

AVALIAÇÃO E ANÁLISE GENÉTICA  
DA RESPOSTA DE MILHO AO ALUMÍNIO

Oswaldo Garcia Júnior

Orientador: Prof. Dr. William José da Silva

Tese apresentada ao Instituto de Biologia  
da Universidade Estadual de Campinas, para  
obtenção do grau de Mestre em Ciências

CAMPINAS  
Estado de São Paulo  
1979

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao Prof. Dr. William José da Silva,  
minha homenagem , pelo exemplo de  
professor , pesquisador e amigo.

Aos meus queridos pais,

Oswaldo e Benedita,

ofereço

À esposa e filha, queridas,

Herivan e Carolina,

dedico

## A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Prof. Dr. WILLIAM JOSÉ DA SILVA, pela confiança, estímulo e liberdade na orientação segura e consciente.
- Ao Convênio CAPES / UNICAMP, pela bolsa de estudo concedida durante a realização de parte deste trabalho.
- À Fundação CARGILL, pela bolsa de estudo concedida durante a realização de parte deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. ANTÔNIO CELSO NOVAES MAGALHÃES, pelas sugestões e críticas, e pela permissão do uso do laboratório de Fisiologia Vegetal da UNICAMP em alguns experimentos.
- À HERIVAN, esposa e amiga, pelo estímulo, paciência e pela valiosa ajuda em muitos experimentos.
- Aos Amigos do laboratório de Genética Vegetal, pela excelente convivência, e pelas sugestões e críticas apresentadas durante a realização deste trabalho.
- Aos Colegas do curso de Pós-graduação e do departamento de Genética e Evolução pela convivência científica e humana.
- E finalmente, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

# I N D I C E

	página
1. INTRODUÇÃO .....	01
1.1 - Aspectos gerais .....	01
1.2 - O alumínio no solo .....	02
1.3 - Efeitos do alumínio na planta .....	04
1.4 - Avaliação de plantas tolerantes .....	06
1.5 - Controle genético da tolerância .....	08
2. OBJETIVOS .....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	12
3.1 - Avaliação em solução nutritiva .....	12
3.2 - Avaliação em cultura com areia .....	15
3.3 - Análise genética .....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	21
4.1 - Avaliação em cultura com areia .....	21
4.2 - Avaliação de linhagens .....	24
4.3 - Análise genética .....	28
5. CONCLUSÃO .....	38
6. RESUMO .....	40
7. SUMMARY .....	43
8. BIBLIOGRAFIA CITADA .....	45

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 - Aspectos gerais

O trabalho de levantamento e reconhecimento de solos do Estado de São Paulo (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1960), concluiu que apenas 20% de sua área não apresenta problemas de acidez e, consequentemente, presença de alumínio em concentrações tóxicas às plantas. O restante desse estado apresenta em maior ou menor intensidade, a presença de concentrações elevadas de alumínio. Em outras regiões o problema não é menos importante, e de maneira geral pode-se afirmar que mais da metade do solo cultivável do país, apresenta teores significativos de alumínio. Esse elemento, quando solúvel, causa desequilíbrios nutricionais que afetam o crescimento e desenvolvimento das plantas, reduzindo sensivelmente a sua produtividade. O alumínio é pois, um fator importante para explicar a reduzida fertilidade dos nossos solos.

O milho, apesar de ser uma das principais espécies de plantas econômicas em cultivo no país, é o cereal que apresenta a maior discrepância entre a produção de grãos nos ensaios experimentais e aquela que o agricultor colhe. Assim, enquanto o rendimento da cultura oscila ao redor de 1,6 t/ha no país, os dados experimentais variam de 4 a 12 t/ha, dependendo das condições dos ensaios. Os conhecimentos científicos acumulados, bem como o germoplasma melhorado, tem portanto, potencial imediato para produzir uma considerável elevação na produção de grãos no Brasil. O milho na realidade não é um "cash crop" no país, mas é uma espécie de fundamental importância para a alimentação humana e animal. Ocupa uma área de aproxima-

damente 12 milhões de hectares, constituindo-se na maior superfície coberta por uma espécie vegetal econômica em nosso território. Será importante pois, a identificação de genótipos tolerantes ao alumínio, para que as plantas possam apresentar, pelo menos, um mínimo de redução na produção, quando submetidos a solos com problemas de acidez.

A identificação e seleção de genótipos tolerantes ao alumínio trará inevitavelmente vantagens ao agricultor, independentemente do grau de tecnologia de produção utilizada.

## 1.2 - O alumínio no solo

A presença de altas concentrações de alumínio solúvel no solo, pode ser considerada como um dos principais fatores limitantes do desenvolvimento vegetal. MALAVOLTA et al. (1976), cita que o alumínio é o terceiro elemento em abundância na litosfera e sua participação na acidez do solo está bem evidenciada. GOODLAND (1971), apresentou um trabalho sobre oligomorfismo e alumínio no cerrado, mostrando que nesses solos predominam as argilas caulinita e gibsitita, as quais apresentam altos teores de alumínio.

A presença de alumínio é particularmente severa em condições de solo com pH inferior a 5,0, podendo entretanto, ocorrer em concentrações tóxicas em pH ao redor de 5,5. A aplicação de calcário no solo com o objetivo de elevar o pH a níveis superiores a 6,0, visando a insolubilização do alumínio, é uma prática recomendada, porém limitada por fatores de ordem mecânica e econômica. O calcário quando aplicado ao solo com implementos agrícolas, raramente atinge profundidades superiores a 30 cm, não sendo portan

to, eficaz para a neutralização do alumínio em profundidades maiores onde, mesmo as espécies de raízes fasciculadas desenvolvem parte de seus sistemas radiculares; segundo KIESSELBACH (1949), o sistema radicular de uma planta adulta de milho, pode ter de 1,5 a 3,0 m de comprimento. FOY (1974), salienta que a ausência de um sistema radicular profundo, com ramificação adequada, causada pela presença de níveis tóxicos de alumínio, determina sempre maior susceptibilidade à seca e menor capacidade da planta de utilizar nutrientes do solo. A ocorrência de alumínio no Brasil, sua caracterização e distribuição, estão bem discutidos no trabalho de OLMOS & CAMARGO (1976).

Um outro aspecto importante da presença de alumínio nos solos, é a sua capacidade de associação com outros elementos essenciais às plantas, como P, K, Ca, Fe e Mg, causando uma diminuição na disponibilidade desses nutrientes. SALINAS & SANCHEZ (1976), apresentam conceitos atuais sobre a relação solo-planta, em função da tolerância à baixa disponibilidade de fósforo. Esse aspecto, em solos ácidos tropicais, é difícil de ser interpretado sem se considerar o efeito do alumínio, uma vez que este reage quimicamente com o fósforo no solo. ALI (1973), salienta que a toxicidade do alumínio em trigo, pode ser completamente eliminada pelo aumento da concentração de Ca, Mg e K na solução nutritiva, quer isolada ou coletivamente. OUTSUKA (1970), verificou também que em solução nutritiva com pH 4,1, o alumínio induziu a deficiência de Fe, em trigo e cevada. Observou ainda que com a elevação da concentração de Fe na solução, a deficiência era atenuada.

Desse modo, observa-se que o alumínio indiretamente também acarreta severos prejuízos para o desenvolvimento normal das plantas.



### 1.3 - Efeitos do alumínio na planta

A ação do alumínio presente na superfície das raízes, provoca sérios prejuízos ao desenvolvimento do sistema radicular das plantas, causando uma imediata paralização do crescimento, seguido de espessamento das raízes; assim, o sistema radicular torna-se pouco eficaz para a absorção de água e de nutrientes (FOY, 1974). Tais sintomas são frequentemente observados e explorados em experimentos para caracterização do grau de tolerância das plantas ao alumínio. Entretanto, o exato mecanismo pelo qual o alumínio causa esses distúrbios no sistema radicular, com consequências danosas ao metabolismo da planta, permanece ainda obscuro.

A paralização do crescimento radicular é devido em grande parte, à inibição da divisão celular. CLARKSON (1965), estudando os efeitos do alumínio e de outros cátions metálicos trivalentes na divisão celular em raízes de cebola, constatou que  $10^{-4}$  M de alumínio, em um tratamento de apenas 6 a 8 horas, foi suficiente para reduzir a taxa de alongação radicular. Esse tratamento, causou uma drástica diminuição no aparecimento de figuras mitóticas, sem aparentemente causar anomalias detectáveis nos cromossomas. Os outros três elementos testados, gálio, índio e lantânio, causaram efeitos bastantes semelhantes aos do alumínio. A rapidez do efeito, bem como a baixa concentração de alumínio encontrada nas raízes, em plantas submetidas a 7,5 ppm de Al, por um período de 24 horas, indicam que o mecanismo de divisão celular é altamente sensível ao alumínio. RORISON (1958), CLYMO (1962), CLARKSON (1969) e CLARKSON & SANDERSON (1969), evidenciaram claramente os prejuízos cau-

sados pelo alumínio na divisão celular em meristemas das raízes.

FLEMING & FOY (1968), caracterizaram variedades tolerantes e sensíveis ao alumínio em trigo, através de comparações de características morfológicas das raízes. Nas plantas sensíveis ocorreu um grande desarranjo nas zonas de crescimento radicular, notadamente no ápice e zonas de emergência das raízes laterais, efeitos esses não observados nas plantas tolerantes. Trabalhando com beterraba, KESER et al. (1975, 1977), também demonstraram a ocorrência de graves anomalias morfológicas nas zonas de crescimento radicular, em variedades sensíveis. Um precipitado de  $Al_3PO_4$ , acumulou-se nas regiões lesadas, principalmente no ápice, havendo também a paralisação da divisão celular. Inúmeros trabalhos tem demonstrado a precipitação de Al-P no interior da célula (RASMUSSEN, 1968; CLARKSON, 1966a, 1969; MCCORMICK & BORDEN, 1972; NAIDOO et al., 1978). Essa precipitação interfere seriamente na fosforilação de açúcares, que é essencial para o desenvolvimento normal dos processos que resultam na produção de energia para as células, como bem demonstrou CLARKSON (1966a, 1969).

CLARKSON (1966b), sugere que a alta tolerância da forrageira Agrostis setacea ao alumínio, está associada com sua tolerância a baixa concentração de fósforo no solo. Assim como CLARKSON, outros autores tem demonstrado que a tolerância ao alumínio, provavelmente está associada à capacidade da planta de sobreviver com baixa disponibilidade de fósforo no solo (FOY, 1974; OUTSUKA, 1968a, b; HACKETT, 1967; MCLEAN & CHIASSON, 1969; ANDREW & VANDERBERG, 1973). Em trabalho com milho, CLARK & BROWN (1974), estudaram a taxa de absorção de fósforo em linhagens cultivadas em solução nutritiva com baixo teor de fósforo, em presença e ausência de alumínio. Os

resultados indicaram que ocorrem diferenças genotípicas marcantes com relação a taxa de absorção de fósforo. A linhagem que apresentou maior capacidade de absorção e acúmulo de fósforo, revelou maior tolerância ao alumínio.

