

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM
Urochloa spp..**

**Gislayne de Araujo Bitencourt
Bióloga**

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM
*Urochloa spp.***

Gislayne de Araujo Bitencourt

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Moro

Co-orientadora: Dra. Lucimara Chiari

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2010

B624a Bitencourt, Gislayne de Araujo
Avaliação da tolerância ao alumínio em *Urochloa* spp.. /
Gislayne de Araujo Bitencourt. - - Jaboticabal, 2010
xi, 60 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - 2010

Orientador: José Roberto Moro

Banca examinadora: Ricardo Machado da Silva, Rinaldo Cesar
de Paula

Bibliografia

1. Capim-braquiária, 2. Cloreto de cálcio, 3. Cloreto de alumínio,
4. Estresse abiótico, 5. Método solução, 6. Solos ácidos. I. Título. II.
Jaboticabal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.52:631.453

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

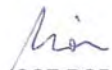
TÍTULO: AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM *Urochloa* spp..

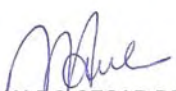
AUTORA: GISLAYNE DE ARAUJO BITENCOURT

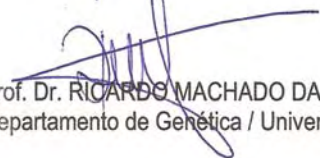
ORIENTADOR: Prof. Dr. JOSE ROBERTO MORO

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. LUCIMARA CHIARI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JOSE ROBERTO MORO
Departamento de Biol Aplicada A Agrop / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. RINALDO CESAR DE PAULA
Departamento de Producao Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. RICARDO MACHADO DA SILVA
Departamento de Genética / Universidade de Taubaté

Data da realização: 05 de julho de 2010.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GISLAYNE DE ARAUJO BITENCOURT nasceu em 05 de agosto de 1986, na cidade de Campo Grande, MS. Iniciou o curso de graduação em Ciências Biológicas na Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal- UNIDERP de Campo Grande MS, em 2004, vindo a graduar-se em 2007. Durante o curso de graduação, desenvolveu trabalhos de pesquisa na área de Genética e Melhoramento de Plantas como bolsista PIBIC/CNPq na Embrapa Gado de Corte localizada em Campo Grande, MS e participou de eventos científicos com apresentação de trabalhos e publicação de um boletim de pesquisa intitulado: “Uso de Marcadores RAPD na Identificação de híbridos de *Brachiaria humidicola*”. Em agosto de 2008 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP/FCAV), Câmpus de Jaboticabal, SP.

*“A mente que se abre a uma nova
idéia jamais voltará ao seu
tamanho original”.*

Albert Einstein

*Aos meus pais Vera Lúcia de Araujo Bitencourt
e Godofredo Alves Bitencourt Filho, pelo amor
eterno e incondicional, confiança e apoio.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado o dom da vida, por ter me guiado pelo caminho correto, e ter me ajudado a enfrentar todos os obstáculos que surgiram no meu caminho.

Aos meus pais e meu irmão Vinicius de Araujo Bitencourt, obrigada por estarem comigo nessa. A todos da minha família que direta e indiretamente colaboraram comigo, obrigada pela força.

Ao programa de Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal.

À Embrapa Gado de Corte - MS pela oportunidade de desenvolver grande parte desta pesquisa.

À Capes pela bolsa de mestrado concedida.

Ao professor Dr. José Roberto Moro, muito obrigada pela oportunidade, pela orientação, pelos ensinamentos, instruções e amizade.

Ao professor Dr. Dilermando Perecin, ex-coordenador do programa de pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, e ao professor Dr. Rinaldo César de Paula, atual coordenador do programa, muito obrigada pela oportunidade de ingressar nesse programa de pós-graduação e por terem participado do meu exame geral de qualificação, suas contribuições foram fundamentais para o aprimoramento da dissertação.

À Dra. Lucimara Chiari, pesquisadora da Embrapa Gado de Corte e co-orientadora neste trabalho, pela oportunidade, orientação e ensinamentos.

À Dra. Cacilda Borges do Valle, pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, pelo apoio e ensinamentos.

Ao Dr. Valdemir Antônio Laura, pesquisador da Embrapa Gado de Corte, pelo apoio, ensinamentos, auxílio na estatística. Muito obrigada!

Ao Dr. André Luiz Julien Ferraz, Bolsista DCR do CNPq na Embrapa Gado de Corte, pelo auxílio, ensinamentos, apoio e principalmente pela amizade.

À Gisele C. Olivas Leguizamón, laboratorista na Biotecnologia Vegetal - Embrapa Gado de Corte, não tenho palavras para agradecer, você esteve comigo na grande parte dos experimentos, me ajudou até nos finais de semana medindo as raízes.

Ao Renato Henrique Marçal de Oliveira, laboratorista na Sanidade Animal - Embrapa Gado de Corte, obrigada pelo auxílio e ensinamentos. Muito Obrigada!

A todos os professores que fizeram parte do meu aprendizado e que colaboraram com a minha formação acadêmica.

A todos os estagiários que se encontram e já passaram pela Embrapa Gado de Corte (Alex, Ana, Elvia, Carla, Carolina, Carlos, Cristoffer, Danila, Darlan, Débora, Dreyce, Elizangêla, Erika, Larissa, Marcelo, Mariane, Pedro, Rebecca, Simoni), laboratoristas (Isaura e Luís) e técnicos agrícolas (Silvano e Ramon) que me auxiliaram no meu experimento. Muito obrigada!

À Márcia Fiorese Mataqueiro, técnica do laboratório de citogenética da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, ao Flávio Trevisoli Silveira, técnico de campo também da Universidade, e aos meus irmãos: Cláudia Demetrio, Maria Natália, Lidiane Silva, Fred, pela parceria, pelo apoio, força e amizade. Adoro todos vocês. Muito obrigada!

Aos meus grandes amigos, e companheiros de Jaboticabal que ainda estão e aos que já passaram: Agda, Alan, Balango, Biliscado, Bruno Guilherme, Cutucado, Dri, Elaine, Fabrício, Flávia, Guilherme, Hypopo, Jean, Jontex, Juliana, Karina, Lerdinho, Lesada, Liliam, Lina, Lost, Mônica, Mutuca, Nycolas, O coisa, Onçinha, Onçona, Poliane, Splinter, Sufrida, Thiago, Vanessa, Viviane, Zé galera. Sentirei muita saudade de vocês, espero um dia poder revê-los. Vocês estão guardados no meu coração!

Aos moradores das repúblicas Caipirada, Toca das Onças, Myshéria, Pau da Goiaba, obrigada pelo apoio e amizade.

Aos meus amigos: Alison Fávero, Bruno Aguiar, Bruno, Carine Simioni, Cristiane Vieira, Delma Rodrigues, Diego, Elisa Melo, Evelyn Cathcart, Fábio Amorin, Fábio, Felipe, Gabriel, Henrique, Juliana de Araujo, Kamila Sauler, Laura,

Leonardo Salgado, Lui Martin, Lunna, Marcilio, Mauriziu, Nataly Foscaches, Poliana Dias, Thiago Kohagura, Vinicius, Wedney Rodophó.

E a todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas.....	1
Lista de tabelas.....	2
Lista de figuras.....	3
RESUMO.....	4
SUMMARY.....	5
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	6
1. Introdução.....	6
2. Revisão de literatura.....	7
2.1. Melhoramento genético de <i>Urochloa</i>	7
2.2. O alumínio tóxico no solo.....	9
2.3. Toxicidade do alumínio em plantas.....	12
2.4. Mecanismos de tolerância ao alumínio tóxico.....	13
2.5. Métodos de seleção para tolerância ao alumínio.....	15
2.6. Controle genético da tolerância ao alumínio em gramíneas.....	17
2.7. Sinteria entre genomas de gramíneas.....	19
CAPÍTULO 2 - Tolerância de genótipos de capim-braquiária ao alumínio.....	21
Resumo.....	21
Introdução.....	22
Material e Métodos.....	23
Resultados e Discussão.....	25
Conclusões.....	33
CAPÍTULO 3 - Avaliação da tolerância de duas cultivares de capim-braquiária a diferentes doses de alumínio.....	34
Resumo.....	34
Introdução.....	34
Material e Métodos.....	36
Resultados e Discussão.....	37

Conclusões.....	41
CAPITULO 3- IMPLICAÇÕES.....	42
CAPITULO 4- REFERÊNCIAS.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS

°C - Graus Celsius

Al - Alumínio

Al³⁺ - Alumínio trivalente (Al livre) a forma mais tóxica

Al(H₂O)₆³⁺ - forma octaedral hexahidratado do alumínio Al³⁺

ANOVA- Análise de variância

CR- Comprimento de raiz

CRR- Comprimento relativo de raiz

cv.- Cultivar

DR- Diâmetro de raiz

EDR- Engrossamento do diâmetro de raiz

g - Grama

h – Horas

H₂O- Água

ICR- Inibição do comprimento de raiz

ITR- Índice de tolerância ao Al

ITR-CR- Índice de tolerância ao Al do comprimento de raiz

ITR-DR- Índice de tolerância ao Al do diâmetro de raiz

L - Litro

M - Molar

mg - Miligrama

min - Minutos

MS - Matéria seca de raiz

µM - Micromolar

pH - Potencial Hidrogeniônico

spp. - Espécies

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2 - Tolerância de genótipos de <i>Urochloa</i> P. Beauv. spp. (syn. <i>Brachiaria</i> (Trin.) Griseb. spp.) ao alumínio.....	21
Tabela 1. Resumo da análise de variância para as variáveis: comprimento da raiz principal (CR) e diâmetro de raiz principal (DR), nos dez genótipos de <i>Urochloa</i> submetidos as soluções com e sem alumínio (Al) em cultivo hidropônico.....	25
Tabela 2. Estimativas dos índices de tolerância relativa (ITR) para as características comprimento de raiz principal (CR) e diâmetro da raiz principal (DR) e classificação dos genótipos quanto à tolerância ao Al.....	31
Capítulo 3 - Avaliação da tolerância de duas cultivares de capim-braquiária a diferentes doses de alumínio.....	34
Tabela 1. Análise de variância para (CRR) crescimento de raiz, (DR) diâmetro de raiz e (PS) peso seco de raiz para duas cultivares de <i>Urochloa</i> submetidos a quatro tratamentos com Al.....	37

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2 - Tolerância de genótipos de <i>Urochloa</i> P. Beauv. spp. (syn. <i>Brachiaria</i> (Trin.) Griseb. spp.) ao alumínio.....	21
Figura 1. Médias do comprimento da raiz principal (CR) dos dez genótipos de <i>Urochloa</i> crescidos nas soluções sem e com alumínio (Al).....	26
Figura 2. Inibição, em porcentagem, do comprimento das raízes (ICR) observado nos dez genótipos de <i>Urochloa</i> estudados quando submetidos ao Al.....	27
Figura 3. Médias do diâmetro da raiz principal (DR) para os dez genótipos de <i>Urochloa</i> crescidos nas soluções sem e com alumínio (Al).....	29
Figura 4. Engrossamento, em porcentagem, do diâmetro das raízes (EDR) observado nos dez genótipos de <i>Urochloa</i> estudados quando submetidos ao Al.....	30
Capítulo 3 - Avaliação da tolerância de duas cultivares de capim-braquiária a diferentes doses de alumínio.....	34
Figura 1. Crescimento relativo de raiz (CRR) para as duas cultivares de <i>Urochloa</i> (cv. Basilisk e Marandu) nas quatro doses de AlCl_3 (μM).....	38
Figura 2. Diâmetro de raiz (DR) para duas cultivares de <i>Urochloa</i> (cv. Basilisk e Marandu) nas quatro doses de AlCl_3 (μM).....	39
Figura 3. Peso seco de raiz (g) para duas cultivares de <i>Urochloa</i> (cv. Basilisk e Marandu) nas quatro doses de AlCl_3 (μM).....	40

AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM *Urochloa* spp.

