis demonstrou maior valor do que a geração F_1 para as variáveis PL e SL. No cruzamento entre a linhagem tolerante e a sensível a geração F_2 foi superior para as variáveis SL e DIF e inferior para PL. Comparando os diferentes cruzamentos ficou evidenciado que as médias da gerações do cruzamento $T_1 \times T_2$ (SR1502(T)/CP2523(T)) foram superiores as demais, refletindo a tolerância esperada para esse cruzamento (Tabela 10).

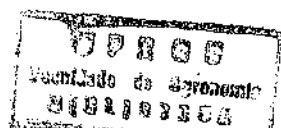


TABELA 10. Médias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm) e DIF (diferença entre SL e PL - cm) das gerações F₁ e F₂ de três cruzamentos de linhagens de milho submetidos a solução tratamento com Al³⁺ e Ca²⁺. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Cruzamentos	Geração	PL	SL	DIF
T ₁ XT ₂ ^A	F ₁	5,4 a ¹	9,7 a	4,4 a
	F ₂	4,9 a	8,4 a	3,4 a
T ₁ XS ₃ ^B	F ₁	4,5 a	5,8 b	1,3 b
	F ₂	2,3 b	6,1 a	3,8 a
S ₁ XS ₂ ^C	F ₁	2,7 b	3,9 b	1,3 a
	F ₂	7,2 a	8,4 a	1,2 a

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna dentro de cada cruzamento não diferem entre si pelo teste de t ao nível de 5% de probabilidade.

T = tolerante; S = sensível.

^A SR1502(T)/CP2523(T); ^B SR1502(T)/SH6707(S) e ^C SH4216(S)/SH4103(S)

As variâncias das gerações F₁ e F₂ em cada cruzamento demonstraram diferença entre as gerações para todas as variáveis, com exceção para PL no cruzamento T₁XT₂, SL no cruzamento T₁XS₃ (SR1502(T)/SH6707(S)) e DIF no cruzamento S₁XS₂ (SH4216(S)/SH4103(S)) (Tabela 11). No entanto, no cruzamento envolvendo as linhagens tolerantes ao Al³⁺, as variâncias da F₁ foram superiores às da F₂, revelando influência do ambiente e ausência de variabilidade genética na manifestação do caráter. Por outro lado, a variável DIF no cruzamento T₁XS₃ revelou uma variância superior na geração F₂, sugerindo a presença de variabilidade genética para o caráter tolerância ao Al³⁺ nesse cruzamento.

Com base nas gerações F₁ e F₂ as variâncias genética, fenotípica e de ambiente e a herdabilidade foram estimadas para a variável DIF (Tabela 12). Os dois cruzamentos envolvendo as linhagens de igual comportamento não apresentaram variância genética. Esse fato sugere que as linhagens tolerantes empregadas na análise não apresentavam genes diferenciados para a tolerância

ao Al^{3+} . Por outro lado, no cruzamento das linhagens T_1XS_3 foi detectada variabilidade genética, sendo que a herdabilidade no sentido amplo foi média, indicando que grande parte da variabilidade detectada era de origem genética.

TABELA 11. Variâncias para os caracteres PL (comprimento inicial da raiz principal - cm); SL (comprimento final da raiz principal - cm) e DIF (diferença entre SL e PL - cm) das gerações F_1 e F_2 de três cruzamentos de linhagens de milho submetidos a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Cruzamentos	Geração	PL	SL	DIF
$T_1XT_2^A$	F_1	2,48 a ¹	13,59 a	10,09 a
	F_2	4,30 a	6,47 b	5,24 b
$T_1XS_3^B$	F_1	6,33 a	16,06 a	5,94 b
	F_2	0,66 b	11,93 a	14,47 a
$S_1XS_2^C$	F_1	2,32 b	5,55 b	2,11 a
	F_2	13,70 a	17,31 a	1,21 a

¹ Variâncias seguidas pela mesma letra na coluna dentro de cada cruzamento não diferem entre si pelo teste de F ao nível de 5% de probabilidade.

T = tolerante; S = sensível.

^A SR1502(T)/CP2523(T); ^B SR1502(T)/SH6707(S) e ^C SH4216(S)/SH4103(S)

TABELA 12. Variâncias genética (VG), fenotípica (VP) e de ambiente (VE) e herdabilidade (h^2) para três cruzamentos de linhagens de milho submetidos a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Cruzamentos	VG	VP	VE	h^2
$T_1XT_2^A$	0,00	5,24	10,09	0,00
$T_1XS_3^B$	8,53	14,47	5,94	0,59
$S_1XS_2^C$	0,00	1,21	2,11	0,00

T = tolerante; S = sensível.