A associação de alumínio com ácidos nucleicos, tem sido bem evidenciada nos trabalhos de MATSUMOTO et al. (1976, 1977), SAMPSON et al. (1965) e CLARKSON (1969). O alumínio não inibe a síntese de DNA, porém o ácido nucleico adquire uma configuração espacial diferente da normal, acarretando uma perda de sua capacidade de molde, o que provoca a paralização da divisão celular.

Por outro lado, o efeito do alumínio na absorção e transporte de Ca, também acha-se bem evidenciado. Plantas submetidas a concentrações tóxicas de alumínio, revelam na parte aérea, deficiências de cálcio (CLARKSON & SANDERSON, 1971; WRIGHT, 1952; SARTAIN & KAMPRATH, 1977; VICKERS & ZAK, 1978; VICKERS et al., 1977; HOWELER & CADAVID, 1976; ARMINGER et al., 1968; FOY et al., 1969, 1974a; FOY & BROWN, 1963). Para um melhor conhecimento do que ocorre em várias espécies de plantas, FOY et al. (1978), publicaram uma revisão sobre a fisiologia da toxicidade de metais em plantas.

#### 1.4 - Avaliação de plantas tolerantes

A presença de suficiente variabilidade genética para a tolerância ao alumínio, tem sido demonstrada por vários pesquisadores, em espécies de plantas econômicas, indicando a alta viabilidade da execução de programas de melhoramento visando essa característica.

FOY & BROWN (1964), estudando a variabilidade genética entre espécies, para resposta ao alumínio, encontraram sensibilidade em mostarda, nabo, cevada e algodão. Por outro lado, a soja, trigo e

milho, foram considerados mais tolerantes. Em 14 variedades de algodão testadas por FOY et al. (1967a), também foi encontrada grande variabilidade para resposta ao alumínio. Resultados semelhantes tem sido observado em trigo (MARTINI et al., 1977; LAFEVER et al., 1977; FLEMING & FOY, 1968; KERRIDGE et al., 1971; FOY et al., 1965a,b, 1967b, 1974b), em cevada (REID et al., 1969, 1971; FOY et al., 1965a, 1967b), em arroz (HOWELER & CADAVID, 1976), em beterraba (KESER et al., 1977), em soja (SARTAIN & KAMPRATH, 1978; ARMINGER et al., 1968; FOY et al., 1969), em girassol (FOY et al., 1974a), em alfafa (LEVINE et al., 1976) e em milho (RHUE & GROGAN, 1977).

Nesses trabalhos, os métodos usados para a identificação do tipo de resposta das plantas ao alumínio, envolveram experimentação em casa de vegetação com vasos contendo solo ou solução nutritiva e ensaios de campo. REID et al. (1971), sugeriram um método para determinar resposta ao alumínio, em solução nutritiva, cujos resultados corresponderam aos obtidos em experimentos em vasos com solos em casa de vegetação. Outros experimentos confirmaram essas observações, revelando existir uma alta correlação entre as respostas obtidas em solução nutritiva e os resultados conseguidos em experimentação de campo (HOWELER & CADAVID, 1976; REID et al., 1969, 1971; KERRIDGE et al., 1971).

Para a identificação das plantas tolerantes e sensíveis, o critério mais usado tem sido a redução no comprimento das raízes, (KESER et al., 1977; REID et al., 1971; KERRIDGE et al., 1971; RHUE & GROGAN, 1977; LAFEVER et al., 1977; SARTAIN & KAMPRATH, 1978).

A classificação visual tem sido considerada também uma alternativa bastante apropriada para a seleção de plantas tolerantes ao alumínio, por se tratar de processo mais rápido (REID et

al. , 1971; MARTINI et al., 1977; DEVINE et al., 1976). Além desses critérios, vários trabalhos tem sido efetuados utilizando-se métodos destrutivos tais como, peso seco da raiz e da parte aérea, e também o número de raízes seminais (MURRAY & FOY, 1978; FOY et al., 1965a, 1967a, 1974a; REID et al., 1969, 1971).

Os ensaios de campo para avaliação de plantas tolerantes ao alumínio, são mais trabalhosos e a resposta da planta pode ser bastante afetada pela heterogeneidade do solo. Por outro lado, RHUE & GROGAN (1977), mostraram que em solução nutritiva, a toxicidade do alumínio é bastante afetada por temperatura, pH e concentração de Ca e Mg.

#### 1.5 - Controle genético da tolerância

O mecanismo pelo qual o alumínio causa efeitos nocivos no desenvolvimento da planta, é ainda pouco conhecido. Consequentemente, o mecanismo de tolerância ainda não está estabelecido. O fato de existir espécies que acumulam alumínio normalmente, sem manifestar sintomas, indica que podem ocorrer diferenças controladas por genes que atuam em passos metabólicos distintos. As plantas tolerantes podem tanto prevenir a entrada de alumínio nas células, como inativá-lo após sua entrada no interior das mesmas.

Certas linhagens de trigo, cevada, arroz, centeio e milho, tolerantes ao alumínio, são capazes de elevar o pH ao redor do sistema radicular e assim reduzir a solubilidade do Al e, consequentemente, sua toxicidade. Por outro lado, as plantas sensíveis dessas espécies ou diminuem ou mantêm o pH da solução, permanecendo assim expostas a altas concentrações de alumínio por longo período (FOY, 1974; FOY et al., 1965b; CLARK & BROWN, 1974; CLARKSON ,

1965; HOWELER & CADAVID, 1976; MUGWIRA & PATEL, 1977). Não se pode entretanto, ignorar que certas plantas poderiam elevar o pH do meio, como consequência de um maior desenvolvimento radicular. Os experimentos efetuados até aqui, não eliminam essa possibilidade. Por outro lado, existem sugestões acerca de uma possível quelatão do alumínio no interior da célula de plantas tolerantes, através de ácidos orgânicos (JONES, 1961; CLARKSON, 1969). Esse mecanismo genético-fisiológico poderia explicar a resposta das plantas ao alumínio.

Independente do mecanismo de tolerância, o controle genético está muito bem evidenciado em diversos trabalhos. REID (1970), identificou um gene dominante condicionando tolerância ao alumínio em cevada. KERRIDGE & KRONSTAD (1968), trabalhando com uma variedade tolerante e outra sensível de trigo, revelaram de modo claro, a existência do controle da tolerância por apenas um gene dominante. Admitem, entretanto, a presença de modificadores devido a larga variabilidade constatada em diversas linhagens.

Um trabalho interessante sobre a herança da resposta de cevada a solos ácidos, foi desenvolvido por STOLEN & ANDERSEN (1978), utilizando três variedades tolerantes e duas sensíveis. Ficou bem evidenciado que essa característica é controlada por um gene dominante. Entretanto, não ficou claro se a resposta das plantas é específica a pH ácido ou ao alumínio, visto que não há no trabalho, qualquer referência sobre o tipo de solo utilizado. Assim não foi possível concluir se o gene denominado "pHt", identificado no experimento, é o mesmo gene "Alp", citado por REID (1970). RHUE & GROGAN (1977), discutem a provável existência de um fator simples dominante em milho, condicionando a resposta ao alumínio.

Entretanto LAFEVER et al. (1977), admitem que a grande amplitude de respostas de cultivares de trigo utilizados em seus experimentos, poderia indicar uma herança mais complexa, ao invés de herança simples.

## 2. OBJETIVOS

A importância econômica da cultura de milho no país e a presença de concentrações tóxicas de alumínio em grande parte dos nossos solos, estimulou a realização do presente trabalho, com os seguintes propósitos:

- 1 - Desenvolver um método rápido, eficiente e econômico, para avaliar a tolerância do milho ao alumínio.
- 2 - Desenvolver um estudo básico de genética, para determinar o tipo de herança envolvida nas respostas das plantas ao alumínio, aspecto considerado de grande importância para a orientação de programas de seleção.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - Avaliação em solução nutritiva

Vários experimentos foram realizados preliminarmente, em casa de vegetação da Seção de Fisiologia Vegetal do Instituto Agrônomo de Campinas, para a identificação de linhagens de milho, tolerantes e susceptíveis ao alumínio. Utilizando-se a solução nutritiva de Clark (CLARK & BROWN, 1974), analisou-se o comportamento de 74 linhagens S<sub>3</sub>, obtidas por autofecundação sucessiva de plantas tomadas ao acaso, e provenientes de várias populações. Para o teste, as sementes de cada linhagem foram retiradas da parte mediana das espigas, onde os grãos são bem uniformes, na tentativa de se reduzir as diferenças de peso entre os grãos da mesma amostra. As sementes foram então colocadas para germinar em caixas plásticas contendo areia lavada de rio. Quatro dias após o plantio, as plântulas foram transferidas para caixas plásticas contendo solução nutritiva com aeração forçada. A solução nutritiva de CLARK, com pequena modificação, foi preparada com a seguinte composição (ml/litro):

KNO <sub>3</sub> (1M)	.....	2,60
CaNO <sub>3</sub> (1M)	.....	1,80
CaCl <sub>2</sub> (1M)	.....	0,75
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1M)	.....	0,50
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O (1M)	.....	1,20
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0,1M)	.....	0,85
Fe - EDTA	.....	1,00
Solução de micronutrientes	.....	1,00

A solução de Fe - EDTA foi preparada tomando-se inicialmente 25 g de  $\text{FeSO}_4$  e 26 g de EDTA - Na, os quais foram dissolvidos separadamente e depois misturados, com o volume completado para 1 litro com água desmineralizada.

A solução de micro nutrientes teve a seguinte composição:

$\text{H}_3\text{BO}_3$ .....	2,86 g/l
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .....	1,81 g/l
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	0,08 g/l
$\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .....	0,02 g/l
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .....	0,22 g/l

Esses sais foram dissolvidos separadamente e em seguida misturados, com volume completado para 1 litro com água desmineralizada.

Em todos os ensaios o pH da solução nutritiva foi mantido constante em 4,5 mediante correções diárias, usando-se soluções de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1N e/ou NaOH 1N. Semanalmente procedia-se a renovação das soluções. No tratamento com alumínio, a solução nutritiva recebeu  $\text{AlK}(\text{SO}_4)_{12}\text{H}_2\text{O}$ , para dar uma concentração de 7,5 ppm de alumínio.