RESUMO - O alumínio (Al) é um dos principais responsáveis pela baixa adaptação de plantas em solos ácidos, por isso, se faz necessária a busca por cultivares tolerantes e a definição da dose utilizada no estresse são alvos para estudos no capim-braquiária. O objetivo neste trabalho foi avaliar genótipos de braquiária quanto à tolerância ao Al em solução. Realizaram-se dois experimentos, o primeiro visando auxiliar na escolha de genitores para obtenção de uma população segregante para estudos de herança e mapeamento; e, o segundo para determinar a dose de Al para utilização em estudos de expressão gênica. No primeiro experimento avaliaram-se cinco genótipos de *Urochloa decumbens* e cinco de *U. ruzizensis* em solução contendo apenas cálcio (200 μ M CaCl_2) e duas doses de Al (0 e 200 μ M AlCl_3) em pH 4,2. Medidas do comprimento da raiz (CR) e diâmetro da raiz (DR) foram avaliadas e os genótipos foram classificados pelos índices de tolerância relativa (ITR). Os resultados apontaram o genótipo D62 (cv. Basilisk) como o único tolerante ao Al e o R50 o único sensível, os demais genótipos apresentaram de média a baixa tolerância ao Al. No segundo experimento, as cultivares *U. decumbens* cv. Basilisk (tolerante) e *U. brizantha* cv. Marandu (sensível) foram submetidas a quatro doses de Al (0; 200; 400 e 600 μ M AlCl_3 , pH 4,2). As variáveis avaliadas foram CR, DR e peso seco (PS) das raízes. Os resultados evidenciaram que a cv. Marandu foi sensível a todas as doses e a cv. Basilisk foi tolerante até a dose 400 μ M, perdendo sua tolerância em 600 μ M de AlCl_3 .

Palavras-chave: capim-braquiária, cloreto de cálcio, cloreto de alumínio, estresse abiótico, método solução, solos ácidos

EVALUATION OF TOLERANCE TO ALUMINUM IN *Urochloa* spp.

SUMMARY- Aluminum (Al) is the one of main causes in low adaptation of plants in acid soils, therefore it's necessary to search for tolerant cultivars and the definition of the dose of stress are targets for studies on brachiariagrass. The objective was to evaluate genotypes for tolerance of Al in solution. There were two experiments, first, seeking help in the choice of parents to obtain a segregating population for studies of inheritance and mapping, and the second, to determine the dose of Al for used in studies of gene expression. In the first experiment was evaluated in five genotypes of *Urochloa decumbens* and five *U. ruziziensis* in solution containing only calcium (200 μM CaCl_2) and two doses of Al (0 and 200 μM AlCl_3) with pH 4,2. Measurements of length of root (CR) diameter of root (RD) were evaluated and the genotypes were classified by the indices of tolerance (ITR). The results indicated the D62 genotype (cv. Basilisk) as the only tolerant to Al and R50 the only sensitive, the other genotypes showed average to low tolerance to Al. In the second experiment, cultivars *U. decumbens* cv. Basilisk (tolerant) and *U. brizantha* cv. Marandu (sensitive) were subjected at four doses of Al (0, 200, 400 and 600 μM AlCl_3 pH4,2). The variables were evaluated CR, DR and dry weight (PS) of roots. The results showed cv. Marandu was sensitive to all doses and a cv. Basilisk was tolerant to the dose of 400 μM AlCl_3 , losing their tolerance at 600 μM of AlCl_3 .

Key words: brachiariagrass, calcium chloride, aluminum chloride, abiotic stress, solution method, acid soils

CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

O Brasil detém o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com cerca de 169 milhões de cabeças, onde a forragem é a base da alimentação. As pastagens ocupam aproximadamente 172 milhões de hectares das áreas agricultáveis brasileira. Desse total, estima-se que 99 milhões de hectares são cobertos por capim-braquiária, sendo que 34,9 milhões estão na região centro-oeste. Aproximadamente 95% da carne bovina produzida no País têm origem nos rebanhos mantidos exclusivamente em pastos, fato que indica quão importantes são essas áreas para a pecuária e, conseqüentemente, para a economia nacional (ANUALPEC, 2008).

A região dos Cerrados ocupa quase um quarto do território nacional. Os solos predominantes nessa região são os latossolos caracteristicamente ácidos, com baixos valores de capacidade troca catiônica, alta saturação de alumínio (Al) e reduzida disponibilidade de fósforo (RADAMBRASIL, 1981).

A acidificação dos solos pode ocorrer naturalmente quando cátions são lixiviados, mas também pode ser acelerada pelas práticas agrícolas ou mesmo pelas chuvas ácidas (KENNEDY, 1986). A elevada acidez pode tornar-se tóxica e causar danos no desenvolvimento das plantas, sendo fator determinante da baixa produtividade agrícola em solos ácidos.

Esses problemas podem ser corrigidos através da prática de calagem, que consiste na aplicação e incorporação de calcário no solo. Embora a calagem possa eliminar os efeitos tóxicos do Al solúvel, a incorporação do calcário em áreas profundas é inviável, pelos custos elevados, fazendo com que as raízes das plantas atinjam apenas a camada superficial do solo, tornando-as mais suscetíveis a oscilações na disponibilidade de água no solo (CANÇADO et al., 2001).

A acidificação pode reduzir o crescimento de raízes e a absorção de nutrientes essenciais do solo (PERSSON & MADJI, 1995). A insuficiência na

quantidade de um determinado elemento químico essencial para a vida da planta, ou combinações que o tornem pouco disponível, pode provocar distúrbios no metabolismo, que podem ser evidenciados externamente, através da diminuição do crescimento, clorose foliar ou outras anomalias (EPSTEIN, 1975).

Geralmente é difícil determinar se os efeitos adversos da acidificação do solo no crescimento e desenvolvimento de plantas são atribuídos à alta concentração de Al ou de H⁺. Porém, hipóteses sugerem que os efeitos da acidificação do solo estão relacionados ao baixo pH, como aos metais fitotóxicos dissolvidos, como o Al (LOPES et al., 1990).

A identificação de material genético tolerante e a definição da dose e do tempo de estresse podem oferecer importantes subsídios aos programas de melhoramento genético e à recomendação de cultivares visando o melhor aproveitamento dos solos ácidos e a busca de genes associados a esse estresse. Desta forma, trabalhos de expressão gênica são de extremo interesse, visto que, estudos realizados por BUITRAGO et al. (2003) demonstraram que em braquiária essa característica tem herança poligênica.

Com base nos problemas que o Al causa nas plantas se faz necessários estudos com essas espécies forrageiras tropicais, de grande importância para a pecuária brasileira. Para tanto, o objetivo foi avaliar genótipos das três principais espécies de *Urochloa* quanto a tolerância ao Al, utilizando perfilhos enraizados em diferentes doses de AlCl₃ em solução contendo apenas cálcio, caracterizando-os como tolerantes e sensíveis ao Al tóxico.

2. Revisão de Literatura

2.1. Melhoramento genético de *Urochloa*

Gramíneas do gênero *Brachiaria* (Trin.) Griseb. constituem as principais forrageiras distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais. A maioria das

espécies tem como centro de origem o continente africano e são encontradas em “habitats” variados (KELLER-GREIN et al., 1996). Algumas das espécies desse gênero, principalmente as de importância forrageira foram transferidas para o gênero *Urochloa* P. Beauv., como as cultivares comerciais: *U. brizantha*, *U. decumbens*, *U. dictyoneura*, *U. humidicola* e *U. ruziziensis*, que correspondem as espécies de *Brachiaria* (GONZÁLEZ & MORTON, 2005).

Essas forrageiras são comumente conhecidas como capim-braquiária ou simplesmente braquiária e alcançaram grande importância econômica no Brasil, nos últimos 30 anos, viabilizando a atividade pecuária nos solos fracos e ácidos dos Cerrados e promovendo novos pólos de desenvolvimento e colonização no Brasil Central (VALLE et al., 2009).

Por apresentar uma adaptação excepcional a solos ácidos e de baixa fertilidade natural, alguns poucos ecotipos de braquiária, introduzidos entre 1965 e 1975, tiveram, nas três décadas seguintes, ampla expansão nos Cerrados brasileiros e savanas da América Tropical. Ao longo desse tempo, a tecnificação da produção de sementes para suprir esse grande mercado colocou o Brasil como o maior produtor e exportador de sementes de forrageiras tropicais do mundo (VALLE et al., 2009).

Dentre os estudos básicos necessários em programas de melhoramento, como o de braquiárias, a citogenética, mostrou-se crucial, não apenas para auxiliar na seleção de genitores compatíveis determinando-se o nível de ploidia e a ausência de anormalidades meióticas que comprometam a viabilidade dos gametas, como, também, para a elucidação de problemas de fecundidade e produção de sementes viáveis em híbridos selecionados pelo bom desenvolvimento vegetativo. A apomixia em *Urochloa* é a aposporia do tipo *Panicum* e é, geralmente, facultativa, isto é, algumas flores exibem ocasionalmente sacos meióticos passíveis de serem fecundados e originarem híbridos. Fosse a apomixia obrigatória, o melhoramento genético dessas plantas seria impossível, uma vez que não permitiria cruzamentos e introgressão de genes, para gerar nova variabilidade (VALLE et al., 2009).