^A SR1502(T)/CP2523(T); ^B SR1502(T)/SH6707(S) e ^C SH4216(S)/SH4103(S)

Na Figura 7 estão apresentadas as distribuições de freqüências para cada cruzamento nas gerações F_1 e F_2 . O cruzamento entre as linhagens tolerantes

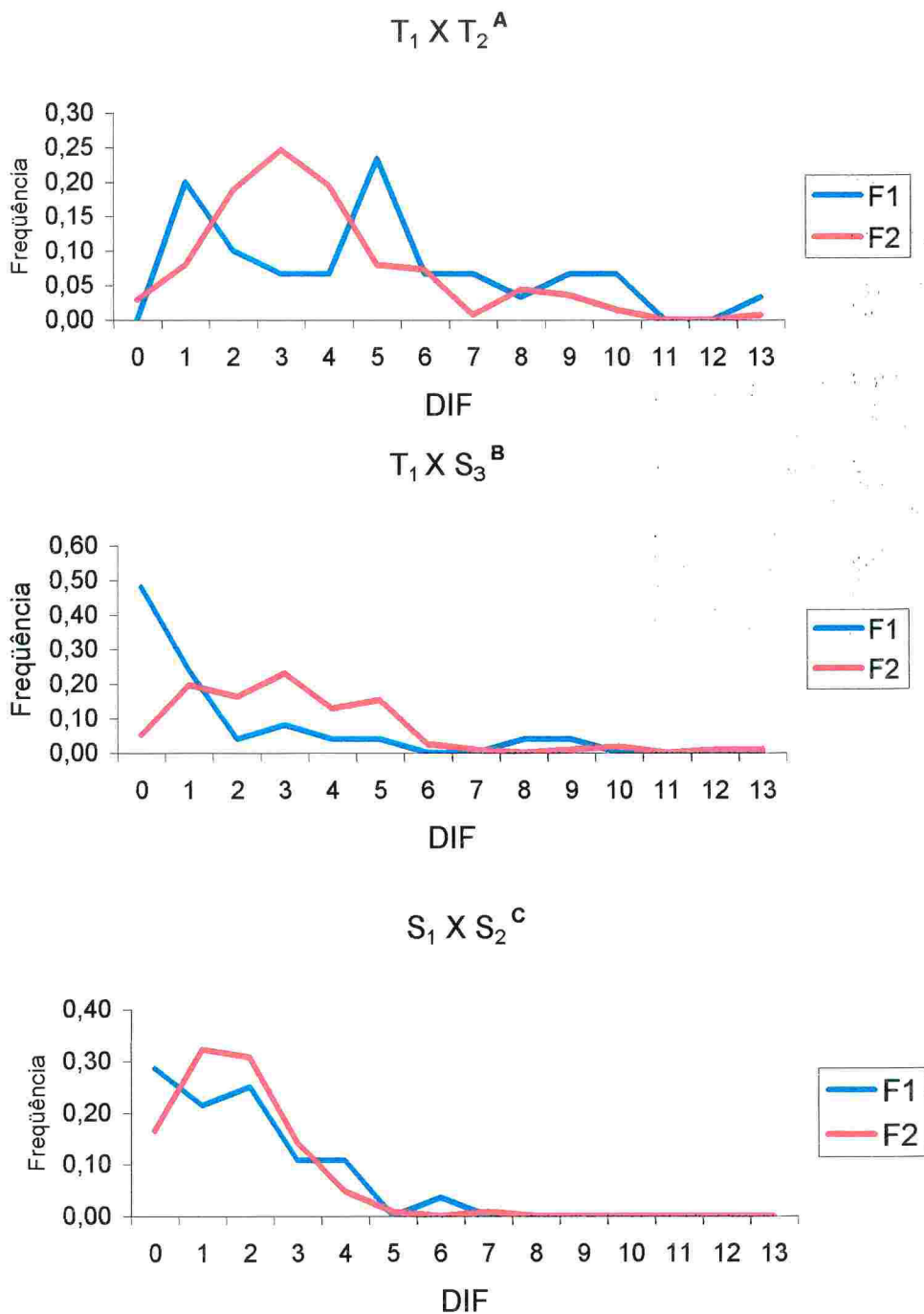


FIGURA 7. Distribuição de freqüências para o caráter DIF (diferença entre SL - comprimento final da raiz principal e PL - comprimento inicial da raiz principal) em três cruzamentos de linhagens de milho (^A SR1502(T)/CP2523(T); ^B SR1502(T)/SH6707(S) e ^C SH4216(S)/SH4103(S)) submetidos a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} . Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, 1999.

evidenciou uma grande influência do ambiente na variável DIF. Nos demais cruzamentos os valores tenderam a ser concentrados nas classes inferiores de expressão do caráter tolerância ao Al^{3+} . No cruzamento T_1XS_3 , os indivíduos da geração F_1 ficaram mais próximos da sensibilidade ao Al^{3+} , indicando a existência de dominância para sensibilidade ao Al^{3+} .

A existência de variabilidade genética para a tolerância ao Al^{3+} em milho tem sido relatada por vários pesquisadores, como por exemplo Bahia Filho et al. (1978) e Sawazaki & Furlani (1987). Quanto à determinação do modo de herança da característica, há algumas controvérsias. Diversos autores têm relatado a existência de um gene maior dominante para a tolerância ao Al^{3+} em milho (Rhue et al., 1978; Garcia Júnior & Silva, 1979, Sibov et al., 1995; Moon et al., 1997). No entanto, Sibov et al. (1999) concluíram que dois genes estavam envolvidos na tolerância ao Al em milho, sendo um deles de maior efeito. Por outro lado, Brondani (1993) observou que o caráter era de natureza quantitativa. Magnavaca & Bahia Filho (1995) também evidenciaram que a tolerância ao Al era um caráter de herança quantitativa, indicando uma predominância de genes dominantes para a sensibilidade ao Al^{3+} . Os resultados desses autores concordaram com resultados publicados previamente (Sawazaki & Furlani, 1987; Magnavaca, 1982).