Em cada caixa foram testadas simultaneamente 3 linhagens, com 6 plantas por linhagem, perfazendo um total de 18 plantas por caixa de solução. Uma caixa foi usada com solução de alumínio a 7,5 ppm, e a outra, sem alumínio, atuando como controle.

As plântulas após 10 dias de cultivo em solução nutritiva, foram classificadas em função das características de desenvolvimento do sistema radicular, atribuindo-se notas em uma escala de 0 (zero) a 100 (cem), usando-se como referência as plântulas do controle tomadas como nota 100. A figura 1 ilustra os efeitos causados pelo alumínio nas plântulas, e a escala de notas adotada. Esse critério, conforme demonstraram SILVA & FURLANI (1976), mostrou

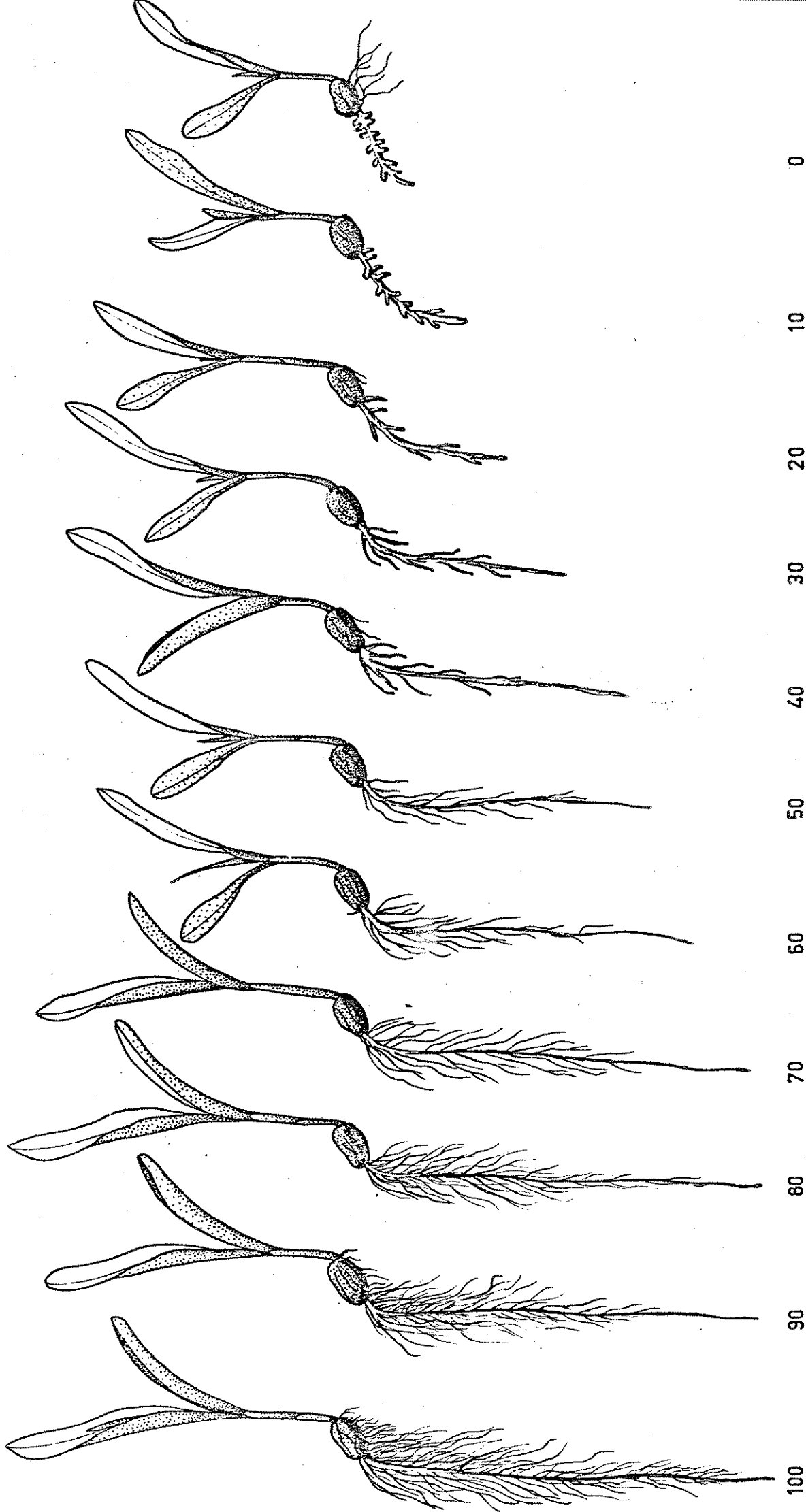


FIGURA 1. Resposta de plântulas de milho a 75 ppm de alumínio, em solução nutritiva de CLARK ( CLARK & BROWN, 1974), e escala de notas utilizada.

se eficaz para a avaliação de linhagens tolerantes e sensíveis ao alumínio.

Esses testes permitiram a formação de dois grupos de linhagens que, desde então, foram usados como referência para o estabelecimento de novos métodos de avaliação. São eles:

TOLERANTE	SENSÍVEL
Cateto prolífico 108-1	Composto dentado 168-1
Cateto prolífico 109-1	Composto duro 181-1
WP - 12 41-1	Múltiplos 195-1
Asteca prolífico 74-2	WP - 12 29-1
Asteca prolífico 76-2	WP - 12 32-5
MEB 27-2	Asteca prolífico 62-1
Composto dentado 169-2	Asteca prolífico 86-1
Composto duro 178-1	SRR duro 130-1
Composto duro 184-1	

Essas linhagens  $S_3$  foram autofecundadas novamente por três gerações sucessivas, na Área Experimental do Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção de linhagens homozigotas.

### 3.2 - Avaliação em cultura com areia

Com o objetivo de desenvolver testes para tolerância de milho ao alumínio mais eficientes, isto é, com maior rapidez e menor custo, estudou-se um método de avaliação, em cultura com areia. Para o estabelecimento dessa técnica, tomou-se inicialmente as 4 linhagens mais tolerantes e as 4 linhagens mais sensíveis, sele -

cionadas nos experimentos em solução nutritiva. Esse germoplasma foi usado como padrão para a determinação da concentração crítica de alumínio, que diferenciaria as linhagens tolerantes das sensíveis, em cultura com areia.

As seguintes linhagens foram utilizadas:

TOLERANTES		SENSÍVEIS	
Cateto prolífico	108-1 (L-9)	Asteca prolífico	62-1 (L-5)
Cateto prolífico	109-1 (L-17)	Asteca prolífico	86-1 (L-8)
Composto duro	178-1 (L-13)	Múltiplos	195-1 (L-16)
Composto duro	184-1 (L-14)	WP - 12	32-5 (L-2)

As sementes de cada linhagem foram inicialmente pesadas e selecionadas dentro de uma faixa de peso, com amplitude máxima de 10% em torno do peso médio dessas sementes. Desse modo, procurou-se eliminar o possível efeito do peso da semente no desenvolvimento inicial da plântula, visto que durante o período de realização dos experimentos (7 dias), as plântulas foram cultivadas somente às expensas das reservas nutritivas do endosperma. Dez sementes de cada linhagem foram plantadas em potes plásticos contendo 750 g de areia lavada de rio, seca previamente. Cada linhagem foi submetida a seis diferentes tratamentos com alumínio, com duas repetições por tratamento. A tabela 1 mostra os tratamentos efetuados e a média do pH da areia em cada tratamento. O pH foi determinado em uma suspensão 1:1 (p/v), de areia-água.

O alumínio foi administrado sob a forma de  $AlK(SO_4)_{12}H_2O$ , em três irrigações: no início do experimento, no 3º e no 6º dia após o plantio, respectivamente com 100, 80 e 70 ml da solução de

TABELA 1. Tratamentos com alumínio e respectivos valores médios do pH inicial que as linhagens foram submetidas no experimento de avaliação em cultura com areia.

Concentração de Al (ppm)	pH
0	5,90
15	5,65
30	5,42
45	5,05
60	4,97
75	4,80

alumínio. No tratamento controle (sem alumínio), foi feita irrigação apenas com água destilada, usando-se o mesmo procedimento. Os experimentos foram conduzidos durante 7 dias, em sala com temperatura controlada ( $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), e intensidade luminosa de 2000 Lux com comprimento de dia de 16 horas. O critério básico de classificação das plantas foi o comprimento da radícula.

Os valores de pH obtidos nos tratamentos com alumínio (tabela 1), parecem ser bem adequados, uma vez que mostraram níveis semelhantes aos sugeridos em vários trabalhos (LAFEVER et al., 1977; ARMINGER et al., 1968; FOY & BROWN, 1963; FOY et al., 1965, 1969, 1974a; MURRAY & FOY, 1978).

Em um segundo experimento, 66 linhagens da coleção de milho da UNICAMP, com mais de seis autofecundações, foram testadas para tolerância ao alumínio pelo método de cultura com areia. Nesse experimento somente dois níveis de alumínio, 0 (zero) e 75 ppm, foram utilizados. A escolha da concentração de 75 ppm de Al será discutida posteriormente.

Nesse experimento, várias características das plântulas testadas foram avaliadas, para obtenção de informações adicionais sobre os vários efeitos do alumínio na planta. Esses conhecimentos iriam nortear a escolha de critérios mais efetivos para a seleção de linhagens de milho tolerante ao alumínio. As características avaliadas foram: aspecto visual do desenvolvimento da plântula (notas visuais), número de raízes seminais, comprimentos da radícula e da parte aérea e pesos secos do sistema radicular, da parte aérea e do endosperma.

Como o crescimento das plântulas depende das diferenças genotípicas entre as linhagens, fêz-se comparações entre as características avaliadas, usando-se valores relativos, isto é, dividin-

do-se o valor médio de cada característica, obtido no tratamento com alumínio, pelo valor médio da mesma característica no controle. Estabeleceram-se os seguintes índices: nota visual relativa (NVR), comprimento relativo da radícula (CRR), peso seco relativo do sistema radicular (PSRSR), comprimento relativo da parte aérea (CRPA), número relativo de raízes seminais (NRRS), peso seco relativo da parte aérea (PSRPA) e peso seco relativo do endosperma (PSRE).

### 3.3 - Análise genética

As três linhagens mais tolerantes e as duas mais sensíveis selecionadas nos testes em cultura com areia, foram plantadas na Área Experimental da UNICAMP em 1976/77, para autofecundação, e também para a produção dos  $F_1$  do tipo "tolerante x sensível". No plantio de 1977/78, foram feitos cruzamentos artificiais para obtenção dos retrocruzamentos e dos  $F_2$ , bem como das novas sementes das linhagens parentais e dos respectivos  $F_1$ . Na tabela 2 estão representadas as famílias que foram analisadas.