No programa de melhoramento de *Urochloa*, são reconhecidas algumas deficiências das cultivares utilizadas comercialmente: *U. decumbens* cv. Basilisk é apomítica e tetraplóide, susceptível à cigarrinhas-das-pastagens, sendo persistente aos solos ácidos; *U. brizantha* cv. Marandu é apomítica e tetraplóide, resistente ao inseto, mas susceptível a “*Rhizoctonia*” e menos persistente em solos ácidos, pobres e mal drenados; *U. ruziziensis*, a única espécie sexual, porém diploide, entre essas, apresenta o melhor valor nutritivo, porém é susceptível a cigarrinhas-das-pastagens e não persiste em solos ácidos nem tolera longos períodos secos (MILES & VALLE, 1996; MILES et al., 2004).

A avaliação agrônômica de acessos do banco de germoplasma demonstrou uma variabilidade significativa, permitindo a seleção de ecotipos promissores e potenciais parentais apomíticos, tanto no Brasil, como na Colômbia (VALLE & MILES, 2001; MILES et al., 2004).

A base genética de algumas características de interesse em forrageiras são conhecidas. Pode-se dizer que para a maioria dos caracteres, os de maior importância, a herança genética é complexa, pouco conhecida e frequentemente poligênica. Apesar disso, o melhoramento tem proporcionado aumento contínuo da produtividade das plantas cultivadas. Entretanto, ganhos adicionais exigirão, cada vez mais, melhor conhecimento da biologia das espécies, bem como, da resposta à seleção em nível genotípico (SOUZA, 2001).

A adoção de cultivares melhoradas poderá aumentar a produtividade bem como contribuir para a diversificação de pastagens no Brasil tropical. A comercialização de cultivares como maior produtividade, resistência a estresses bióticos e abióticos, traz benefícios diretos aos produtores.

2.2. O alumínio tóxico no solo

O Al é o terceiro metal mais abundante da crosta terrestre, após o oxigênio e o silício (MA et al., 2001). É encontrado sob diferentes formas, como aluminossilicatos insolúveis ou óxidos (FOY et al., 1978; DELHAIZE & RYAN,

1995; LARSEN et al., 1996). Quando em condições ácidas ($\text{pH} < 5,0$), apresenta-se na forma de $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, que por convenção é denominado Al^{3+} , a qual é tóxica para as plantas. Embora existam ainda as formas desprotonadas $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ e o relativamente pouco solúvel $\text{Al}(\text{OH})_3$, o Al^{3+} parece ser o íon mais fitotóxico para monocotiledôneas (KOCHIAN, 1995).

Os minerais de argila primários e secundários são, em grande parte, estruturalmente formados por Al_2O_3 , juntamente com SiO_2 . Devido à sua baixa solubilidade, os teores de Al no lençol freático atingem geralmente alguns centésimos ou décimos de mg/L (MATTHESS, 1983). Entretanto, com o processo de acidificação dos solos, onde o pH (em H_2O) atinge valores inferiores a 5,0, há um aumento na dissolução de óxidos ou hidróxidos de Al (SCHEFFER & SCHACHTSCHABEL, 1989).

Sendo o Al considerado um dos fatores limitantes da produção agrícola em solos ácidos, presente em mais de 50% dos solos cultiváveis no mundo, estando a maior porção localizada nas regiões tropicais e subtropicais (60%) (VON UEXKULL & MUTERT, 1995).

A associação das características dos solos ácidos e da nutrição da planta é complexa e envolve o conhecimento de muitas áreas de pesquisa. As maiores limitações dos solos ácidos do Cerrado brasileiro podem ser agrupadas em:

- (i) altos teores de H^+ e Al^{3+} ativos na solução do solo;
- (ii) baixa capacidade de troca catiônica;
- (iii) alta capacidade da fase sólida em absorver ânion, especialmente o íon fosfato,
- (iv) baixa atividade orgânica e biológica na fração do solo.

Os trabalhos pioneiros sobre a acidez do solo consideravam que o caráter ácido era devido apenas à matéria orgânica e que o H^+ era o único íon responsável pela acidez (QUAGGIO, 2000).

Como a remoção de cátions básicos é maior que sua taxa de liberação pelas intempéries, o pH do solo diminui. A mineralização da matéria orgânica por microrganismos do solo resulta na liberação de nitrato e de hidrogênio,

ocasionando a diminuição do pH. Em pH baixo, o H^+ atua sobre os minerais liberando íons Al (Al^{3+}) que ficam retidos pelas cargas negativas das partículas de argila do solo, em equilíbrio com o Al^{3+} em solução. Assim, a quantidade de Al^{3+} em solução aumenta com a acidez do solo. Em solos com pH acima de 5,5, o Al encontra-se em formas precipitadas e não tem efeito negativo no crescimento de plantas (BOHNEN, 1995).

O processo natural de acidificação do solo é, muitas vezes, intensificado por práticas agrícolas, pela mineração e por práticas de descarte de resíduos (FOY et al., 1978; RAO et al., 1993). No que se refere aos efeitos da agricultura, pode-se salientar que todos os resíduos de plantas orgânicas, fertilizantes à base de nitrogênio, fósforo, potássio e materiais nitrogenados são fontes de acidez (BOHNEN, 1995).

Alternativas de manejo vêm sendo utilizadas para contornar o problema causado pela toxidez provocada pelo Al. Essas alternativas se dividem em duas práticas. Uma seria o processo realizado por meio da calagem, que consiste na precipitação do Al solúvel pela adição de calcário agrícola ($CaCO_3 + MgCO_3$) ao solo. Contudo, a calagem é uma prática cuja eficiência se limita apenas à camada superficial do solo, pois a incorporação de calcário em profundidades maiores é economicamente e mecanicamente inviável, devido à baixa mobilidade dos componentes solúveis do solo. Sendo assim, a calagem favorece o desenvolvimento radicular apenas nas camadas superficiais do solo, o que favorece a planta a se tornar mais susceptível aos períodos de verânicos, que são bastante comuns em regiões do Cerrado brasileiro. Além disso, os efeitos da calagem nas camadas superficiais são ainda mais reduzidos sob condições de plantio direto, em que não há utilização de implementos agrícolas para revolver o solo (HARTWIG et al., 2007).

Outra forma de se evitar os efeitos danosos do Al é pelo desenvolvimento de cultivares mais tolerantes à presença deste cátion. Em milho, a maioria das variedades comerciais é susceptível ao Al tóxico, sendo a utilização de genótipos

tolerantes uma alternativa adequada para elevar a eficiência da cultura em regiões com limitação por acidez (PATERNIANI & FURLANI, 2002).

2.3. Toxicidade do alumínio em plantas

Os primeiros sintomas de toxicidade do Al em plantas foram observados por BECKMANN (1954), que constatou, em trigo e em outros cereais, sintomas de amarelecimento e de redução de crescimento de planta, sintoma o qual denominou de “crestamento”.

O primeiro sintoma da toxicidade do Al é extremamente rápido. Em apenas questão de minutos, este cátion, quando em contato com as raízes, promove, rapidamente, a paralisação do crescimento radicular, resultando em redução e danos no sistema radicular. Outros sintomas conhecidos também são de deficiência de nutrientes, como fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) e molibdênio (Mo), devido à interferência do Al nos processos de adsorção, transporte e uso desses nutrientes (BECKMANN, 1954; SILVA et al., 1984; JONES & KOCHIAN, 1995; BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 2002).

A deficiência de P causa o amarelecimento e a morte das pontas das folhas; os caules e as folhas ficam de coloração roxa. Em outras, plantas as injúrias causadas pelo Al podem aparecer como uma deficiência induzida por (Ca) ou problemas na sua translocação que são o enrolamento ou encurvamento de folhas jovens e o colapso dos pontos de crescimento e pecíolos (FOY et al., 1978).

Nas raízes, os sintomas característicos são o encurtamento e o espessamento das pontas, não ocorrendo à formação de ramificações finas, levando à ineficiência de absorção de água e dos nutrientes (KERRIGED et al., 1971; FOY, 1976). Estes efeitos provavelmente são devido à inibição da alongação e divisão celular, diminuindo o volume de solo explorado pelas raízes.

O sítio da toxicidade do Al está localizado no ápice da raiz (coifa, meristema e zona de alongação), que acumula mais Al^{3+} e atrai maiores danos físicos que os tecidos maduros da raiz. Basta a exposição, somente de dois a três milímetros do

ápice de raízes, a esse cátion para que seu crescimento seja inibido. Quando o Al é aplicado seletivamente à zona de alongamento ou em toda a raiz exceto o ápice, o crescimento não é afetado (RYAN et al. 1993; DELHAIZE & RYAN 1995).

FLEMING & FOY (1968) sugerem que a inibição do desenvolvimento das raízes possa ser um indicador biológico para seleção de plantas tolerantes ao Al tóxico no solo.

2.4. Mecanismos de tolerância ao alumínio tóxico

Espécies e cultivares de plantas variam quanto ao grau de tolerância ao excesso de Al no meio em que se desenvolvem. BENNET & BREEN (1991) explicam que o Al possui algumas propriedades inerentes, distintas de elementos biologicamente importantes, como Ca, as quais são de extrema importância para as plantas desenvolverem mecanismos de tolerância ao Al.

As mudanças bioquímicas e fisiológicas associadas aos mecanismos de tolerância ao Al não estão bem definidas. Muitos trabalhos têm sido feitos para determinar quais os mecanismos mais eficientes para proporcionar tolerância ao Al^{3+} (FOY et al., 1978; FURLANI, 1989; PIÑEROS & KOCHIAN, 2001). A dificuldade em determinar qual o mecanismo responsável pela tolerância ao Al é devida aos diferentes mecanismos fisiológicos e a ação em diferentes locais na planta (FOY et al., 1978; BAIER et al., 1995; ZHENG et al., 1998a). São duas as categorias de mecanismos de tolerância ao Al que têm sido propostas pela literatura.

A primeira consiste nos mecanismos simplásticos, que são decorrentes da imobilização ou da neutralização do Al dentro da célula.

A hortênsia é um exemplo deste mecanismo. Trata-se de uma planta ornamental cujas pétalas vão do vermelho ao azul quando o solo é acidificado. A alteração na cor é dada pela acumulação de complexos de Al nas pétalas. Esta espécie pode acumular até 3.000 mg/L de Al em suas folhas e pétalas, complexado com o citrato (MA et al., 1997).