4.4 – Análise Citogenética

A análise citogenética foi realizada com o objetivo de avaliar o número cromossômico e a frequência da divisão mitótica nos diferentes genótipos de milho tratados com Al^{3+} em solução nutritiva. Neste sentido foram coletadas 20 amostras

(cada uma com duas a dez pontas de raízes) de cada genótipo tratado com Al^{3+} . Os resultados não indicaram diferenças entre e dentro dos oito genótipos testados tanto para a análise da frequência de células em divisão, como para a identificação de possíveis anomalias mitóticas (Tabela 13).

TABELA 13. Análise citogenética de células de pontas de raízes de milho com e sem divisão mitótica submetidas a solução tratamento com Al^{3+} e Ca^{2+} e teste do χ^2 . Departamento de Genética/UFRGS, Porto Alegre, 1999

Genótipos	Lâminas analisadas	N ° de células		Sem divisão	χ^2
		observado	esperado		
F ₁ (T ₁ XS ₃) ^B	10	509	483,1	9491	1,39
F ₂ (T ₁ XT ₂) ^A	8	229	222,4	7771	0,19
F ₂ (T ₁ XS ₃) ^B	15	576	553,9	14424	0,88
F ₂ (S ₁ XS ₂) ^C	2	37	36,3	1963	0,01
Tuxpeño	5	184	177,2	4816	0,26
Sintético Elite	5	197	189,2	4803	0,32
C929	5	248	235,7	4752	0,05
P32R21	5	218	208,5	4782	0,43
TOTAL	55	2198	1906,4	52802	3,53

T = tolerante; S = sensível.

^A SR1502(T)/CP2523(T); ^B SR1502(T)/SH6707(S) e ^C SH4216(S)/SH4103(S)

Por outro lado, a presença de Al^{3+} na solução tratamento afetou visualmente as raízes, principalmente aquelas provenientes de plântulas sensíveis. Os sintomas mais comuns foram o escurecimento do tecido radical e o enfraquecimento e a redução de raízes secundárias, dificultando a realização da medida do comprimento final da raiz (SL). Esses sintomas também foram relatados por Foy et al. (1978).

Na análise citogenética todas as células apresentaram um número cromossômico normal ($2n = 20$) (Figura 8), sendo apenas encontradas algumas pontes cromossômicas em quatro genótipos analisados: F_1 (T_1XS_3), F_2 (T_1XT_2 e T_1XS_1) e no híbrido sensível (P32R21). No entanto, a frequência dessa anomalia foi reduzida e parece não ter relação com o efeito do Al^{3+} . Cavalcante (1999) estudando a população de tangerina "Lee" também encontrou anormalidades espontâneas em baixa frequência na meiose, como aderências e pontes.

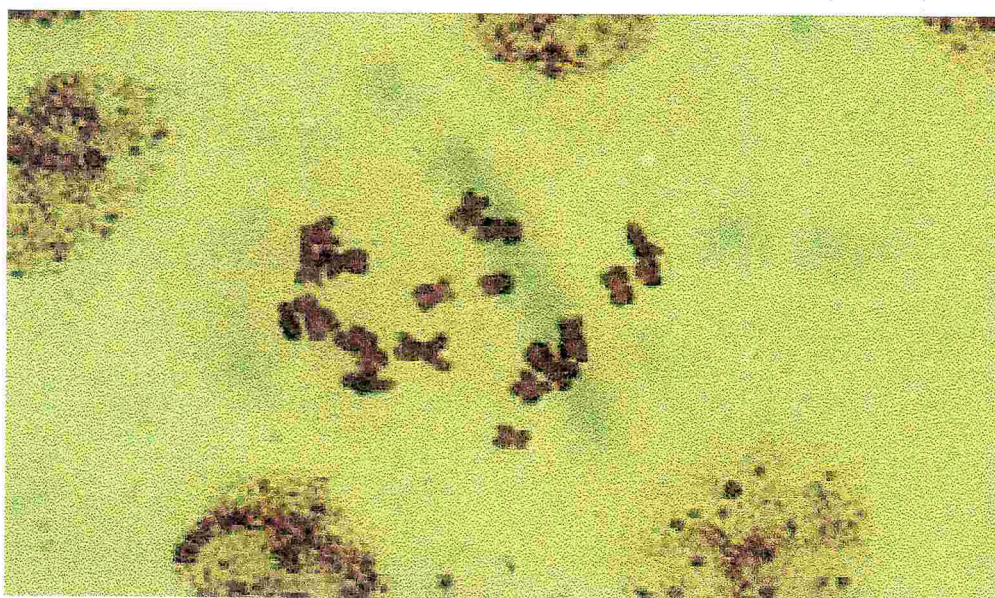


FIGURA 8. Célula de ponta de raiz de uma plântula de milho do híbrido C929 (tolerante) em processo de mitose contendo o número de cromossomos característicos da espécie, $2n=20$. Departamento de Genética/UFRGS, Porto Alegre, 1999.