Os testes foram realizados em cultura com areia, em dois tratamentos: controle (sem alumínio) e 75 ppm de Al, administrados de maneira idêntica aos experimentos de avaliação. O número de sementes utilizados nos testes, para cada material, em cada tratamento, foi o seguinte: parentais, 12;  $F_1$ , 60;  $F_2$ , 220 e retrocruzamentos, 110.



TABELA 2. Germoplasma derivado de linhagens tolerantes e sensíveis ao alumínio, utilizado para o estudo da análise genética.

<u>LINHAGENS</u>		<u>RETROCRUZAMENTOS</u>			
Tolerantes	Sensíveis	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	BC <sub>1</sub>	BC <sub>2</sub>
L-17	L-8	L-17xL-8	F <sub>1</sub> ♂ *	L-17xF <sub>1</sub>	L-8xF <sub>1</sub>
L-9	L-8	L - 9xL-8	F <sub>1</sub> ♂	L - 9xF <sub>1</sub>	L-8xF <sub>1</sub>
L-13	L-16	L-13xL-16	F <sub>1</sub> ♂	L-13xF <sub>1</sub>	L-16xF <sub>1</sub>

\* O sinal ♂ indica autofecundação

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1 - Avaliação em cultura com areia

A tabela 3 mostra o comprimento da radícula das 4 linhagens tolerantes e das 4 sensíveis, em seis níveis de alumínio, em cultura com areia. As linhagens L-9, L-13, L-14 e L-17, previamente selecionadas em solução nutritiva como tolerantes ao alumínio, não apresentaram reduções significativas no comprimento da radícula, nos vários níveis de alumínio a que foram submetidas. Analogamente, as linhagens L-2, L-5, L-8 e L-16, que foram classificadas como sensíveis em solução nutritiva, também foram consideradas sensíveis em cultura com areia.

Nota-se que a partir do tratamento com 45 ppm de alumínio, aparecem as primeiras diferenças significativas, em relação ao controle, no comprimento da radícula das 4 linhagens sensíveis. O tratamento com solução de 75 ppm de alumínio, entretanto, parece causar reduções mais drásticas, revelando diferenças significativamente maiores do que aquelas verificadas no tratamento com 45 ppm. As reduções no comprimento da radícula, em relação ao controle, foram de 66,5, 62,2, 67,5 e 59,6 %, respectivamente nas linhagens L-2, L-5, L-8 e L-16. A figura 2 ilustra as diferenças obtidas nas respostas de uma linhagem tolerante (L-13) e de uma sensível (L-16), usando-se a técnica de avaliação em cultura com areia, em seis diferentes níveis de alumínio.

Os resultados obtidos em cultura com areia, indicam que esse método discrimina linhagens tolerantes e sensíveis ao alumínio, do mesmo modo que a técnica de cultura de plantas em solução

TABELA 3. Comprimento da radícula de oito linhagens de milho, submetidas a seis níveis de alumínio em cultura com areia.

LINHAGENS*	Al (ppm)					
	0	15	30	45	60	75
	cm**					
L - 9	20,8a	22,1a	21,3a	20,8a	22,9a	22,8a
L-13	13,8b	15,3a	15,9a	14,6ab	14,8ab	14,7ab
L-14	17,2a	17,2a	18,9a	16,8a	17,7a	18,5a
L-17	20,4a	19,7a	18,9a	19,9a	19,7a	19,8a
L - 2	17,6a	16,2a	14,7ab	12,6bc	9,8c	5,9d
L - 5	20,9a	19,3ab	19,0ab	17,1bc	13,8c	7,9d
L - 8	19,4a	18,9a	17,1a	10,4b	9,5b	6,3c
L-16	16,1a	15,2a	14,8a	11,2b	7,2c	6,5c

(\*) Dentro de uma dada linhagem, os valores médios de comprimento da radícula seguidos da mesma letra, não diferem significativamente entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

(\*\*) Média de 10 plântulas por tratamento.



FIGURA 2. Resposta de plântulas de uma linhagem tolerante (L-13), e de uma sensível (L-16), em cultura com areia, com soluções de 0 (zero), 15, 30, 45, 60 e 75 ppm de alumínio.

nutritiva. Como esta última apresenta resultados que estão altamente correlacionados com os obtidos em experimentação de campo (HOWELER & CADAVID, 1976; REID et al., 1971; SARTAIN & KAMPRATH, 1978), a cultura em areia é sugerida como método rápido e de baixo custo para a identificação de plantas tolerantes à toxicidade do alumínio.

#### 4.2 - Avaliação de linhagens

Esse experimento foi realizado para se avaliar a resposta de 66 linhagens de milho à toxicidade de alumínio, e também para se estudar o efeito do metal nas seguintes características de plântulas de milho: aspecto visual do desenvolvimento da plântula (notas visuais), comprimentos da radícula e da parte aérea, número de raízes seminais e pesos secos do sistema radicular, da parte aérea e do endosperma. Os resultados obtidos foram correlacionados entre si para o estabelecimento de um critério de seleção que resumiria todos os efeitos do alumínio na plântula.

REID et al. (1971), estudando a resposta de cevada ao alumínio em solução nutritiva, salienta que, em geral o efeito do alumínio é caracterizado por um aumento no número de raízes e um decréscimo no comprimento e peso seco da radícula. Afirma ainda que a classificação visual é bastante eficaz para separar os extremos tolerantes e sensíveis. Associada às observações de número, comprimento e peso seco radiculares, os prejuízos nas raízes, manifestados por encurtamento, engrossamento e escurecimento, são facilmente discerníveis. Também segundo LAFEVER et al. (1977), o comprimento relativo da radícula, foi o melhor indicador de tolerân-

cia de cultivares de trigo ao alumínio, visto que esse apresentou a maior correlação com os dados de experimentação de campo.

A tabela 4 mostra as sete linhagens mais tolerantes e as sete mais sensíveis, submetidas à técnica de avaliação em cultura com areia. Essas linhagens estão listadas de acordo com suas respostas para comprimento relativo da radícula (CRR). Verifica-se também que, esses dois grupos diferem significativamente para notas visuais relativas (NVR). Menores diferenças entre os dois grupos, parecem ocorrer para peso seco relativo do sistema radicular (PSRSR) e comprimento relativo da parte aérea (CRPA). O peso seco relativo da parte aérea (PSRPA), o número relativo de raízes seminais (NRRS) e o peso seco relativo do endosperma (PSRE), são características irrelevantes para discriminar os dois grupos.

As correlações simples calculadas entre as sete características mencionadas, são apresentadas na tabela 5. O coeficiente de correlação de 0,74 entre CRR e CRPA, indica que o alumínio em concentrações tóxicas, inibe também a elongação da parte aérea, como foi demonstrado em beterraba por KESER et al. (1977), e em cevada por MACLEOD & JACKSON (1967). Embora em menor grau, o número relativo de raízes seminais (NRRS) e o peso seco relativo do endosperma (PSRE), estão associados negativamente com o CRR. Isso indica, aparentemente, que o alumínio em plantas sensíveis inibe o crescimento da radícula e por outro lado, induz a formação de raízes seminais. Como nesses experimentos as plântulas se desenvolvem somente às expensas do endosperma, o alumínio parece bloquear o consumo de reservas do endosperma, nas plantas sensíveis.

O comprimento relativo da radícula (CRR), a nota visual relativa (NVR) e o comprimento relativo da parte aérea (CRPA), são

TABELA 4. Valores relativos de sete características avaliadas nas sete linhagens mais tolerantes, e nas sete mais sensíveis ao alumínio, de um grupo de 66, selecionadas em cultura com areia, com 75 ppm de alumínio

GERMOPLASMA	LINHAGEM	CARACTERÍSTICAS*							
		CRR	NVR	PSRSR	CRPA	PSRPA	NRRS	PSRE	
TOLERANTE	427	1,2	70	1,0	1,1	1,1	0,7	1,0	
	423	1,1	70	0,8	0,9	1,1	1,2	1,1	
	446	1,1	70	0,8	0,9	1,0	0,8	1,1	
	388	1,1	80	0,7	0,9	1,1	0,8	1,1	
	415	1,1	90	0,9	1,1	1,0	1,0	1,0	
	409	1,1	90	0,9	1,1	1,3	1,0	0,9	
	410	1,0	90	0,9	1,0	1,1	0,9	1,0	
SENSÍVEL	421	0,3	10	0,5	0,7	1,1	1,2	1,1	
	396	0,3	10	0,5	0,7	1,0	0,7	1,1	
	430	0,3	10	0,5	0,8	1,0	2,6	1,1	
	433	0,3	10	0,5	0,6	0,9	1,5	1,3	
	434	0,3	10	0,5	0,7	1,1	2,0	1,3	
	437	0,2	10	0,5	0,5	0,7	1,9	1,3	
	438	0,2	10	0,5	0,7	0,9	2,0	1,2	

\* CRR = Comprimento relativo da radícula; NVR = Nota visual relativa; PSRSR = Peso seco relativo do sistema radicular; CRPA = Comprimento relativo da parte aérea; PSRPA = Peso seco relativo da parte aérea; NRRS = Número relativo de raízes seminais; PSRE = Peso seco relativo do endosperma.

TABELA 5. Coeficientes de correlação simples para os sete valores relativos das características estudadas em 66 linhagens de milho, submetidas a 75 ppm de Al em cultura com areia.

	CRR	CRPA	PSRSR	PSRPA	NRRS	PSRE
CRPA	0,74					
PSRSR	0,65	0,60				
PSRPA	0,30	0,57	0,26			
NRRS	-0,45	-0,35	-0,25	-0,10		
PSRE	-0,40	-0,56	-0,52	-0,30	0,19	
NVR	0,84	0,68	0,64	0,27	-0,33	-0,45

CRR = Comprimento relativo da radícula; NVR = Nota visual relativa; PSRSR = Peso seco relativo do sistema radicular; CRPA = Comprimento relativo da parte aérea; PSRPA = Peso seco relativo da parte aérea; NRRS = Número relativo de raízes seminais; PSRE = Peso seco relativo do endosperma.



as características que revelam os maiores coeficientes de correlação com os demais atributos estudados (tabela 5). Para a escolha do melhor critério indicador da resposta ao alumínio, estimou-se os coeficientes de correlação múltipla, envolvendo CRR, NVR e CRPA. Esses coeficientes foram respectivamente de 0,80 , 0,73 e 0,74 para CRR, NVR e CRPA, indicando que qualquer uma destas variáveis podem resumir adequadamente os prejuízos causados por concentrações tóxicas de alumínio nas plântulas. Entretanto, como as maiores diferenças entre os grupos de linhagens tolerantes e sensíveis são CRR e NVR (tabela 4), conclui-se que, ambas podem ser usadas para avaliar a resposta de genótipos de milho à toxicidade de alumínio.