Em trigo sarraceno, ZHENG et al. (1998b) indicaram que parte da tolerância ao Al abrangia exsudação de oxalato pelos ápices das raízes nesta espécie. Mas, ao mesmo tempo, elevadas concentrações de Al nas folhas eram acumuladas (até 15 mg/L), quando cultivado em solos ácidos (MA et al., 2001).

O capim *Urochloa decumbens*, é uma forrageira amplamente difundida nas regiões tropicais. A espécie é bem tolerante ao Al e um estudo hidropônico comparativo mostrou ser consideravelmente mais tolerante do que genótipos tolerantes de trigo, milho e triticale (WENZL et al., 2001; 2002).

É conhecido que há apenas uma porção de exclusão de Al pelas raízes de *Urochloa*. Em outra espécie, *U. ruziziensis*, adveio a acumulação de duas vezes mais Al em relação a *U. decumbens* nos ápices radiculares. No entanto, não foi examinada a exsudação de ácidos orgânicos na superfície do ápice da raiz em ambas as espécies. Em um estudo seguinte, no intuito de investigar o processo de desintoxicação interna do Al, WENZL et al. (2002) identificaram um incremento significativo de citrato nas pontas de raízes de *U. decumbens* e *U. ruziziensis*, somente uma pequena fração deste ácido orgânico foi secretado pelo ápice radicular. Os autores sugerem que um processo interno de desintoxicação e seqüestro do Al através do citrato pode exercer importante papel na tolerância ao Al nessas espécies.

Provavelmente, estas espécies desempenham importantes recursos em mecanismos e genes de tolerância a esse metal, esta curiosidade levou, nos últimos anos, a muitos projetos de investigação genética e molecular das bases da tolerância ao Al, principalmente em *U. decumbens*.

A segunda categoria de mecanismo seriam os mecanismos de exclusão ou apoplásticos, que consistem na imobilização ou na neutralização do Al externamente à célula (TAYLOR, 1991; KOCHIAN, 1995).

O ácido orgânico exsudado na presença de Al mais comum entre as espécies é o citrato. Além disso, é o mais efetivo entre os ácidos orgânicos. Por ser um ânion di e tricarboxilado, ele pode formar quelatos com o Al^{3+} extremamente mais estáveis, se comparados com os quelatos formados pelo

malato (ânion dicarboxilado). Dessa forma ficou confirmada a importância do citrato como ácido orgânico associado à tolerância ao Al tóxico (SILVA, 2008).

2.5. Métodos de seleção para tolerância ao alumínio

A seleção de plantas tolerantes ao Al é considerada uma alternativa mais adequada para aumentar a produção em solos ácidos com altas concentrações de Al. Diferentes métodos de seleção têm sido empregados, como cultivos em campo ou em soluções nutritivas (hidropônicas). Ambas as metodologias têm vantagens e desvantagens distintas.

Técnicas de seleção a campo selecionam germoplasmas sob condições climáticas e de solo naturais e os dados finais refletem uma integração dos efeitos do estresse da toxicidade do Al e todas as condições do solo com o ciclo de crescimento completo. As desvantagens dos testes a campo são: o tempo requerido, geralmente um ciclo completo da cultura; problemas da variabilidade das características do solo; efeitos de resistência diferencial a doenças e pragas; vulnerabilidade do material às intempéries ambientais, como seca ou inundação e a inabilidade em interpretar o desempenho das plantas em função da complexidade das interações do meio ambiente, além do que, não pode garantir que somente o Al é o elemento tóxico presente no solo. (KERRIDGE et al., 1971; FURLANI & CLARK, 1981).

A utilização da solução nutritiva tem superado estas dificuldades, permitindo uma imediata observação da inibição da alongação das raízes o que é um dos primeiros sintomas da toxidez do Al. Uma das maiores dificuldades das soluções nutritivas, no estudo da toxidez de Al, tem sido o inadequado controle do pH e do teor de fósforo (P) por consequência da concentração de Al. O controle destes parâmetros são necessários para a precisão dos estudos genéticos. KERRIDGE et al. (1971) e SOUZA (2001) concluíram que a tolerância ao Al em solução nutritiva, foi relativamente semelhante àquela obtida quando as plantas foram cultivadas em solos, além de terem repetibilidade de resultados devido ao controle

da concentração de Al através do monitoramento do teor de P e do pH. A solubilidade do Al pode ser determinada pela concentração de P, causando sua precipitação na forma de $\text{Al}(\text{OH})_3$. Deste modo, segundo CAMARGO (1985), deve-se evitar a utilização de P nas soluções de tratamento contendo Al.

CAMARGO (1983; 1984) verificando o pH da solução nutritiva para avaliar a toxidez ao Al, observou que com a elevação do pH de quatro para sete, diminuiu a concentração do Al por consequência a sua solubilidade. Deste modo, para a seleção de plantas tolerantes ao Al, além da concentração de sais, a temperatura, deve-se controlar o pH da solução nutritiva, para que os resultados obtidos possam ser repetidos em outros trabalhos com a mesma precisão.

WENZL et al. 2006 avaliou o comprimento e diâmetro das raízes de genótipos de *Urochloa* em solução contendo apenas cloreto de cálcio (200 μM de CaCl_2) mais o cloreto de Al (200 μM de AlCl_3). Isso por que o cálcio (Ca) é um nutriente com papel preponderante no crescimento radicular das plantas (RITCHEY et al., 1982), e por isso deve estar presente nas soluções com a finalidade de avaliar a toxicidade do Al. Pois quando a saturação de Ca no complexo de troca é inferior a 20%, há uma forte limitação ao crescimento das raízes no solo ou em solução, na maioria das espécies cultivadas (QUAGGIO, 2000).

Segundo QUAGGIO (2000) a absorção de Ca ocorre apenas nas partes mais novas, ainda não suberizadas das raízes, havendo assim necessidade de absorção contínua desse nutriente para assegurar o desenvolvimento do sistema radicular, o que implica que o Ca deve estar distribuído adequadamente no solo e ou em solução. É importante acrescentar que estes fatores químicos que afetam o crescimento radicular são muito importantes nas áreas tropicais, tendo em vista que grande parte dos solos desta região apresenta reação ácida, com alta concentração de Al tóxico e baixo conteúdo de Ca. Portanto, a presença de Ca na solução do solo, em contato com o sistema radicular é essencial à sobrevivência das plantas, pois esse nutriente não se transloca da parte aérea para as porções novas das raízes em crescimento (CAIRES et al., 2001).

São várias as características utilizadas na avaliação da tolerância ao Al no solo ou em solução nutritiva. Dentre estas, a capacidade do material alterar o pH do meio (KOCHIAN, 1995), a observação visual do desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular (DEVINE et al., 1976); o comprimento da raiz mais longa; ou da folha mais longa; o número de raízes principais; o peso do sistema radicular e aéreo (LAFEVER et al., 1977; LAFEVER & CAMPBELL, 1978); o comprimento inicial da raiz principal; comprimento final da raiz principal, comprimento final relativo de raiz principal (FLOSS, 1992); a coloração das raízes principais em solução aquosa de hematoxilina (POLLE et al. 1978); recrescimento da raiz principal (CAMARGO & OLIVEIRA, 1981; DORNELES, 1994; SÁNCHEZ-CHACÓN et al., 2000; WAGNER et al., 2001; OLIVEIRA, 2002);

2.6. Controle genético da tolerância ao alumínio em gramíneas

A tolerância ao Al é geneticamente controlada e o padrão de herança depende da espécie estudada, podendo ser monogênica ou poligênica, mas, para a maioria das espécies, isso ainda não está completamente esclarecido.

Estudos de mapeamento molecular para genes de tolerância ao Al em gramíneas cultivadas da tribo Triticeae (trigo, cevada e centeio) têm sugerido que um ou poucos genes explicam a maior parte da variação fenotípica para tolerância ao Al (GARVIN & CARVER, 2003).

Em trigo (*Triticum aestivum* L.) os principais genes estão localizados no braço curto do cromossomo 5 do genoma A e nos braços longos dos cromossomos 2 e 4 do genoma D (ANIOL & GUSTAFSON, 1984; ANIOL, 1990; LAGOS et al., 1991).

DELHAIZE et al. (1993) associaram o loco *Alt1* com grande parte das diferenças de tolerância ao Al entre cultivares de trigo e, recentemente, o gene *Almt-1*, que codifica um transportador de malato ativado por Al em trigo, foi clonado por SASAKI et al. (2004).

GALLEGO & BENITO (1997) estudando dois cultivares de centeio (*Secale cereale*), um altamente tolerante e o outro medianamente tolerante ao Al, propuseram a existência de três genes *Alt* controlando a tolerância ao Al, concordando com ANIOL & GUSTAFSON (1984) que haviam localizado três genes de tolerância ao Al nos cromossomos 3, 4 e 6 do genoma R dessa espécie.

Em cevada (*Hordeum vulgare*), STOLEN & ANDERSEN (1978) encontraram um gene, designado *Pht*, que controla tolerância a solos com pH baixo, no loco K do cromossomo 4. O gene que controla a tolerância ao Al em cevada, denominado *Alp* (REID, 1969) ainda não foi mapeado, mas parece estar fisicamente associado com o gene *Pht* no mesmo cromossomo (MINELLA & SORRELLS, 1997).

Evidências apontam a existência de uma série alélica de locos ortólogos controlando a tolerância ao Al entre os membros dessa tribo (GARVIN & CARVER 2003) baseadas na conservação da localização dos genes nos cromossomos homeólogos 4DL em trigo, gene *Alt_{BH}* (RIEDE & ANDERSON, 1996); 4H em cevada, gene *Alp* (TANG et al., 2000) e 4RL em centeio, *Alt3* (MIFTAHUDIN et al., 2002).

Recentemente, em sorgo (*Sorghum bicolor* L.) foi mapeado um gene de tolerância ao Al (*Alt_{SB}*) localizado na porção terminal do cromossomo 3. Os resultados apontam que, nessa espécie, essa característica também parece ser controlada por um ou pouco genes (MAGALHÃES et al., 2004).

Em milho (*Zea mays*) a tolerância ao Al apresenta herança quantitativa (MAGNAVACA et al., 1987; LIMA et al., 1995). SIBOV et al. (1999) identificaram dois QTL associados com a tolerância ao Al nos cromossomos 6 e 10, enquanto que NINAMANGO-CÁRDENAS et al. (2003) mapearam cinco QTL nos cromossomos 2, 6 e 8.