Da mesma forma, Caetano-Pereira & Pagliarini (1997) relataram a ocorrência espontânea de citomixia em genótipos de milho com diferentes níveis de heterozigose crescidos em solos de cerrado no Brasil Central, verificando que

todos estádios meióticos foram afetados em ambos tipos de solo, ácido e corrigido. Por outro lado, Caetano-Pereira & Pagliarini (1996) verificaram que a acidez do solo influenciou células meióticas de milho, ocasionando alterações na morfologia celular típica. Zanella et al. (1991) também observaram anomalias em trigo cultivado em solos ácidos.

É importante ressaltar que as raízes foram tratadas com a substância PDB. Como consequência, o fuso acromático foi rompido, dificultando a observação de anormalidades mitóticas. Também, devido a sobreposição dos cromossomos, sua visualização ficou dificultada até mesmo para contagem do número cromossômico. Novas análises deverão ser realizadas sem o tratamento com PDB para verificar anormalidades cromossômicas causadas pelo tratamento com Al^{3+} . Da mesma forma, a mitose, apesar de ser um processo simples de divisão celular, quando comparada com a meiose, é de difícil análise. Uma das dificuldades é a visualização dos cromossomos, uma vez que o tamanho e o número de células em divisão são menores, mesmo nas células meristemáticas da raiz.

Em algumas células analisadas, foi observado um comportamento semelhante a aderências cromossômicas (Figura 9), podendo ser possivelmente explicado como efeito do elemento químico Al^{3+} . É uma anomalia que pode conduzir a erros na divisão celular uma vez que os cromossomos ficam aderidos em blocos. Esta observação foi feita também por Levan (1945), Fiskesjö (1983), Zanella et al. (1984) e Zanella et al. (1991). De maneira geral, esse tipo de anomalia é freqüentemente induzida por diferentes produtos químicos (Serenó, 1978).

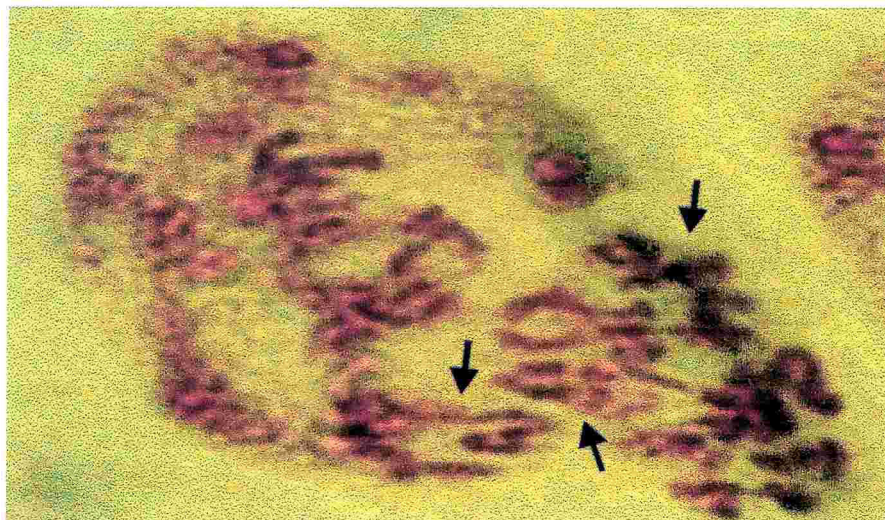


FIGURA 9. Célula de ponta de raiz de uma plântula de milho do híbrido P32R21 (sensível) em processo de mitose apresentando aderência cromossômica (setas). Departamento de Genética/UFRGS, Porto Alegre, 1999.

5 - CONCLUSÕES

A melhor combinação das concentrações de Al^{3+} e Ca^{2+} para compor a solução tratamento para a discriminação da tolerância ao Al^{3+} foram 6 e 40 mgL^{-1} , respectivamente.

Entre as variáveis analisadas para o presente trabalho, a variável diferença (DIF) foi a mais eficiente para a detecção da tolerância ao Al^{3+} .

As populações Tuxpeño e Sintético Elite possuem variabilidade genética para a tolerância ao Al^{3+} , sendo que a população Sintético Elite apresentou um nível um pouco mais elevado de tolerância com uma herdabilidade considerada alta.

A análise das gerações segregantes indicam a existência de poucos genes com grande efeito no caráter tolerância ao Al^{3+} . Pelos resultados obtidos pode-se sugerir que a herança é do tipo dominância para a sensibilidade em relação ao genótipos de milho estudados. Há, entretanto, necessidade de maiores estudos.