#### 4.3 - Análise genética

As observações de FOY et al. (1965a, 1974b), de que um grande número das variedades de cevada e trigo tolerantes ao alumínio, são originárias de áreas com solos de elevada acidez (alumínio em concentrações tóxicas), indicam a importância da seleção natural para essa característica e que, portanto, a reação ao alumínio deve ser controlada geneticamente. REID (1970), mostrou em cevada, a presença de um gene dominante, designado "Alp", determinando a resposta da planta ao alumínio. Em trigo, KERRIDGE & KRONSTAD (1968), também identificaram a presença de um gene dominante, além de modificadores, controlando a resposta de trigo ao alumínio.

Os dados para análise genética no presente trabalho, foram obtidos de três conjuntos familiares produzidos com três linhagens tolerantes (L-17, L-9 e L-13) e duas sensíveis (L-8 e L-16), mostrados na tabela 2. A figura 3 mostra a distribuição de frequência dos

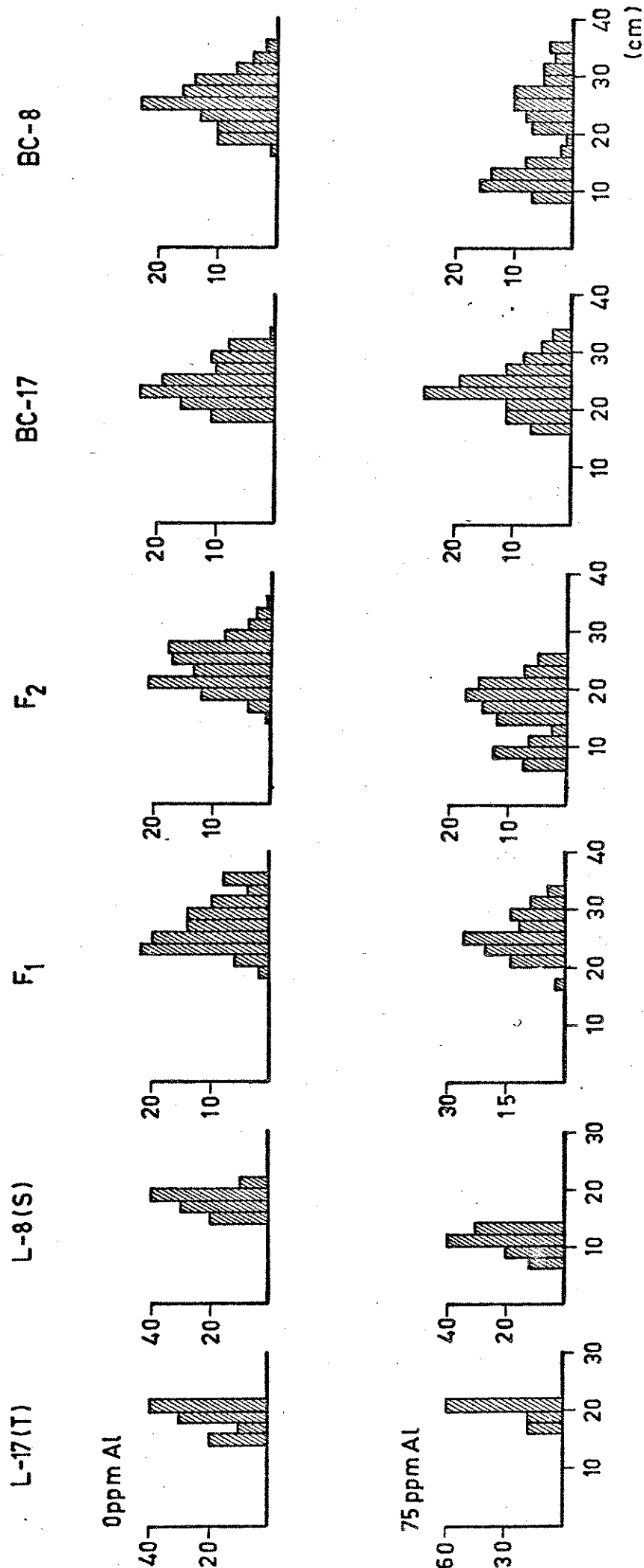


FIGURA 3. Distribuição de frequência dos comprimentos das radículas das plântulas do controle (0 ppm de Al), e das plântulas submetidas a 75 ppm de alumínio, do conjunto familiar L-17 (T) x L-8 (S). O T e o S indicam a linhagem tolerante e sensível, respectivamente.

comprimentos das radículas de plântulas do conjunto familiar L-17 (T) x L-8(S), submetidas a 0 (zero) e 75 ppm de alumínio; as letras T e S entre parênteses indicam a linhagem tolerante e sensível, respectivamente. Comparando-se as distribuições das plântulas de L-17, F<sub>1</sub> e BC-17, nos tratamentos controle e 75 ppm de alumínio, nota-se que aparentemente não ocorre qualquer tipo de alteração na distribuição de frequência do comprimento da radícula das plântulas, devido a presença de alumínio. A distribuição de L-8 em 75 ppm de Al, entretanto, mostra-se deslocada à esquerda da distribuição do comprimento das radículas a 0 (zero) ppm, indicando uma sensível redução no comprimento da radícula dessas plântulas, o que não ocorreu com a linhagem tolerante (L-17). A bimodalidade das distribuições do retrocruzamento para a linhagem sensível (BC-8), e da geração F<sub>2</sub>, é também bastante evidente. Tais respostas indicam a presença de um gene dominante, controlando a reação das plântulas ao alumínio nesse conjunto familiar. A presença de modificadores não pode ser afastada, uma vez que é bastante visível a normalidade das curvas, observadas tanto no controle como no tratamento com alumínio. As proporções esperadas de 1:1 no retrocruzamento para o pai sensível (BC-8) e de 3:1 em F<sub>2</sub>, foram analisadas através de um teste de  $\chi^2$ , cujos valores são apresentados na tabela 6. Os dados obtidos confirmam a hipótese da presença de um gene dominante condicionando a tolerância de milho ao alumínio.

As figuras 4 e 5, mostram respectivamente, as distribuições de frequência dos comprimentos das radículas das plântulas dos conjuntos familiares L-9(T) x L-8(S) e L-13(T) x L-16(S). Analogamente aos resultados obtidos para o conjunto familiar L-17 x L-8, as distribuições nos conjuntos familiares L-9 x L-8 e L-13 x L-16, também

TABELA 6. Teste de  $\chi^2$ , para análise de segregação esperada de 3:1 em  $F_2$  e de 1:1 no retrocruzamento para o pai sensível, envolvendo as linhagens L-17 e L-8, em plântulas submetidas a 75 ppm de Al em cultura com areia.

FAMÍLIA	TOTAL DE PLANTAS	FREQUÊNCIA ESPERADA	FREQUÊNCIA OBSERVADA	$\chi^2$
$F_2$	205	153,7:51,3	149:56	0,587 NS
BC-8	99	49,5:49,5	52:47	0,252 NS

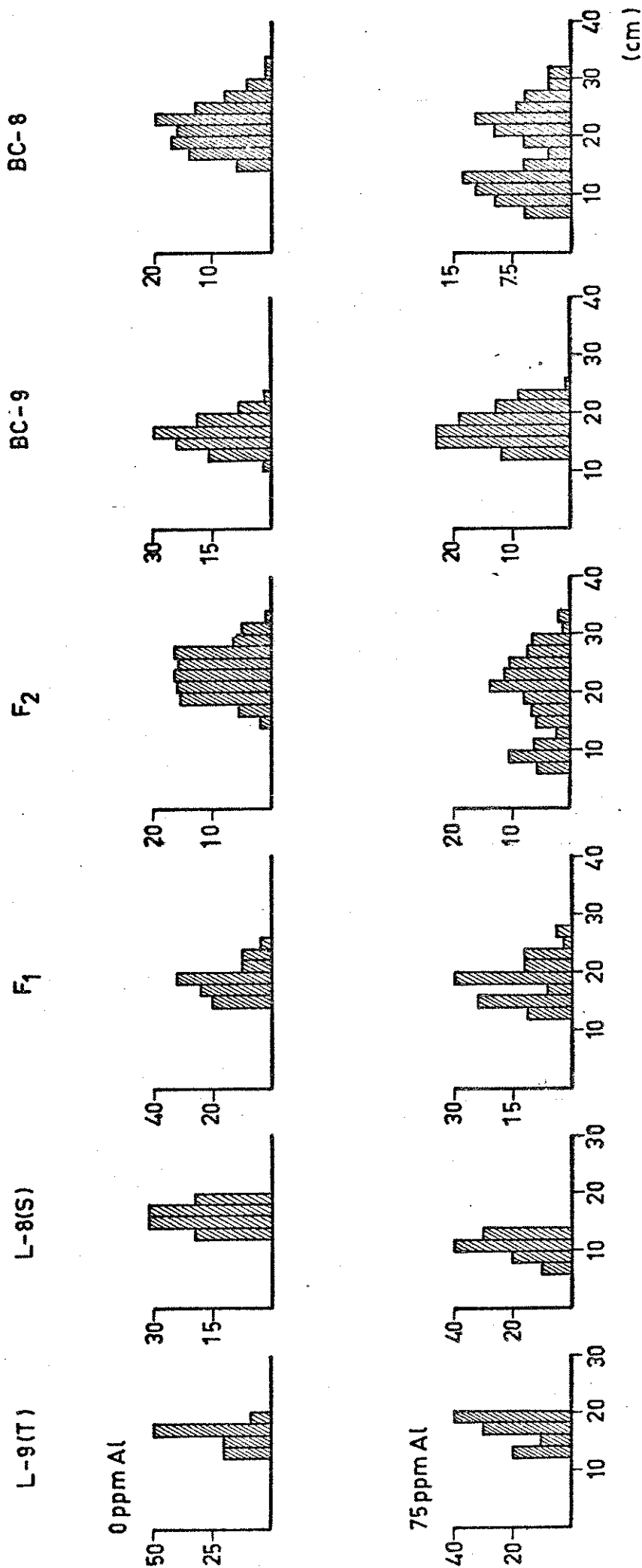


FIGURA 4. Distribuição de frequência dos comprimentos das radículas das plântulas do controle (0 ppm de Al), e das plântulas submetidas à 75 ppm de alumínio, do conjunto familiar L-9 (T) x L-8 (S). O T e o S indicam a linhagem tolerante e sensível, respectivamente.