Em arroz (*Oryza sativa*) estudos de QTL identificaram locos de tolerância ao Al em todos os 12 cromossomos (NGUVEN et al., 2002; 2003; WU et al., 2000), sugerindo uma herança complexa para a característica. O genoma do arroz está completamente sequenciado e estudos recentes dessas sequências

revelaram um gene que codifica para uma proteína de resistência ao AI, *Os04g0636300*, está localizado no cromossomo 4 (OHYANAGI et al., 2006).

Entre as gramíneas forrageiras tropicais, *U. decumbens* se destaca pela elevada tolerância ao AI, mesmo quando comparada aos genótipos de trigo, triticale e milho, tolerantes ao AI, enquanto, *U. ruziziensis* é muito sensível (WENZL et al., 2001; 2002).

BUITRAGO et al. (2003) avaliaram uma população segregante de 282 híbridos de *U. ruziziensis* x *U. decumbens* para a tolerância ao AI e observaram uma variação contínua, sugerindo uma herança poligênica. Esforços têm sido feitos para a descoberta de genes associados a essa característica (ARANGO et al., 2003), porém nenhum gene foi ainda descrito.

2.7. Sintenia entre genomas de gramíneas

A conservação na estrutura, sequência e ordem dos genes nos cromossomos, do genoma de espécies de plantas filogeneticamente próximas, denominada sintenia, podem prover a base para a interpretação da informação genética entre as espécies. Se as relações de ligação são conservadas, a informação genética, genes e marcadores moleculares identificados em uma espécie, podem ser explorados em outras espécies (SAGHAI-MAROOF et al., 1996).

Com base nas relações de ancestrais comuns é possível a identificação de genes ortólogos presentes em regiões genômicas conservadas (sintênicas) em diferentes espécies. De acordo com esta hipótese, genes com ancestrais comuns podem ser considerados como alelos interespecíficos, possibilitando a identificação de alelos superiores entre as espécies de gramíneas para serem utilizados em programas de melhoramento.

Em gramíneas, muitos estudos de mapeamento genético comparativo mostram a presença de grupos de ligação conservados (AHN et al., 1993; DEVOS et al., 1993; SHERMAN et al., 1995; SAGHAI-MAROOF et al., 1996). Apesar dos

eventos de especiação que deram origem as espécies modernas, como o milho e sorgo, terem ocorrido por volta de 16 milhões de anos atrás (GAUT et al., 2000), o conteúdo e a ordem dos genes no cromossomo ancestral foram mantidos significativamente conservados entre as gramíneas (BONIERBALE et al., 1988; HULBERT et al., 1990).

Deste modo, as espécies de gramíneas têm sido consideradas como um sistema genético único (BENNETZEN & FREELING, 1997), existindo um mapa consenso com o alinhamento dos cromossomos de arroz, milho, sorgo, milheto, trigo, aveia e centeio (GALE & DEVOS, 1998). PATERSON et al. (1995) mostraram que genes envolvidos na domesticação estão localizados em regiões conservadas nos genomas de arroz, milho e sorgo.

CAPITULO 2 - TOLERÂNCIA DE GENÓTIPOS DE CAPIM-BRAQUIÁRIA AO ALUMÍNIO

RESUMO - Neste trabalho objetivou-se avaliar a tolerância ao alumínio (Al) de cinco genótipos de *Urochloa decumbens* (D24, CD24-2, CD24-27, CD24-45 e D62) e cinco de *U. ruziziensis* (R30, R44, R46, R50 e R125) em cultivo hidropônico. Desses genótipos foram coletados perfilhos uniformes que foram transferidos para duas soluções: Solução 1 (200 μ M CaCl₂, pH 4,2) e Solução 2 (200 μ M CaCl₂ + 200 μ M AlCl₃, pH 4,2). Após 21 dias, as plantas tiveram suas raízes separadas, coradas e digitalizadas para análise do comprimento da raiz principal (CR) e diâmetro da raiz principal (DR). Este experimento foi distribuído em fatorial (genótipos x doses) com base no delineamento inteiramente casualizado com três repetições. A ANOVA revelou que existe interação significativa ($p \leq 0,01$) entre os fatores Genótipo e Dose de Al para CR e DR. Os resultados revelaram diferença significativa ($p \leq 0,01$) para a maioria dos genótipos para CR e DR. As médias de CR na ausência e na presença de Al não foram significativas para D62 (*U. decumbens* cv. Basilisk), CD24-45 e R46. Para DR as médias não foram significativas para CD24-2, CD24-27 e D62. O genótipo D62 foi o único classificado como tolerante ao Al e o R50 o único sensível. A maior parte dos genótipos avaliados apresentou de média a baixa tolerância ao Al. Essa classificação foi baseada nos intervalos de confiança (I.C. 99%) para a média dos índices de tolerância relativa (ITR) estimados para CR e DR. Estes resultados podem ser utilizados na escolha de genitores visando o desenvolvimento de populações segregantes para estudos de herança e mapeamento de genes e QTLs relacionados à tolerância ao Al em *Urochloa*.

Palavras-chave: estresse abiótico, forrageiras, solos ácidos, *Urochloa decumbens*, *Urochloa ruziziensis*

INTRODUÇÃO

Diversas espécies de gramíneas forrageiras tropicais se apresentam como opções para a formação de pastagens no Brasil. As espécies do gênero *Urochloa* P. Beauv. spp. (syn. *Brachiaria* (Trin.) Griseb. spp.) têm-se firmado pela capacidade de adaptação às diversas condições ambientais e de manejo da pastagem (MONTEIRO et al., 1995). São mais de 70 milhões de hectares de pastagens com braquiárias, a maioria na região dos Cerrados (RAO et al., 2005) que, em geral, possui solos de baixa fertilidade natural, caracterizados por elevada acidez e associados a metais tóxicos, principalmente alumínio (Al) (RADAMBRASIL, 1981).

Níveis elevados de Al impedem o crescimento radicular das plantas e, aliados a períodos de deficiência hídrica (verânicos), reduzem drasticamente sua produtividade, inviabilizando, às vezes, o cultivo em área de solos ácidos (LIMA et al., 1995). Estudos relatam que o Al fixa o fósforo (P) em formas menos disponíveis às plantas; diminui a respiração da raiz; interfere na divisão celular; interfere nas enzimas responsáveis pela deposição de polissacarídeos na parede celular; aumenta a rigidez da parede celular; interfere na absorção, transporte e uso de alguns elementos químicos (Ca, Mg, P e K) e água; e tem a capacidade de precipitar os ácidos nucléicos (FOY et al., 1978; TAYLOR, 1991; RYAN et al., 1995).

Entre as alternativas para amenizar os problemas de acidificação do solo está o uso da calagem, que neutraliza os íons H^+ e Al^{3+} . Entretanto, a aplicação de calcário na superfície do solo não soluciona o problema de acidez nas camadas inferiores e a grandes profundidades não é exequível por apresentar problemas técnicos e econômicos (ECHART & CAVALLI-MOLINA, 2001). Portanto, a obtenção de cultivares tolerantes ao Al é de grande importância para a produção agrícola nesses solos.

Neste contexto, é importante o desenvolvendo de populações segregantes para estudos de herança e de mapeamento de genes e QTLs relacionados ao Al, úteis aos programas de melhoramento, o que torna necessário o reconhecimento

de genitores contrastantes compatíveis, com a mesma ploidia e sendo pelo menos um genitor sexual, pois, em *Urochloa* a apomixia é o modo de reprodução predominante.

O objetivo neste trabalho foi avaliar genótipos de *Urochloa* spp. quanto à tolerância ao Al em cultivo hidropônico, visando à seleção de genitores para o desenvolvimento de uma população segregante para estudos de herança e mapeamento dessa característica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados dez genótipos de *Urochloa* provenientes do banco de germoplasma e do programa de melhoramento da Embrapa Gado de Corte. Foram eles: D62 (*B. decumbens* cultivar Basilisk, apomítica e tetraplóide); D24 (*B. decumbens*, acesso sexual e diplóide); CD24-2, CD24-27 e CD24-45 (*B. decumbens*, plantas sexuais e tetraploidizadas por colchicina); R124 (*B. ruziziensis*, sexual e diplóide); R30, R44, R46 e R50 (*B. ruziziensis*, sexuais e tetraploidizadas por colchicina). O genótipo D62 foi utilizado como referência tolerante ao Al e o R44 como referência sensível, de acordo com os resultados de WENZL et al. (2006).

Desses genótipos foram coletados dez perfilhos, os quais foram enraizados em vasos contendo solo previamente adubado segundo WENZL et al. (2006) mantidos em casa de vegetação. Quarenta e cinco dias depois, uma poda foi realizada nessas plantas para estimular o perfilhamento e após 15 dias, perfilhos jovens foram retirados e transferidos para uma mesa de hidroponia contendo solução de enraizamento preparada segundo HOAGLAND & ARNON (1950). Todo esse procedimento foi realizado para padronizar a idade dos perfilhos utilizados no cultivo hidropônico com soluções sem e com Al.

Após 11 dias de enraizamento foram selecionadas plantas uniformes para serem, em pares, transferidas para duas mesas de hidroponia, contendo diferentes soluções: Solução 1 (200 μ M CaCl_2 ; pH 4,2) e Solução 2 (200 μ M CaCl_2

+ 200 μM AlCl_3 ; pH 4,2), seguindo a metodologia proposta por WENZL et al. (2006). O pH dessas soluções foi monitorado diariamente por 21 dias e, quando necessário, ajustado pela adição de HCl 10% ou NaOH 20%. Foram utilizados 20 L de cada solução e correções no volume foram realizadas quando este baixava entre 0,5 a 1,0 L pela adição de água destilada.

Passado esse período, as plantas tiveram suas raízes separadas e coradas em solução de azul de metileno e vermelho neutro 0,1%, durante 24 horas. Depois foram lavadas com água destilada e as imagens foram obtidas por meio de scanner de luz (HP Photosmart 1200), com resolução da imagem de 300 dpi, para avaliação do comprimento da raiz principal (CR) e diâmetro da raiz principal (DR) das plantas submetidas às soluções 1 e 2. Para tanto, foi utilizando o programa Image J, disponível em <<http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>>.