O alumínio não demonstrou efeitos significativos em diferentes genótipos para a análise da mitose em células de raízes de milho, entretanto, devem ser feitas análises com um número maior de amostras por genótipos de milho.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. 3. ed. New York: J. Wiley, 1960. 485 p.
- ALVES, V.M.C.; NOVAIS, R.F.de; NEVES, J.C.L. et al. Efeitos do alumínio sobre a absorção e translocação de fósforo e sobre a composição mineral de duas cultivares de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 6, p. 563-573, 1988.
- ANDRADE, J.M.V. **Identificação e seleção, em casa de vegetação, de genótipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) tolerantes ao alumínio e ao manganês com modificações das características químicas do solo**. Porto Alegre, 1976. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1976.
- ANIOL, A. Introduction of aluminum tolerance in wheat seedlings by low doses of aluminum in the nutrient solution. **Plant Physiology**, Bethesda, v.75, p.551-555, 1984.
- ANIOL, A. Genetics of acid tolerant plants. In: WRIGHT, R.J. et al. (Ed.) **Plant and Soil interactions at low pH**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 1007-1017.
- BAHIA FILHO, A.F.C.; FRANÇA, G.E.de; PITTA, G.V.E. et al. Avaliação de linhagens e populações de milho em condições de elevada acidez. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MILHO E SORGO, 11., 1978, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Departamento de Genética da ESALQ, 1978. p.51-58.
- BENNET; R.J.; BREEN, C.M. The aluminium signal: New dimensions to mechanisms of aluminium tolerance. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 134, p. 156-166, 1991.
- BERZONSKY, W.A.; KIMBER, G. The tolerance for aluminum of *Triticum* N-genome amphidiploids. **Plant Breeding**, Berlin, v.103, p.37-42, 1989.

- BRONDANI, C. **Análise de RFLP da tolerância à toxidez do alumínio em milho.** Lavras: UFMG, 1993. 78 f. Dissertação (Mestrado) Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Escola Superior de Agricultura de Lavras, Universidade Federal de Minas Gerais, Lavras, 1993.
- CAETANO-PEREIRA, C.M.; TASCHETTO, O.M.; DEFANI-SOARIZE, M.A. et al. Spontaneous chromosome fragmentation in maize microsporocytes. **Cytologia**, Japão, v. 60, p. 297-301, 1995.
- CAETANO-PEREIRA, C.M.; PAGLIARINI, M.S. Unusual shapes of maize microsporocytes. **The Nucleus**, Harward, v. 39, n. 3, p. 107-110, 1996.
- CAETANO-PEREIRA, C.M.; PAGLIARINI, M.S. Cytomixis in maize microsporocytes. **Cytologia**, Tokyo, v. 62, p. 351-355, 1997.
- CAMARGO, C.E.deO. **Differential response and inheritance to aluminum toxicity, heritability estimates and associations of different height levels with aluminum toxicity, grain yield and other agronomic characteristics in wheat.** Oregon: Oregon State University, 1978. Tese. Oregon State University, Oregon, 1978.
- CAMARGO, C.E.deO.; OLIVEIRA, O.F. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia**, Campinas, v.40, p.21-31, 1981.
- CAMARGO, C.E.deO. Efeitos de níveis de cálcio combinados com diferentes concentrações de sais na tolerância de trigo à toxicidade de alumínio, em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v. 44, p. 659-668, 1985.
- CAMBRAIA, J.; CAMBRAIA, M.C.; Avaliação de híbridos de milho quanto à tolerância ao alumínio, em solução nutritiva. **Revista Ceres**, Viçosa, v.42, n. 241, p. 297-307. 1995.
- CANAL, I.N.; MIELNICZUK, J. Translocação de cálcio e alumínio em raízes intactas de milho (*Zea mays* L.). **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 331-336, 1983a.
- CANAL, I.N.; MIELNICZUK, J. Parâmetros de absorção de potássio em milho (*Zea mays* L.), afetadas pela interação alumínio-cálcio. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 336-340, 1983b.
- CAVALCANTE, H.C. **Análise da meiose e estimativa da fertilidade do pólen de uma população de tangerina "Lee" [*Citrus clementina* x (*Citrus paradisi* x *Citrus tangerina*)] de polinização aberta.** Porto Alegre, 1999. 104f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia,

Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

- CLARK, R.B.; BROWN, J.C. Differential phosphorous uptake by phosphorous stressed maize inbreds. **Crop Science**, Madison, v.14, p.506-508, 1974.
- CLARKSON, D.T. The effect of aluminum and some other trivalent metal cations on cell division in the root apices of *Allium cepa*. **Annals of Botany**, London, v.29, n. 114, p.309-315. 1965.
- CLARKSON, D.T. Effect of aluminum on the uptake and metabolism of phosphorus by barley seedlings. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 11, p. 165-172, 1966.
- DELHAIZE, E.; CRAIG, S.; BEATON, C.D. et al. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). I. Uptake and distribution of aluminum in root apices. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 103, p. 685-693, 1993.
- DORNELLES, A.L.C. **Tolerância à toxicidade e sensibilidade ao ácido giberélico em trigo e o uso da cultura de tecidos**. Porto Alegre, 1994. 108 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1994.
- DORNELLES, A.L.C.; CARVALHO, F.I.F.; FEDERIZZI, L.C. et al. Avaliação de genótipos de trigo hexaplóide quanto à tolerância à toxicidade ao alumínio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, p. 19-22, 1996.
- DUQUE-VARGAS, J. et al. Inheritance of tolerance to soil acidity in tropical maize. **Crop Science**, Madison, v.34, p.50-54, 1994.
- FISKESJÖ, G. Nucleolar dissolution induced by aluminum in root cells of *Allium cepa*. **Physiology Plant**, Copenhagen, v. 59, p. 508-511, 1983.
- FLEMING, A.L.; FOY, C.D. Root structure reflects differential aluminum tolerance in wheat varieties. **Agronomy Journal**, Madison, v. 60, p. 172-176, 1968.
- FONSECA JÚNIOR, N.S.; MARIA, J.; SEDIYAMA, T. et al. Método de detecção visual da sensibilidade ao alumínio em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., 1981, Brasília. **Anais...** Londrina: EMBRAPA/CNPSoja, 1981. p. 678-685.
- FOY, C.D. Effects of aluminum on plant growth. In: CARSON, E.W. **The plant root and its environment**. Charlottesville: Univ. Press Virginia, 1974. p. 601-642.
- FOY, C.D. General principles involved in screening plants for aluminum and Manganese tolerance. In: WORKSHOP ON PLANT ADAPTATION TO