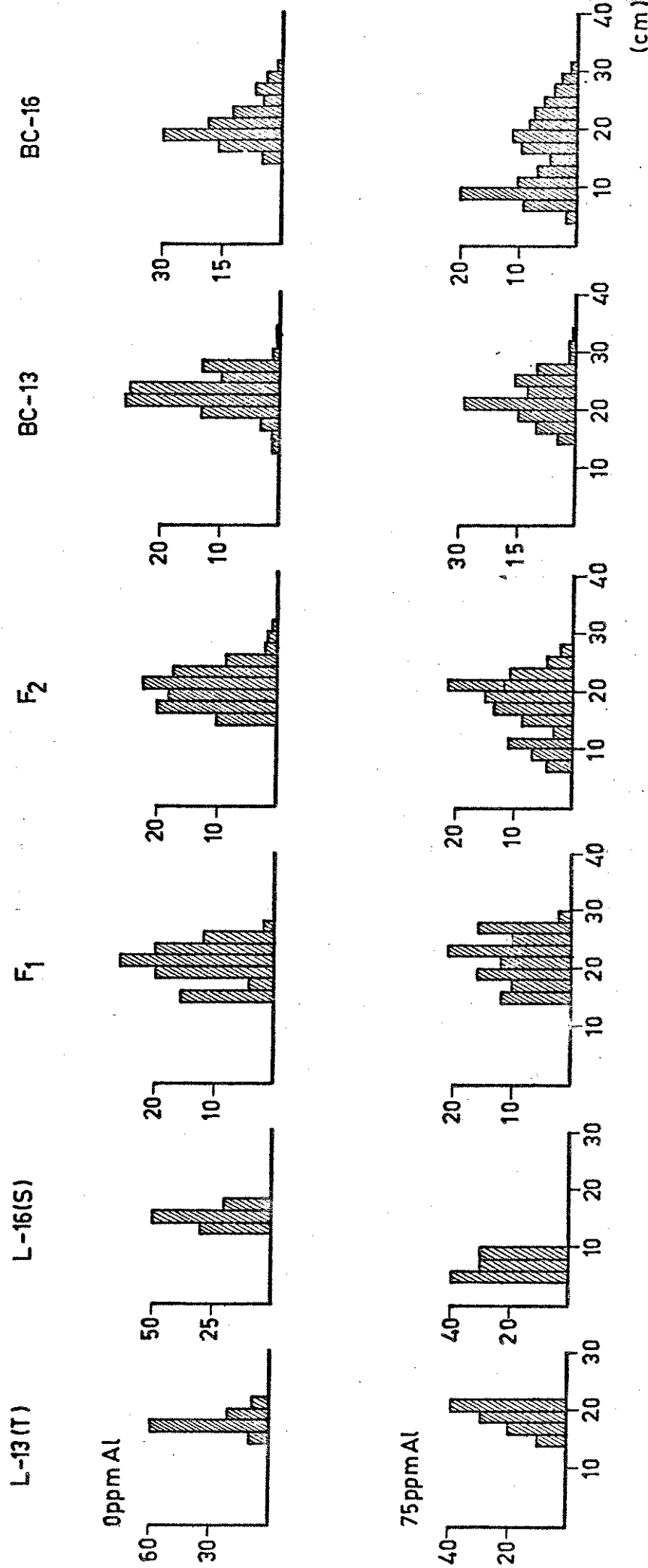


FIGURA 5. Distribuição de frequência dos comprimentos das radículas das plântulas do controle (0 ppm de Al), e das plântulas submetidas à 75 ppm de alumínio, do conjunto familiar L-13 (T) x L-16 (S). O T e o S indicam a linhagem tolerante e sensível, respectivamente.

revelaram bimodalidade nos  $F_2$  e nos retrocruzamentos para o pai sensível. A linhagem L-16 (S), a semelhança da linhagem L-8 (S), também foi deslocada à esquerda (figura 5).

Os testes de  $\chi^2$  para esses conjuntos (tabelas 7 e 8), demonstram que os dados obtidos seguem as proporções esperadas de 3:1 de plântulas tolerantes para sensíveis em  $F_2$ , e de 1:1 nos retrocruzamentos para o pai sensível.

O efeito do alumínio em características de plântulas, pode ser observado na figura 6, envolvendo o conjunto familiar L-13 x L-16. Como mostrou REID et al. (1971), em cevada, observa-se que a presença de concentrações tóxicas de alumínio em germoplasma sensível, reduz severamente o comprimento das raízes, acompanhado de um paralelo espessamento das ramificações laterais (L-16 no Al). Nota-se por outro lado, que o  $F_1$  revela heterose para o comprimento das raízes, tanto no controle como no tratamento com 75 ppm de Al. Observa-se também na figura 6, que as plântulas sensíveis ao alumínio em L-16, BC-2 (retrocruzamento para o pai sensível) e  $F_2$  mostraram não só redução no tamanho do sistema radicular, mas também na parte aérea, o que foi demonstrado anteriormente no estudo de correlação envolvendo as 66 linhagens.

A análise genética do germoplasma estudado revela claramente, a existência de um locus principal, com dominância completa, condicionando a tolerância de plântulas de milho a concentrações tóxicas de alumínio.

TABELA 7. Teste de  $\chi^2$ , para análise de segregação esperada de 3:1 em  $F_2$  e de 1:1 no retrocruzamento para o pai sensível, envolvendo as linhagens L-9 e L-8, em plântulas submetidas a 75 ppm de Al em cultura com areia.

FAMÍLIA	TOTAL DE PLANTAS	FREQUÊNCIA ESPERADA	FREQUÊNCIA OBSERVADA	$\chi^2$
$F_2$	198	148,5:49,5	151:47	0,168 NS
BC-8	97	48,5:48,5	48:49	0,010 NS



TABELA 8. Teste de  $\chi^2$ , para análise de segregação esperada de 3:1 em  $F_2$  e de 1:1 no retrocruzamento para o pai sensível, envolvendo as linhagens L-13 e L-16, em plântulas submetidas a 75 ppm de Al em cultura com areia.

FAMÍLIA	TOTAL DE PLANTAS	FREQUÊNCIA ESPERADA	FREQUÊNCIA OBSERVADA	$\chi^2$
$F_2$	213	159,3:53,3	166:47	0,978 NS
BC-16	105	52,2:52,2	53:52	0,009 NS

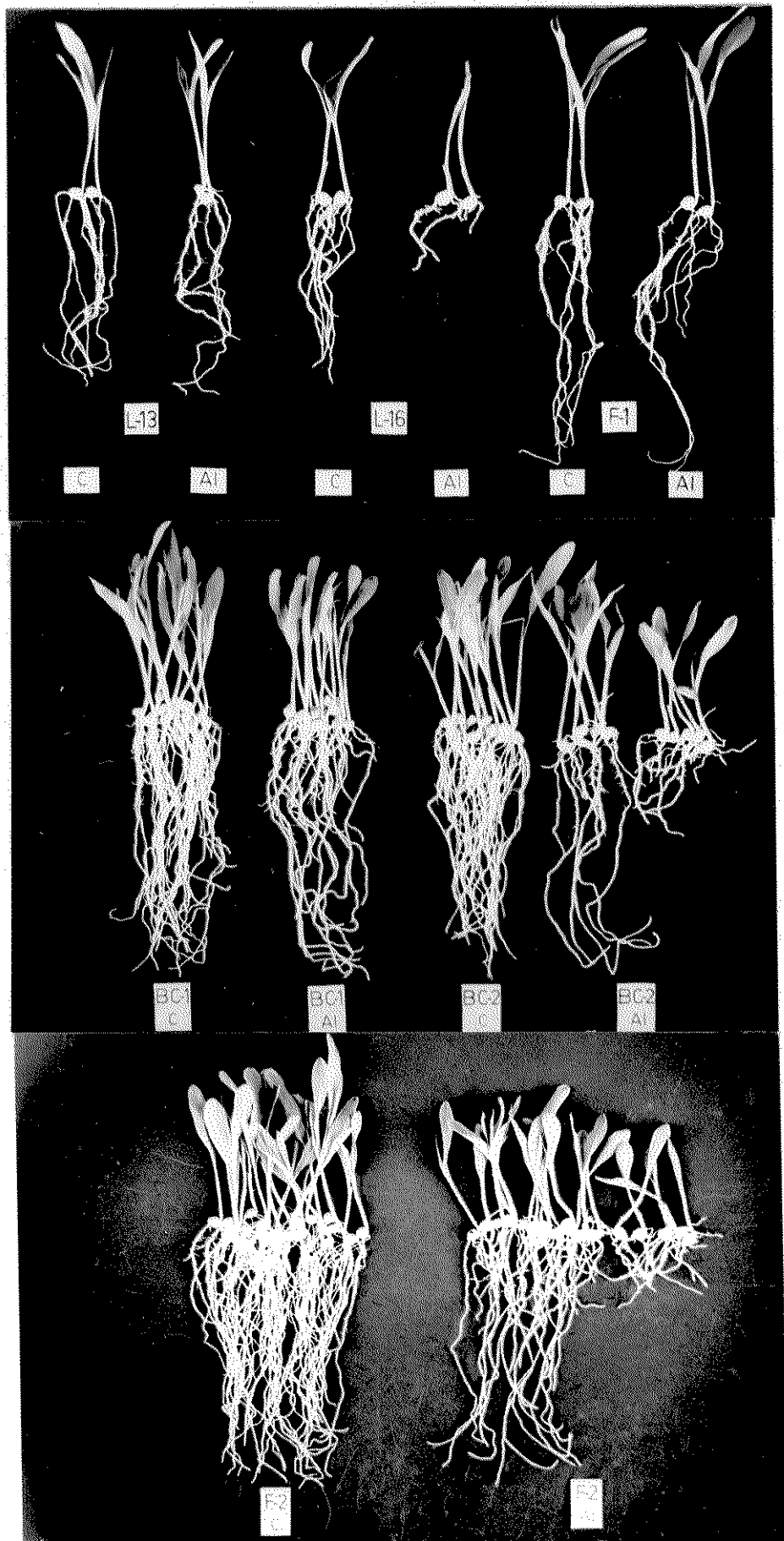


FIGURA 6. Resposta das plântulas de milho das linhagens L-13 (T), L-16 (S),  $F_1$ , BC-1 (L-13 x  $F_1$ ), BC-2 (L-16 x  $F_1$ ) e  $F_2$ , no controle (C) e em solução de 75 ppm de Al, em cultura

## 5. CONCLUSÃO

O alumínio em concentrações tóxicas, causa uma drástica redução no comprimento da radícula de plântulas de milho, sensíveis ao referido elemento. Como consequência, há uma diminuição paralela no peso seco das raízes. Como efeito secundário, tem-se uma redução no comprimento da parte aérea, um aumento no número de raízes seminais e uma menor utilização das reservas do endosperma na formação da plântula.