O delineamento experimental utilizado inteiramente casualizado (DIC), com três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F (1%), distribuído em fatorial (10 genótipos x 2 doses de Al), com a finalidade de identificar os efeitos simples dos fatores dose de Al e genótipo e da interação genótipo x doses de Al. As médias de CR e DR de cada genótipo crescidos na ausência e na presença de Al foram comparadas pelo teste de Tukey a 1% de significância.

A partir de CR foi estimado a porcentagem de inibição de crescimento das raízes (ICR) da seguinte forma: $\text{ICR} = [1 - (\text{CR}+\text{Al} / \text{CR}-\text{Al})] \times 100$ (HORST et al. 1997). Fez-se o mesmo com os dados de DR para estimar a porcentagem de engrossamento do diâmetro das raízes (EDR): $\text{EDR} = [1 - (\text{DR}+\text{Al} / \text{DR}-\text{Al})] \times 100$.

A fim de confrontar os resultados referentes ao CR e DR, estimou-se também o índice de tolerância ao alumínio (ITR), segundo FURLANI & FURLANI (1991), utilizando a seguinte fórmula: $\text{ITR} = \{ [(V_x - V_s) / (V_t - V_s)]^4 + 1$

Onde V é a variável em estudo, podendo ser ICR e EDR. O subíndice x representa o valor obtido para o material em estudo, s é a referência sensível e t é a referência tolerante utilizada no experimento. Os genótipos foram classificados

como tolerantes, intermediários e sensíveis ao Al com base nos intervalos de confiança (I.C.) de 99% obtidos para ITR-CR e ITR-DR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação entre os fatores genótipo e doses de Al para as duas variáveis analisadas, CR e DR foi significativa ($p \leq 0,01$), além disso, foram detectadas diferenças significativas para essas duas variáveis em relação a doses de Al e ao genótipo (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância para as variáveis: comprimento da raiz principal (CR) e diâmetro de raiz principal (DR), nos dez genótipos de *Urochloa* submetidos as soluções com e sem alumínio (Al) em cultivo hidropônico.

Fontes de variação	GL	F	
		CR	DR
Dose de Al	1	275,5277**	362,0613**
Genótipo	9	83,8009**	79,9127**
Genótipo x Dose de Al	9	22,1392**	25,3549**
Resíduo	40	-	-
Média geral		15,9450	0,1674
Desvio padrão		2,0120	0,0102
CV (%)		12,61	6,08

GL = Graus de liberdade; CV = Coeficiente de variação;
**significativo pelo teste F (1%).

Com base nos resultados da tabela 1, ficou evidente que houve modificações no CR e DR pela adição de Al na solução. Esses resultados corroboram os evidenciados na literatura de que a ação fitotóxica do Al é um fenômeno que influencia o meristema apical das raízes e a região de alongação

celular, com inibição da mitose, apresentando reflexos imediatos no sistema radicular (ALMEIDA et al., 2000).

A interação significativa ($p \leq 0,01$) para as duas variáveis indicou dependência entre os fatores genótipo e dose de Al. Portanto, foi importante avaliar o comportamento de cada genótipo através da comparação de suas médias.

Para a maioria dos genótipos analisados houve diferença significativa ($p \leq 0,01$) entre as médias de CR obtidas nas soluções sem e com Al, exceto para CD24-45 e D62 de *U. decumbens* e R46 de *U. ruziziensis* (Figura1).

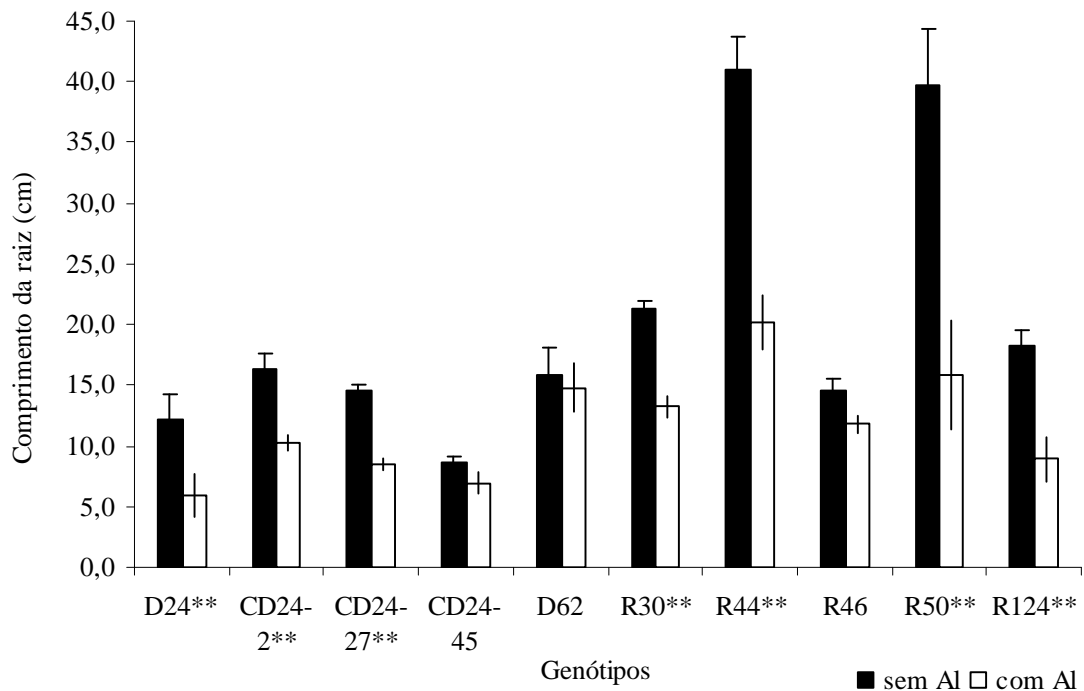


Figura 1. Médias do comprimento da raiz principal (CR) dos dez genótipos de *Urochloa* crescidos nas soluções sem e com alumínio (Al). **Significativo pelo teste de Tukey (1%).

As porcentagens de ICR foram calculadas para todos os genótipos. O menor valor de ICR (6,93%) foi observado para o genótipo D62, referência tolerante. Trabalhos realizados por WENZL et al. (2001; 2002) já apontavam esta cultivar como o genótipo mais tolerante ao AI comparado a outros genótipos do gênero *Urochloa* e também a outras gramíneas como trigo, triticale e milho. Por outro lado, o maior ICR (59,99%) foi observado no genótipo R50 de *U. ruziziensis*, que apresentou uma sensibilidade superior ao genótipo R44 a referência sensível. Os demais genótipos apresentaram ICR variando de 19,2% a 51,45% (Figura 2).

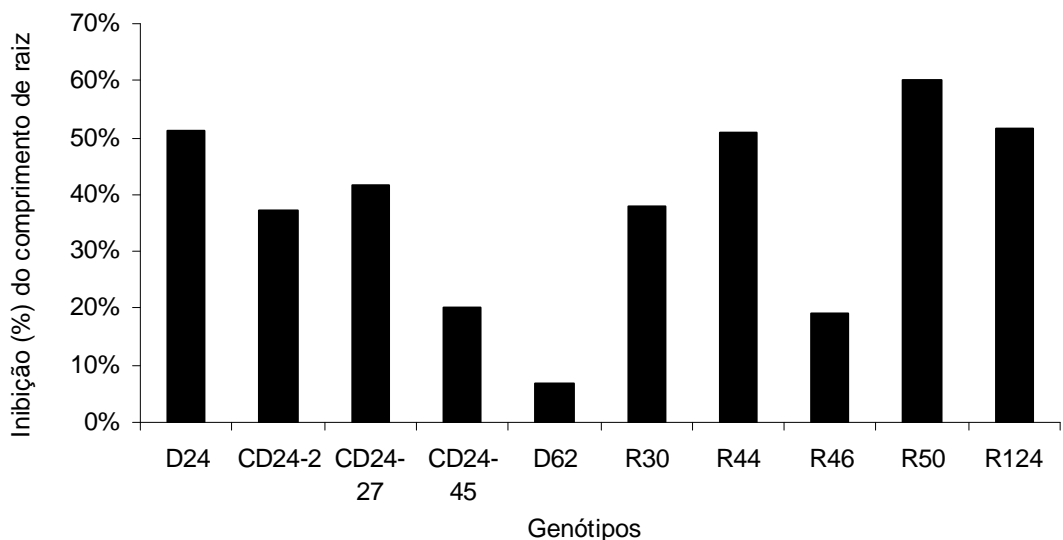


Figura 2. Inibição, em porcentagem, do comprimento das raízes (ICR) observado nos dez genótipos de *Urochloa* estudados quando submetidos ao AI.

Os resultados denotam que os genótipos estudados apresentam diferentes níveis de tolerância e sensibilidade ao AI. A variabilidade para tolerância à toxidez do AI já foi observada em outra espécie de gramínea forrageira, *Panicum maximum*, por SILVA (1997), ALMEIDA et al. (2000) e OLIVEIRA et al. (2000).

Nesses trabalhos foram observadas diferenças no crescimento da raiz principal de genótipos submetidos a soluções com e sem Al.

A inibição do crescimento de raízes é considerada a principal consequência da fitotoxidez do Al, resultando em menor volume de solo explorado pela planta e reduzindo, conseqüentemente, a nutrição mineral e a absorção de água. Essa redução de crescimento ocorre, basicamente, em função da ação danosa do Al ao se ligar aos componentes das membranas celulares reduzindo sua permeabilidade, também pode ocorrer redução da atividade de replicação e transcrição, devido à ligação do Al ao grupo fosfato do ácido desoxirribonucléico (FAQUIN, 1997; MALAVOLTA et al., 1997).

Analisando os dados de CR pode-se observar que os genótipos de *U. ruziziensis* apresentaram raízes mais longas quando comparados com os genótipos de *U. decumbens*. Isso foi devido as diferenças entre as espécies no tempo de estabelecimento das raízes, sendo que *U. ruziziensis* foi a primeira a se estabelecer. Em outro trabalho realizado com *U. decumbens* cv. Basilisk e *U. brizantha* cv. Marandu, tratadas com ANA (ácido naftaleno acético), também foi constatada uma baixa taxa de indução de enraizamento de raiz na cultivar Basilisk em comparação ao Marandu (DUTRA et al., 2005). A característica decumbente de *U. decumbens* justifica, em parte, essa variação, pois a planta não possui muitas reservas nos perfilhos produzindo uma quantidade inferior e menor tamanho de raízes. Por esse motivo, não se pode comparar os genótipos dessas duas espécies em estudo e, portanto, as comparações foram realizadas dentro de cada genótipo.