- MINERAL STRESS IN PROBLEM SOILS, 1976, Maryland. **Proceedings...** Maryland: [s.n.], 1976. p. 255-267.
- FOY, C.D. Plant adaptation to acid, aluminum-toxic soils. **Communication in soil science plant analysis**, New York, v. 19, p. 959-987, 1988.
- FOY, C.D.; CHANEY, R.L.; WHITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.29, p.511-566, 1978.
- FOY, C.D.; FLEMING, A.L. The physiology of plant tolerance to excess available aluminum and manganese in acid soils. In: JUNG, G.A. (Ed.) **Crop tolerance to suboptimal land conditions**. Madison: ASA, 1978. V. 32, p. 301-328.
- FUENTE, de la J.M.; RODRIGUEZ, V.R.; PONCE, J.L.C. et al. Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. **Science**, Washington, v. 276, p. 1566-1568, 1997.
- FURLANI, P.R.; CLARK, R.B. Screening sorghum for aluminium tolerance in nutrient solutions. **Agronomy Journal**, Madison, v. 73, p. 587-594, 1981.
- FURLANI, P.R.; HANNA, L.G. Avaliação da tolerância de plantas de arroz e milho ao alumínio em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.8, p.205-208, 1984.
- FURLANI, P.R.; LIMA, M.; MIRANDA, L.T.de et al. Avaliação de linhagens, materiais comerciais e duas populações de milho para tolerância a alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 6, p. 655-660, 1986.
- FURLANI, P.R.; FURLANI, A.M.C. Tolerância a alumínio e eficiência a fósforo em milho e arroz: características independentes. **Bragantia**, Campinas, v. 50, p. 331-340, 1991.
- GARCIA JÚNIOR, O.; SILVA, W.J.da. Análise genética da tolerância ao alumínio em milho. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 31, p. 585, 1979.
- GORSLINE, G.W.; THOMAS, W.I.; BAKER, D.E. Inheritance of P, K, Mg, Cu, B, Zn, Mn, Al and Fe concentration by corn (*Zea mays* L.) leaves and grain. **Crop Science**, Madison, v. 4, p. 207-210, 1964.
- HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. 2. ed. Ames: Iowa State University Press, 1988. 468 p.
- HAUG, A. Molecular aspects of aluminum toxicity. **Crit. Ver. Plant Science**, Limerick, v.1, p.345-373, 1984.

- HECHT-BUCHHOLZ, C.; FOY, C.D. Effect of aluminium toxicity on root morphology of barley. In: DEVELOPMENT in Plant and Soil Sciences: Structure and function of Plant Roots. Netherlands: M. Nijhoff, 1981. V. 4, p. 343-345.
- HUANG, J.W.; SHAFF, J.E.; GRUNES, D.L. Aluminum effects on calcium fluxes at the root apex of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat cultivars. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 98, p. 230-237, 1992.
- KERRIDGE, P.C.; KRONSTAD, W.E. Evidence of genetic resistance to aluminum toxicity in wheat (*Triticum aestivum* Will., Host). **Agronomy Journal**, Madison, v.60, p.710-711, 1968.
- KERRIDGE, P.C.; DAWSON, M.D.; MOORE, D.P. Separation of degrees of aluminum tolerance in wheat. **Agronomy Journal**, Madison, v.63, p.586-591, 1971.
- KIRKBY, E.A. Maximizing calcium uptake by plants. **Communications In Soil Science Plant Analysis**, New York, v. 10, p. 89-113, 1979.
- KUMAR, P.B.A.N.; DUSHENKOV, V.; MOTTO, H. et al. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. **Environmental Science & Technology**, New York, v. 29, n. 5, p. 1232-1238, 1995.
- LAFEVER, H.N.; CAMPBELL, L.G.; FOY, C.D. Differential response of wheat cultivars to Al. **Agronomy Journal**, Madison, v.69, p.563-568, 1977.
- LAGOS, M.B.; MORAES-FERNANDES, M.I.B.; CAMARGO, C.E.deO. et al. Genetics and monosomic analysis of aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.), **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 4, p. 1011-1020, 1991.
- LEVAN, A. Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. **Nature**, London, v. 156, p. 751-752, 1945.
- LEWIS, C.F. Genetic potentials for solving problems of soil mineral stress: overview and evaluation. In: WORKSHOP ON PLANT ADAPTATION TO MINERAL STRESS IN PROBLEM SOILS, 1976, Maryland. **Proceedings...** Maryland: [s.n.], 1976. p. 107-109.
- LOPES, M.A.; MAGNAVACA, R.; BAHIA FILHO, A.F.C. et al. Avaliação de populações de milho e seus cruzamentos para tolerância à toxidez de alumínio em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n. 3, p.257-263, 1987.
- LUTZ, J.A.; HAWKIN, G.W.; GENTER, C.F. Differential response of corn inbreds and single crosses to certain properties fo na acid soil. **Agronomy Journal**, Madison, v.63, p.803-805, 1971.