O estudo da correlação das várias características analisadas, indicou que tanto o critério de classificação visual, através de notas, como o comprimento da radícula, constituem-se em eficientes atributos para a avaliação rápida de genótipos tolerantes ao alumínio.

Linhagens previamente selecionadas em solução nutritiva, comportaram-se de maneira idêntica em cultura com areia, indicando que a avaliação em areia, constitui-se em importante método, simples, rápido e de baixo custo, para a seleção de plântulas de milho tolerantes ao alumínio.

As respostas das plântulas ao alumínio nos três conjuntos de famílias, envolvendo cinco linhagens diferentes, parecem indicar claramente, o tipo de herança monogênica, com dominância completa, para o caráter tolerante. Esses resultados sugerem que a transferência desse gene para germoplasma produtivo, porém sensível ao alumínio, poderá ser feita com bastante facilidade e em curto espaço de tempo.

O fato da tolerância ser uma característica dominante, indica também que, nem todas as linhagens utilizadas na síntese de hí-

bridos, precisam ser tolerantes ao metal.

Finalmente, como a herança é do tipo monogênica, surge a possibilidade de se desenvolver linhagens isogênicas, segregantes apenas para o locus que condiciona a resposta da plântula ao alumínio. Isso permitirá a realização de estudos de maior resolução de genética fisiológica, envolvendo mecanismos que regulam a tolerância de milho à toxicidade do alumínio.

## 6. RESUMO

Oito linhagens de milho, quatro tolerantes e quatro sensíveis ao alumínio, previamente selecionadas em solução nutritiva, foram utilizadas para o desenvolvimento de uma técnica de cultura em areia, para discriminar genótipos que conferem tolerância de milho ao alumínio. O método foi estabelecido através da análise do crescimento da radícula, de plântulas cultivadas em potes plásticos contendo areia lavada de rio, irrigados com solução de 0(zero), 15, 30, 45, 60 e 75 ppm de Al. Os valores de pH obtidos com esses tratamentos foram 5,90, 5,65, 5,42, 4,97 e 4,80, respectivamente. Sete dias após o plantio, as plântulas foram coletadas e a toxicidade do alumínio, foi avaliada pelo comprimento da radícula.

Os resultados indicam que o tratamento com solução de 45 ppm de alumínio, já foi suficiente para discriminar genótipos tolerantes dos sensíveis. Contudo, é sugerida a concentração de 75 ppm de Al, visto que as reduções no comprimento da radícula das plântulas sensíveis, causadas nesse tratamento, são significativamente maiores que aquelas observadas no tratamento com 45 ppm. Essa elevação no teor de alumínio da solução teste, entretanto, não provocou qualquer redução no comprimento das radículas das plântulas tolerantes.

Usando a técnica de cultura com areia, com 75 ppm de Al, 66 linhagens da coleção da UNICAMP foram avaliadas. O efeito do alumínio foi estudado em características de crescimento das plântulas, tais como comprimento da radícula, peso seco do sistema radicular, comprimento da parte aérea, peso seco da parte aérea, nú-

mero de raízes seminais e peso seco do endosperma. Uma avaliação visual, através de notas, foi também utilizada com o objetivo de agilizar o processo de avaliação. Valores relativos foram calculados para cada característica, e correlacionados entre si para estabelecer o critério mais apropriado para a seleção de genótipos de milho tolerantes ao alumínio. Concluiu-se que, tanto o comprimento relativo da radícula como a avaliação visual, associadas à técnica de cultura em areia, com 75 ppm de Al, são métodos eficientes para discriminar a tolerância do milho ao alumínio.

A análise genética da resposta de milho ao alumínio, foi realizada utilizando-se as três linhagens mais tolerantes e as duas mais sensíveis, selecionadas tanto em solução nutritiva como em cultura com areia. Essas linhagens, formando três conjuntos, foram cruzadas para a síntese das famílias  $F_1$ ,  $F_2$  e respectivos retrocruzamentos. A análise genética foi realizada usando-se a técnica de cultura com areia, em dois níveis de Al: 0 (zero) e 75 ppm. Sete dias após o plantio, as plântulas foram coletadas e classificadas pelo comprimento da radícula.

Nas gerações  $F_1$  e nos retrocruzamentos para os pais tolerantes, as plântulas do tratamento com alumínio, não mostraram qualquer redução no comprimento das radículas, em relação às plântulas do controle. Por outro lado, nos  $F_2$  e nos retrocruzamentos para os pais sensíveis, as plântulas do tratamento com alumínio, mostraram variação do tipo discreta, sugerindo que a herança da tolerância de milho ao alumínio, é do tipo qualitativa. A segregação de plântulas tolerantes e sensíveis em  $F_2$  e nos retrocruzamentos para os pais sensíveis, foi de 3:1 e de 1:1 respectivamente, indicando a presença de um gene dominante condicionando a tolerância

cia de milho ao alumínio. A presença de modificadores aparentemente não pode ser descartada, em virtude das distribuições contínuas observadas para comprimento da radícula, nas várias famílias submetidas ao alumínio.

## 7. SUMMARY

Four aluminum-tolerant and four aluminum-sensitive maize inbred lines, previously selected in nutrient solution, were used as testers for the development of a sand culture technique, to screen Al-tolerant genotypes. The method was adjusted through the study of seedling root growth in plastic pots with river sand irrigated with solution of 0(zero), 15, 30, 45, 60 and 75 ppm of Al. The correspondent pH values were respectively, 5,90, 5,65, 5,42, 5,05, 4,97 and 4,80. Aluminum toxicity was evaluated through its effects on radicle length, seven days after planting. Data indicated that the solution of 45 ppm of Al, is already sufficient to discriminate tolerant from sensitive genotypes in sand culture. It is suggested, however, that the screening be done with a 75 ppm solution of Al, since root length reductions of sensitive plants, were significantly higher than the ones found at 45 ppm. This increase in aluminum, however, did not cause any significant reduction in radicle length of tolerant plants.

Sixty six inbred lines were screened using sand culture and 75 ppm solution of Al. The effect of Al was studied in seedling characteristics as radicle length, root dry weight, top dry weight, number of seminal roots and endosperm dry weight. A visual score was also used in an attempt to provide faster screening. Relative values were calculated for each trait, and correlated among themselves, to establish an appropriated criteria for screening Al-tolerant maize plants.

It was concluded that either the relative radicle length or the root visual score of maize seedlings grown in sand culture,



with 75 ppm of Al, are efficient methods for screening maize plant to tolerance to aluminum toxicity.

A genetic analyses, was made, studying the three more Al-tolerant and the two more Al-sensitive maize inbred lines, selected in both, nutrient solution and sand culture technique. These inbred lines, in three groups were crossed for the synthesis of the  $F_1$ ,  $F_2$  and backcrosses generations. The study was carried in sand culture using only two levels of aluminum: 0 (zero) and 75 ppm. Seedlings were harvested and classified by root length, after seven days planting.

In the  $F_1$ , and in the backcrosses to the tolerant inbreds, the seedlings grown in the aluminum treatment, did not showed any reduction for radicle length. On the other hand, in the  $F_2$  and backcrosses to the sensitive parents, the plants submitted to aluminum treatment, showed discrete distributions, suggesting that plant tolerance to aluminum, is qualitatively inherited.

The segregations of tolerant to sensitive plants in  $F_2$  and in the backcrosses to the sensitive parents followed 3:1 and 1:1 ratios, respectively, indicating the presence of a dominant gene conditioning plant tolerance to Al toxicity in maize

The effect of modifiers can not be ruled out, since continuous distributions were shown for radicle length, of seedlings at any family submitted to aluminum.

## 8. BIBLIOGRAFIA CITADA

- ALI, S.M.E. 1973. Influence of cations on aluminum toxicity in wheat (Triticum aestivum vill., Host). PhD Thesis. Oregon State University, Corvallis, Ore. (citado por FOY et al., 1978)
- ANDREW, C.S. & VANDERBERG, P.J. 1973. The influence of aluminum on phosphate absorption by whole plants and excised root of some pasture legumes. *Aust. J. Agric. Res.*, 24:341-351.
- ARMINGER, W.H.; FOY, C.D.; FLEMING, A.L. & CALDWELL, B.E. 1968. Differential tolerance of soybean varieties to an acid soil high in exchangeable aluminum. *Agron. Jour.*, 60:67-70.
- CLARK, R.B. & BROWN, J.C. 1974. Differential phosphorus uptake by phosphorus-stressed corn inbreds. *Crop. Sci.*, 14:505-508.
- CLARKSON, D.T. 1965. The effect of aluminum and some other trivalent metal cations on cell division in the root apices of Allium cepa. *Ann. Bot. N.S.*, 29:309-315.
- CLARKSON, D.T. 1966a. Effect of aluminum on the uptake and metabolism of phosphorus by barley seedling. *Plant Physiol.*, 41:165-172.
- CLARKSON, D.T. 1966b. Aluminum tolerance in species within the genus Agrostis. *J. Ecol.*, 54:167-178.
- CLARKSON, D.T. 1969. Metabolic aspects of aluminum toxicity and some

possible mechanisms for resistance. British Ecology Society Symposium, 9:381-397.

CLARKSON, D.T. & SANDERSON, J. 1969. The uptake of a polyvalent cation and its distribution in the root apices of Allium cepa: tracer and autoradiographic studies. *Planta (Berl.)*, 80:136-154.

CLARKSON, D.T. & SANDERSON, J. 1971. Inhibition of the uptake and long-distance transport of calcium by aluminum and other polyvalent cations. *J. Exp. Bot.*, 23:837-851.

CLYMO, R.S. 1962. An experimental approach to part of calcicole problem. *J. Ecol.*, 50:707-737.

FLEMING, A.L. & FOY, C.D. 1968. Root structure reflects differential aluminum tolerance in wheat varieties. *Agron. Jour.*, 60:172-176.

FOY, C.D. 1974. Effects of aluminum on plant growth. Em: The plant root and its environment. E.W.Carson (ed.). University Press of Virginia. p. 601-642.