Nas análises de DR as médias obtidas para os dez genótipos nas soluções sem e com Al diferiram significativamente ($p \leq 0,01$) em sete deles: D24, CD24-45, R30, R44, R46, R50 e R124. Os genótipos que não apresentaram diferença significativa em suas médias foram CD24-2; CD24-27 e D62 (Figura 3).

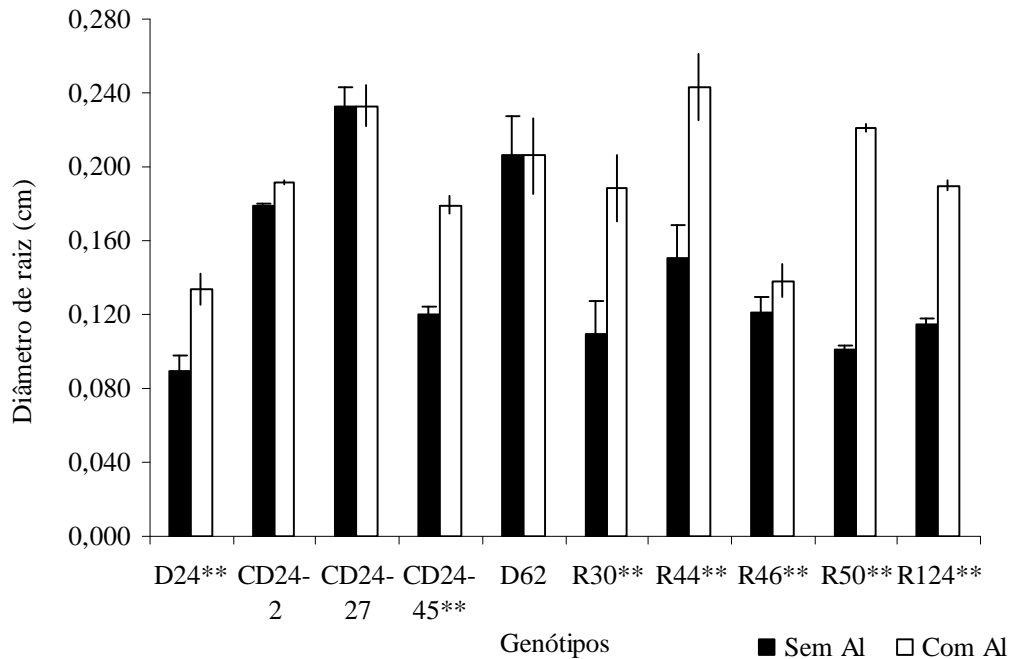


Figura 3. Médias do diâmetro da raiz principal (DR) para os dez genótipos de *Urochloa* crescidos nas soluções sem e com alumínio (Al). **Significativo pelo teste de Tukey (1%).

O engrossamento do diâmetro das raízes (EDR) foi calculado e as porcentagens obtidas variaram de 0 a 119,2%, sugerindo que a resposta para essa característica foi muito mais visível que para CR. O genótipo com menor valor de EDR foi a referência tolerante (D62). Para os demais genótipos de *U. decumbens* o EDR variou de 0,29 a 50%. Nos genótipos de *U. ruziziensis* os valores de EDR variaram de 14,6% a 119,2% (Figura 4).

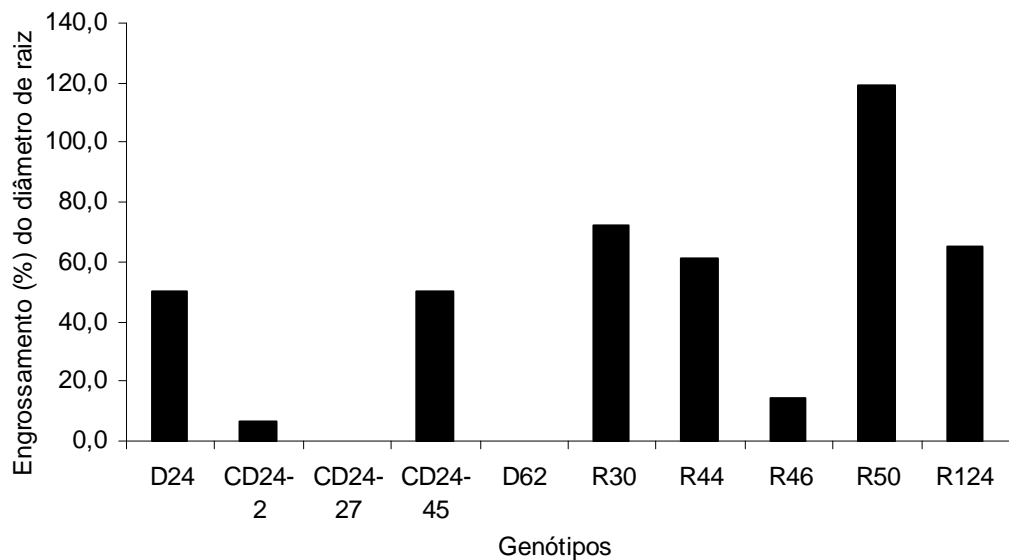


Figura 4. Engrossamento, em porcentagem, do diâmetro das raízes (EDR) observado nos dez genótipos de *Urochloa* estudados quando submetidos ao Al.

O engrossamento do diâmetro de raízes de plantas, é uma consequência da ação tóxica do Al, que foi descrita anteriormente em genótipos sensíveis de *U. ruziziensis*, entre eles R44, referência sensível (WENZL et al., 2006). Na célula, o Al altera as propriedades da parede e da plasmalema, pois afeta o sistema de carregadores de nutrientes, resultando na inibição da alongação celular do eixo principal, tornando as raízes mais grossas e pouco funcionais (RYAN et al., 1993; KOCHIAN, 1995).

Para classificação dos genótipos em tolerante, intermediários e sensíveis foi estimado o índice de tolerância ao Al para CR (ITR-CR) e o índice de tolerância ao Al para DR (ITR-DR). Segundo FURLANI & FURLANI (1991), genótipos com valores de ITR superiores ao intervalo de confiança (I.C.) podem ser considerados tolerantes, enquanto aqueles com valores inferiores podem ser classificados como sensíveis e genótipos com valores de ITR entre o limite máximo e o mínimo do I.C. como intermediários.

A média e o I.C. do ITR-CR foram 2,2 e 0,9 a 3,5, respectivamente. Dessa forma, os genótipos tolerantes ao AI foram: CD24-45, D62 e R46. Os de moderada tolerância foram: D24, CD24-2, CD24-27, R30, R44 e R124. O único genótipo classificado como sensível ao AI foi R50. Os resultados de ITR-DR foram um pouco diferentes para os genótipos tolerantes e intermediários. A média e o I.C. foram 2,1 e 0,1 a 4,2, respectivamente. Sendo assim os genótipos tolerantes foram: CD24-2, CD24-27 e D62. Os de moderada tolerância foram: D24, CD24-45, R30, R44, R46 e R124. E novamente o único genótipo classificado como sensível foi o R50 (Tabela 2).

Tabela 2. Estimativas dos índices de tolerância relativa (ITR) para as características comprimento de raiz principal (CR) e diâmetro da raiz principal (DR) e classificação dos genótipos de *Urochloa* quanto à tolerância ao AI.

Genótipos	ITR-CR	Classe	ITR-DR	Classe	Classificação Conjunta
D24	1,0	I	1,74	I	I
CD24-2	2,27	I	4,56	T	I
CD24-27	1,81	I	4,98	T	I
CD24-45	3,81	T	1,75	I	I
D62	5,0	T	5,0	T	T
R30	2,18	I	0,30	I	I
R44	1,0	I	1,0	I	I
R46	3,90	T	4,04	I	I
R50	0,18	S	-2,75	S	S
R124	1,0	I	0,75	I	I
Média	2,2		2,14		
DP	1,56		2,50		
I.C.	0,9-3,5		0,1-4,2		

DP= desvio padrão da média; I.C.= intervalo de confiança; T= tolerante; I= intermediário; S= sensível.

Segundo SIVAGURU & PALIWAL (1993), diferentes genótipos da mesma espécie podem comportar-se de maneira distinta quanto à reação ao Al, tanto no campo como em vasos.

Avaliando, de forma conjunta, os resultados de ITR-CR e ITR-DR (Tabela 2), os genótipos classificados igualmente pelos dois índices foram reunidos em diferentes grupos: tolerante (D62), intermediários (D24, CD24-2, CD24-27, CD24-45, R30, R44, R46 e R124) e sensível (R50).

Apesar dos genótipos D24, R30, R44 e R124 terem sido classificados como intermediários quanto à tolerância ao Al pelos dados de ITR, ambos apresentaram diferenças significativas quando submetidos ao estresse por Al tanto para CR quanto DR. O mesmo não ocorreu com CD24-2, CD24-27, CD24-45 e R46. Se levarmos em consideração os resultados das variáveis CR e DR, poderíamos classificar esses acessos em dois níveis de tolerância intermediária: média tolerância (CD24-2, CD24-27, CD24-45 e R46) e baixa tolerância (D24, R30, R44 e R124).

Esses resultados são relevantes para a escolha de genitores visando o desenvolvimento de populações segregantes para tolerância ao Al, úteis aos estudos de herança e mapeamento de genes e QTLs para essa característica que possam auxiliar o melhorista na seleção assistida nos programas de melhoramento genético do gênero *Urochloa*.

São várias as metodologias utilizadas para selecionar genótipos tolerantes ao Al em soluções e ambientes controlados, a maioria delas utilizando plântulas cultivadas solução nutritiva. Efetuando estudos de toxicidade de alumínio em gramíneas, PAPERNIK & KOCHIAN (1997) e SILVA (1997) utilizaram o cultivo das plantas em contêineres com solução nutritiva. Já MIYAZAWA et al. (1993) emergiram em água destilada solos de oito localidades brasileira, extraído a solução, a qual recebeu concentrações diferentes de tipos tóxicos de alumínio, determinado por potenciometria com eletrodo seletivo de fluoreto. Neste estudo, optou-se pelo método descrito por WENZL et al. (2006) que utiliza perfilhos e,

portanto, pode ser perfeitamente aplicado aos híbridos da população segregante. Esse método foi eficiente considerando as duas variáveis CR e DR.