- MACHADO, E.C.; PEREIRA, A.R. Eficiência de conversão e coeficiente de manutenção da planta inteira, das raízes e da parte aérea em milho e arroz submetidos ao estresse de alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n. 6, p.845-855, 1990.
- MAGNAVACA, R. **Genetic variability and the inheritance of aluminum tolerance in maize (*Zea mays* L.)**. Lincoln: 1982. 135 f. Tese (Doutorado). University of Nebraska, Lincoln, 1982.
- MAGNAVACA, R.; BAHIA FILHO, A.F.C. Seleção de milho para tolerância a alumínio. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL, 1992, Belo Horizonte, MG. **Anais: O milho em perspectiva**. México: CIMMYT/UNDP, 1995. p. 369-394.
- MARSCHNER, H. Adaptation of plants to adverse chemical soil conditions. In: MINERAL nutrition of higher plants. London: Academic Press, 1986. p.477-546.
- MARTINS, P.R. et al. Eficiência de índices fenotípicos de comprimento de raiz seminal na avaliação de plantas individuais de milho quanto à tolerância ao alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 10, p.1897-1904, 1999.
- MATSUMOTO, H.; HIRASAWA, E.; TORIKAI, H. et al. Localization of absorbed aluminum in pea root and its binding to nucleic acids. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 17, p. 127-137, 1976.
- MATSUMOTO, H.; MORIMURA, S. Repressed template activity of chromatin of pea roots treated by aluminum. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 21, p. 951-959, 1980.
- MENOSSO, O.G. **Toxicidade do alumínio em soja: tolerância de genótipos e mecanismos**. Porto Alegre, 1994. 114 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1994.
- MIRANDA, L.T. de; FURLANI, P.R.; MIRANDA, L.E.C. de et al. Genetics of environmental resistance and super genes: latente aluminum tolerance. **Maize Genetics Cooperation News Letter**, Columbia, v. 58, n. 36, p. 46-48, 1984.
- MOON, H.D.; OTTOBONI, L.M.M.; SOUZA, A.P. et al. Somaclonal variation-induced aluminum-sensitive mutant from an aluminum-tolerant maize inbred line. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 16, p. 686-691, 1997.
- MORAES-FERNANDES, M.I.B.; ZANETTINI, M.H.B.; GUERRA, M. et al. Instabilidade cromossômica e adaptação em trigo. In: AGUIAR-PERECIN, M.L.R. de; MARTINS, P.S.; BANDEL, G. (Eds.). **Tópicos de citogenética e**

evolução de plantas: Colóquio sobre citogenética e evolução de plantas. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1985. p.69-110.

MORAES-FERNANDES, M.I.B.; BODANESE-ZANETTINI, M.H.; ZANATTA, A.C.A. Fatores responsáveis pela desuniformidade varietal no trigo *Triticum aestivum* (L.) Thell e o papel da instabilidade cromossômica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n.3, p. 353-369, 1991.

MORIMURA, S.; MATSUMOTO, H. Effect of aluminum on some properties and template activity of purified pea DNA. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 19, p. 429-436, 1978.

NAIDOO, G.J.; STEWART, McD.; LEWIS, R.J. Accumulation sites of Al in snapbean and cotton roots. **Agronomy Journal**, Madison, v. 70, p. 489-492, 1978.

NASPOLINI FILHO, V.; BAHIA FILHO, A.F.C.; VIANNA, R.T. et al. Comportamento de linhagens e de híbridos simples de milho (*Zea mays* L.) em solos sob vegetação de cerrado. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.33, n. 5, p.722-727, 1981.

NICHOL, B.E.; OLIVEIRA, L.A. Effects of aluminum on the growth and distribution of calcium in roots of an aluminum-sensitive cultivar of barley (*Hordeum vulgare*). **Canadian Journal of Botany**, Canada, v.73, p.1849-1858, 1995.

NODARI, R.O. **Bases genéticas da herança do caráter tolerância ao crestamento em genótipos de trigo (*Triticum aestivum* L.)**. Porto Alegre, 1980. 90 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1980.

NODARI, R.O.; CARVALHO, F.I.F.; FEDERIZZI, L.C. Bases genéticas da herança do caráter de tolerância ao crestamento em genótipos de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, p.269-280, 1982.

PALMER, R.G.; HEER, H. A root tip squash technique for soybean chromosomes. **Crop Science**, Madison, v. 13, p. 389-391, 1973.