FOY, C.D. & BROWN, J.C. 1963. Toxic factors in acid soils: I.Characterization of aluminum toxicity in cotton. *Soil Sci. Am. Proc.*, 27: 403-407.

FOY, C.D. & BROWN, J.C. 1964. Toxic factors in acid soils: II.Differential aluminum tolerance of plant species. *Soil Sci. Am. Proc.*, 28: 27-32.

FOY, C.D.; ARMINGER, W.H.; BRIGGLE, L.W. & REID, D.A. 1965a. Differential aluminum tolerance of wheat and barley varieties in acid soils. *Agron. Jour.*, 57:413-417.

FOY, C.D.; BURNS, G.R.; BROWN, J.C. & FLEMING, A.L. 1965b. Differential aluminum tolerance of two wheat varieties associated with plant-induced pH changes around their roots. *Soil Sci. Am. Proc.*, 29:64-67.

FOY, C.D.; ARMINGER, W.H.; FLEMING, A.L. & LEWIS, C.F. 1967a. Differential tolerance of cotton varieties to an acid soil high in exchangeable aluminum. *Agron. Jour.*, 59:415-418.

FOY, C.D.; FLEMING, A.L.; BURNS, G.R. & ARMINGER, W.H. 1967b. Characterization of differential aluminum tolerance among varieties of wheat and barley. *Agron. Jour.*, 31:513-520.

FOY, C.D.; FLEMING, A.L. & ARMINGER, W.H. 1969. Aluminum tolerance of soybean varieties in relation to calcium nutrition. *Agron. Jour.*, 61:505-511.

FOY, C.D.; ORELLANA, R.G.; SCHWARTZ, J.W. & FLEMING, A.L. 1974a. Response of sunflower genotypes to aluminum in acid soil and nutrient solution. *Agron. Jour.*, 66:293-296.

FOY, C.D.; LAFEVER, H.N.; SCHWARTZ, J.W. & FLEMING, A.L. 1974b. Aluminum tolerance of wheat cultivars related to region of origin. *Agron. Jour.*, 66:751-758.

FOY, C.D.; CHANEY, R.L. & WHITE, M.C. 1978. The physiology of metal to -

xicity in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 29:511-566.

GOODLAND, R. 1971. Oligomorfismo e alumínio no cerrado. Em: III Simpósio Sobre o Cerrado (São Paulo). M.G. Ferri (coord.). Editora Edgard Blucher Ltda - Editora da Universidade de São Paulo. pp.239.

HACKETT, C. 1967. Ecological aspects of the nutrition of Deschampsia flexuosa (L.). III. Investigation of phosphorus requirement and response to aluminum in water culture and a study of growth in soil. *J. Ecol.*, 55:831-840.

HOWELER, R.H. & CADAVID, L.F. 1976. Screening of rice cultivars in nutrient solution as compared with a field screening method. *Agron. Jour.*, 68:551-555.

JONES, L.H. 1961. Aluminum uptake and toxicity in plants. *Plant and Soil*, 13:297-310.

KERRIDGE, P.C. & KRONSTAD, W.E. 1968. Evidence of genetic resistance to aluminum toxicity in wheat (Triticum aestivum vill., Host). *Agron. Jour.*, 60:710-711.

KERRIDGE, P.C.; DAWSON, M.D. & MOORE, D.P. 1971. Separation of degrees of aluminum tolerance in wheat. *Agron. Jour.*, 63:586-590.

KESER, M.; NEUBAUER, B.F. & HUTCHINSON, F.E. 1975. Influence of aluminum ions on developmental morphology of sugarbeet roots. *Agron. Jour.*, 67:84-88.

KESER, M.; NEUBAUER, B.F.; HUTCHINSON, F.E. & VERRIL, D.B. 1977. Differential aluminum tolerance of sugarbeet cultivars as evidenced by anatomical structure. *Agron. Jour.*, 69:347-350.

KIESSELBACH, T.A. 1949. The structure and reproduction of corn. *Nebraska Agric. Exp. Stn. Research. Bull.* Nº 161, Lincoln, Nebraska, 96 p. (citado em: *Melhoramento e produção de milho no Brasil*. E. Pater-niani (coord.), Piracicaba/ESALQ, MARPRINT, 1978, p.34)

LAFEVER, H.N.; CAMPBELL, L.G. & FOY, C.D. 1977. Differential response of wheat cultivars to Al. *Agron. Jour.*, 69:563-568.

LEVINE, T.E.; FOY, C.D.; FLEMING, A.L.; HANSON, C.H.; CAMPBELL, T.A. ; MCMURTREY III, J.E. & SCHWARTZ, J.W. 1976. Development of alfafa strains with differential tolerance to aluminum toxicity. *Plant and Soil*, 44:73-79.

MACLEOD, L.B. & JACKSON, L.P. 1967. Aluminum tolerance of two barley varieties in nutrient solution, peat and soil culture. *Agron. Jour.*, 59:359-363.

MALAVOLTA, E.; SARRUGE, J.R. & BITTENCOURT, V.C. 1976. Toxidez de alumínio e manganês. Em: *IV Simpósio Sobre o Cerrado (Brasília)*. M.G. Ferri (coord.). Livraria Itatiaia Editora Ltda - Editora da Universidade de São Paulo. pp.275-301.

MARTINI, J.A.; KOCHHANN, R.A.; GOMES, E.P. & LANGER, F. 1977. Response of wheat cultivars to liming in some high Al oxisols of Rio Grande

- do Sul, Brazil. Agron. Jour., 69:612-616.
- MATSUMOTO, H.; HIRASAWA, E.; TORIKAI, H. & TAKAHASHI, E. 1976. Localization of absorbed aluminum in pea root and its binding to nucleic acids. Plant & Cell Physiol., 17:127-137.
- MATSUMOTO, H.; MORIMURA, S. & TAKAHASHI, E. 1977. Binding of aluminum to DNA of DNP in pea root nuclei. Plant & Cell Physiol., 18:987-993.
- MCCORMICK, L.H. & BORDEN, F.Y. 1972. Phosphate fixation by aluminum in plant roots. Soil Sci. Am. Proc., 36:759-802.
- MCLEAN, A.A. & CHIASSON, T.C. 1966. Differential performance of two barley varieties to varying aluminum concentration. Can. J. Soil Sci., 46:147-153.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA 1960. Levantamento e reconhecimento dos solos do Estado de São Paulo.
- MUGWIRA, L.M. & PATEL, S.U. 1977. Root zone pH changes and ion uptake imbalances by triticale, wheat, and rye. Agron. Jour., 69:719-722.
- MURRAY, J.J. & FOY, C.D. 1978. Differential tolerance of turfgrass cultivars to an acid soil high in exchangeable aluminum. Agron. Jour., 70:769-774.
- NAIDOO, G.; STEWART, J.M. & LEWIS, R.J. 1978. Accumulation sites of Al in snapbean and cotton roots. Agron. Jour., 70:489-492.

OLMOS, J.I.L. & CAMARGO, M.N. 1976. Ocorrência de alumínio tóxico nos solos do Brasil, sua caracterização e distribuição. *Ciência e Cultura*, 28(2):171-180.

OUTSUKA, D.T. 1968a. Aluminum and manganese toxicities in plants. II. Effects of aluminum on growth of barley, wheat, oats and rye seedlings. *Jour. Sci. Soil Manure (Tōkyo)*, 39:469-474.

OUTSUKA, D.T. 1968b. Aluminum and manganese toxicities in plants. III. Effects of aluminum-ion concentration and phosphorus uptake of grafted tomatoes. *Jour. Sci. Soil Manure (Tōkyo)*, 39:475-478.

OUTSUKA, K. 1970. Aluminum induced Fe chlorosis. Aluminum and manganese toxicities for plants. IV. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 16:40, Abstr. 2. (citado por FOY et al., 1978).

RASMUSSEN, H.P. 1968. The mode of entry and distribution of aluminum in Zea mays: electron microprobe X-ray analysis. *Planta(Berl.)*, 81: 28-37.

REID, D.A. 1970. Genetic control of reaction to aluminum in winter barley. *Barley Genetics II. Proc. 2nd Inter. Barley Genetics Symp.*, 409-413.

REID, D.A.; JONES, G.D.; ARMINGER, W.H.; FOY, C.D.; KOCH, E.J. & STARLING, T.M. 1969. Differential aluminum tolerance of winter barley varieties and selections in associated greenhouse and field experiments. *Agron. Jour.*, 61:218-222.



REID, D.A.; FLEMING, A.L. & FOY, C.D. 1971. A method for determining aluminum response of barley in nutrient solution in comparison to response in Al-toxic soil. *Agron. Jour.*, 63:600-603.

RHUE, R.D. & GROGAN, C.O. 1977. Screening corn for Al tolerance using different Ca and Mg concentration. *Agron. Jour.*, 69:755-760.

RORISON, I.H. 1958. The effect of aluminum on legume nutrition. Em: Nutrition of legumes. E.G. Hallworth (ed.). Butterworth, London. pp. 359.

SALINAS, J.G. & SANCHEZ, P.A. 1976. Soil-plant relationships affecting varietal and species differences in tolerance to low available soil phosphorus. *Ciência e Cultura*, 28(2): 156-168.

SAMPSON, M.; CLARKSON, D.T. & DAVIS, D.D. 1965. DNA synthesis in aluminum-treated roots of barley. *Science*, 148:1476-1477.

SARTAIN, J.B. & KAMPRATH, E.J. 1977. Effect of soil Al saturation on nutrient concentration of soybean tops, roots and nodules. *Agron. Jour.*, 69:843-845.

SARTAIN, J.B. & KAMPRATH, E.J. 1978. Aluminum tolerance of soybean cultivars based on root elongation in solution culture compared with growth in acid soil. *Agron. Jour.*, 70:17-20.

SILVA, W.J. & FURLANI, P.R. 1976. Critérios para "screening" de milho tolerante ao alumínio em solução nutritiva. *Anais da XXVIII Reunião A-*

nual da Soc. Bras. Prog. Ciênc., p.278.

STØLEN, O. & ANDERSEN, S. 1978. Inheritance of tolerance to low soil pH in barley. *Hereditas*, 88(1):101-105.

VICKERS, J.C.; ZAK, J.M. & ODURUKWE, S.O. 1977. Effects of pH and Al on the growth and chemical composition of cicer milkvetch. *Agron. Jour.*, 69:511-513.

VICKERS, J.C. & ZAK, J.M. 1978. Effects of pH, P and Al on the growth and chemical composition of crownvetch. *Agron. Jour.*, 70:748-751.

WRIGHT, K.E. 1952. Aluminum toxicity studies with radioactive phosphorus. *Plant Physiol.*, 28:674-680.