PANDEY, S. et al. Genetic variability in maize for adaptation to acid soils. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL, 1992, Belo Horizonte, MG. **Anais: O milho em perspectiva**. México: CIMMYT/UNDP, 1995. p. 369-394.

PAVAN, M.A.; BINGHAM, F.T. Toxidez de alumínio em cafeeiros cultivados em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 9, p. 1293-1302, 1982.

- PINTRO, J.; BARLOY, J.; FALLAVIER, P. Aluminium toxicity in corn plants cultivated in a low ionic strength nutrient solution. I. Discrimination of two corn cultivars. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.7, n. 2, p.121-128, 1995.
- PRIOLI, S.M.A.P. et al. Seleção da tolerância à toxidez de alumínio em milho (*Zea mays* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v.32, n. 183, p.441-451, 1985.
- REID, D.A. Genetic potentials for solving problems of soil mineral stress: aluminum and manganese toxicities in the cereal grains. In: WRIGHT, M.J. (Ed.) **Plant adaptation to mineral stress in problem soils**. Beltisville: Cornell University Agricultural Experimental Station, 1976. p. 55-64.
- RHUE, R.D.; GROGAN, C.O. Screening corn for Al tolerance using different Ca and Mg concentrations. **Agronomy Journal**, Madison, v. 6, p. 755-760, 1977.
- RHUE, R.D.; GROGAN, C.O.; STOCKMEYER, E.W. et al. Genetic control of aluminum tolerance in corn. **Crop Science**, Madison, v.18, p.1063-1067, 1978.
- RINCÓN, M.; GONZALES, R.A. Aluminum partitioning in intact roots of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Plant Physiology**, Bethesda, v.99, p.1021-1028, 1992.
- RORISON, I.H. The effect of aluminum on legume nutrition. In: HALLSWORTH, E.C. (Ed.) **Nutrition of the legumes**. London: Butterworth's Scient. Public, 1958. p. 43-58.
- RUIZ-TORRES, N.A.; CARVER, B.F.; WESTERMAN, R.L. Agronomic performance in acid soils of wheat lines selected for hematoxylin staining pattern. **Crop Science**, Madison, v.32, p.104-107, 1992.
- SAMPSON, M.; CLARKSON, D.T.; DAVIES, D.D. DNA synthesis in aluminum treated roots of barley. **Science**, Washington, v. 148, p. 1476-1477, 1965.
- SÁNCHEZ-CHACÓN, C.D. **Herança da tolerância à toxicidade do alumínio em aveia (*Avena sativa* L.)**. Porto Alegre, 1998. 73 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.
- SAS INSTITUTE. **SAS user guide**. Cary: SAS Institute, 1988. p. 521.
- SAWAZAKI, E.; FURLANI, P.R. Genética da tolerância ao alumínio em milho cateto. **Bragantia**, Campinas, v.46, n. 2, p.269-278, 1987.
- SERENO, M.J.C.M. **Estudo do comportamento meiótico e pólen da cultivar C15 (Cinquentenário) submetida a defensivos, doenças e pragas**. Porto

Alegre, 1978. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1978.

SIBOV, S.T.; GASPAR, M.; MOON, D.H. et al. Somaclonal variation induced mutation in an aluminum tolerant inbred line. **Maize Genetics Cooperation Newsletter**, Columbia, v.69, p. 29-30, 1995.

SIBOV, S.T.; GASPAR, M.; SILVA, M.J. et al. Two genes control aluminum tolerance in maize: Genetic and molecular mapping analyses. **Genome**, Canada, v. 42, p. 1-8, 1999.

VACARO, E. **Capacidade combinatória de 12 populações de milho (*Zea mays* L.)**. Porto Alegre, 1999. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; OBATA, H. et al. Plasma membrane of younger and outer cells is the primary specific site for aluminium toxicity in roots. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 171, p. 105-112, 1995.

WAGNER, C.M. **Herança genética da tolerância à toxicidade do alumínio em aveia**. Porto Alegre, 1999. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

WALLACE, S.U.; ANDERSON, I.C. Aluminum toxicity and DNA synthesis in wheat roots. **Agronomy Journal**, Madison, v.76, p. 5-8, 1984.

ZANELLA, C.C.; BODANESE-ZANETTINI, M.H.; MORAES-FERNANDES, M.I.B. Efeito da acidez do solo no comportamento cromossômico em células mães de pólen de trigo. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 36., 1984, Porto Alegre. **Resumos...** Porto Alegre: [s.n.], 1984. p. 772.

ZANELLA, C.C. **Efeito da composição dos elementos do solo no comportamento meiótico do trigo**. Porto Alegre, 1987. 148 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Genética. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1987.

ZANELLA, C.C.; BODANESE-ZANETTINI, M.H.; MORAES-FERNANDES, M.I.B. et al. Differential effect of soil acidity and lime treatment on the chromosomes of two wheat cultivars. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 4, p. 1021-1032, 1991.



Impressão: Gráfica UFRGS
Rua Ramiro Barcelos, 2705 - 1º andar
Fone: 316 5088 Fax: 316 5083 - Porto Alegre - RS
E-mail: grafica@vortex.ufrgs.br