Baseando-se nesta metodologia e nos genótipos estudados, sugere-se a utilização de D62 (*U. decumbens* cv. Basilisk – apomítico e tetraplóide), que foi tolerante ao AI, como genitor masculino, e R50 (sexual de *U. ruzizensis* que foi tetraploidizado por colchicina), que se mostrou o mais sensível ao AI, como genitor feminino. Também foram analisados dois genótipos sexuais diplóides, D24 e R124, pois esses seriam excelentes opções para o mapeamento. No entanto, ambos apresentaram-se como intermediários com baixa tolerância ao AI, descartando esta possibilidade.

CONCLUSÕES

A metodologia usada foi eficiente na discriminação dos genótipos de *U. decumbens* e *U. ruzizensis* analisados. Existe variabilidade quanto à tolerância ao AI nesses genótipos, observada pela análise de CR e DR, indicando que o melhoramento genético de *Urochloa* é factível. A maior parte dos genótipos apresentou de média a baixa tolerância ao AI. Apenas o genótipo *U. decumbens* cv. Basilisk foi tolerante. O genótipo R50 de *U. ruzizensis* foi o único sensível ao AI. Os resultados podem ser utilizados na escolha de genitores visando o desenvolvimento de uma população segregante para estudos de herança e mapeamento de genes e QTLs relacionados à tolerância ao AI em *Urochloa*.

CAPITULO 3 - Avaliação da tolerância de duas cultivares de capim-braquiária a diferentes doses de alumínio

RESUMO - A busca por cultivares tolerantes ao alumínio (Al) e a definição da dose e do tempo de estresse são alvos para estudos de expressão gênica em capim-braquiária. Neste trabalho objetivou-se avaliar a tolerância ao Al de *Urochloa decumbens* cv. Basilisk e *Urochloa brizantha* cv. Marandu submetidas a quatro doses desse elemento (0; 200; 400 e 600 μM AlCl_3) em solução contendo apenas cálcio (200 μM CaCl_2) em pH 4,2, por 21 dias. As análises de variância e regressão polinomial demonstraram que o crescimento relativo de raiz (CRR) e peso seco (PS) de Marandu foram inibidos nas doses de 200, 400 e 600 μM , comparados a ausência de Al. Em Basilisk foi observado diminuição no CRR e PS nas doses de 200 e 400 μM . No entanto, na dose de 600 μM o CRR e o PS diminuíram, revelando que nesta concentração esta cultivar perde sua tolerância.

Palavras-chave: estresse por alumínio, forrageiras, solos ácidos, *Urochloa decumbens*, *Urochloa brizantha*.

INTRODUÇÃO

Diversas são as espécies de gramíneas forrageiras que se apresentam como opções para a formação de pastagens nas savanas tropicais. No Brasil, as espécies do gênero *Urochloa* P. Beauv. spp. (syn. *Brachiaria* (Trin.) Griseb. spp.) constituem a porção mais significativa, cobrindo uma área de cerca de 70 milhões de hectares, a maioria na região dos Cerrados, caracterizada por solos de baixa fertilidade natural, elevada acidez ($\text{pH} \leq 5$) e altos níveis de Al (RAO et al., 2005).

Em solos ácidos o Al torna-se solúvel, assim como outros elementos como o manganês (Mn) e o ferro (Fe), e podem atingir níveis tóxicos (KOCHIAN, 1995).

O efeito tóxico do Al manifesta-se, primeiramente, pela limitação do crescimento radicular, bem como a interferência na absorção, transporte e utilização de nutrientes e água pelas raízes das plantas, prejudicando seu desenvolvimento (SILVA et al., 1984).

Estudos demonstram que o sítio da toxicidade do Al está localizado no ápice da raiz, provocando uma resposta rápida com a inibição da expansão e alongação das células do eixo principal das raízes e, depois, a divisão celular também passa a ser inibida, tornando as raízes mais curtas, grossas e pouco funcionais (RYAN et al., 1993; KOCHIAN, 1995; MATSUMOTO, 2000).

A despeito da adaptação a solos ácidos, *U. decumbens* cv. Basilisk foi apontada como a cultivar comercial de braquiária mais adaptada, e, resultados de trabalhos indicam que essa adaptação está relacionada à sua alta tolerância ao Al (RAO et al., 2005). Foi constatado que o nível de tolerância desta cultivar é muito superior às variedades tolerantes de outras culturas, tais como milho e trigo (WENZL et al., 2001; 2002). Portanto, ela pode ser considerada uma excelente fonte de genes de tolerância a esse importante estresse abiótico.

Para estudos de expressão de genes envolvidos com a resposta de plantas à tolerância ao Al ou outro estresse abiótico torna-se necessário a identificação de genótipos tolerantes e a definição da dose e do tempo de exposição da planta ao estresse.

WENZL et al. (2006) avaliando perfilhos enraizados de alguns genótipos de *Urochloa*, incluindo *U. decumbens* cv. Basilisk, submetidos a duas soluções contendo cálcio ($200 \mu\text{M CaCl}_2$) e Al (0 ou $200 \mu\text{M de AlCl}_3$) em pH 4,2, durante 21 dias, verificaram que esta cultivar foi altamente tolerante a esta dose de Al.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar a tolerância de *U. decumbens* cv. Basilisk e *U. brizantha* cv. Marandu a quatro doses de Al em solução contendo apenas cálcio, utilizando perfilhos enraizados, para determinar a dose de Al a ser utilizada em estudos de expressão gênica.

MATERIAL E MÉTODOS

Dez perfilhos, com aproximadamente 20 cm, foram coletados de plantas maduras de duas cultivares de braquiária: *U. decumbens* cv. Basilisk (acesso D62) e *U. brizantha* cv. Marandu (acesso B30), mantidas em vasos na casa de vegetação da Embrapa Gado de Corte.

Esses perfilhos foram enraizados em uma mesa de hidroponia contendo solução nutritiva preparada segundo HOAGLAND & ARNON (1950), permanecendo por 11 dias. Após esse período, o comprimento inicial das raízes (CRI) foi avaliado e os perfilhos foram transferidos para quatro mesas de hidroponia, cada uma conectada a um recipiente contendo 15 L de uma das seguintes soluções: Solução 1 (200 μM CaCl_2 e 0 μM AlCl_3); Solução 2 (200 μM CaCl_2 e 200 μM AlCl_3); Solução 3 (200 μM CaCl_2 e 400 μM AlCl_3) e Solução 4 (200 μM CaCl_2 e 600 μM AlCl_3); todas com pH 4,2 ajustado com HCl 10%. Este experimento durou 21 dias e foi realizado em casa de vegetação. O pH e o volume das soluções foram monitorados diariamente e, quando necessário, ajustados pela adição de HCl 10% ou NaOH 20% e água destilada, respectivamente. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com sete repetições.

Para avaliação da tolerância ao Al foram utilizados os seguintes parâmetros: crescimento relativo de raízes (CRR), obtido pela fórmula: $\text{CRR} = [(\text{CRF} - \text{CRI}) / \text{CRI}]$, na qual CRF é igual ao comprimento final das raízes e CRI o comprimento inicial; diâmetro médio das raízes (DR); e matéria seca das raízes (MS). As avaliações de CRF, DR e MS foram realizadas ao final dos 21 dias. As raízes foram separadas, coradas em solução de azul de metileno e vermelho neutro 0,1% durante 24 horas, lavadas com água destilada e digitalizadas em scanner de luz (HP Photosmart 1200), com resolução da imagem de 300 dpi, para análise do DR, utilizando o programa Image J, disponível em <http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>. Por último, as raízes foram secas em estufa a 70°C por 72 horas para avaliação do MS, realizada em balança eletrônica digital com precisão de 0,001g.

Os dados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) (teste F , 1% e 5% de probabilidade) para doses de Al e análise de regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo para dose de Al nas variáveis: CRR para cv. Basilisk ($p \leq 0,01$) e cv. Marandu ($p \leq 0,05$) e MS para cv, Marandu ($p \leq 0,05$). Entretanto, para a variável DR não foi observado efeito significativo para doses de Al em nenhuma das cultivares analisadas. A análise de regressão enquadrou-se em um modelo de regressão quadrática significativo para CRR ($p \leq 0,01$) e MS ($p \leq 0,05$) na cv. Basilisk; e regressão linear na variável CRR ($p \leq 0,01$) e cúbica para MS significativo ($p \leq 0,05$) na cv. Marandu (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de variância para (CRR) crescimento de raiz, (DR) diâmetro de raiz e (MS) matéria seca de raiz para duas cultivares de *Urochloa* submetidas a quatro tratamentos com Al.

Fontes de variação	G.L.	cv. Basilisk			cv. Marandu		
		CRR	DR	MS	CRR	DR	MS
Alumínio (Al)	(3)	14,5778**	0,1427	2,4166	3,2842*	0,9130	4,1170*
Regressão linear	1	9,3411**	0,2549	1,8934	8,2054**	0,6073	5,2756*
Regressão quadrática	1	34,2877**	0,0050	4,2234*	0,1910	0,5624	0,2515
Regressão cúbica	1	0,1047	0,1683	1,1331	1,4561	1,5694	6,8239*
Resíduo	24						
Média geral		21,1893	0,4043	0,495	12,8457	0,6614	0,1160
Desvio Padrão		3,0977	0,0536	0,0163	6,1747	0,1714	0,825
C.V.		14,61	13,24	32,85	48,06	25,90	71,12

*significativo ($p \leq 0,05$); ** significativo ($p \leq 0,01$) pelo teste F .

O modelo de regressão para determinar a resposta de inibição do crescimento das raízes em doses crescentes de Al foi determinado. Observou-se um aumento significativo no CRR da cv. Basilisk quando esta foi submetida às doses de 200 e 400 μM de AlCl_3 . Outros trabalhos, citados por ROUNT et al. (2001), que analisaram a tolerância ao Al em diferentes espécies também relataram que baixas concentrações de Al podem muitas vezes estimular o crescimento das raízes das plantas. A análise de regressão polinomial indicou que o ponto máximo estimado para CRR foi de 25,7 cm ($R^2 = 0,9976$), alcançado numa dose estimada de 250 μM de AlCl_3 . Apenas na dose de 600 μM de AlCl_3 observou-se inibição do CRR, indicando que nessa dose houve perda da tolerância dessa cultivar ao Al (Figura 1).

Ainda na Figura 1 observa-se que para a cv. Marandu o maior CRR foi obtido na ausência de Al na solução e que ocorreu um decréscimo quando ela foi submetida ao Al, mesmo nas menores doses. O decréscimo no CRR observado nessa cultivar foi constante até a maior dose de Al utilizada (600 μM), mostrando que essa cultivar é sensível ao Al (Figura 1).

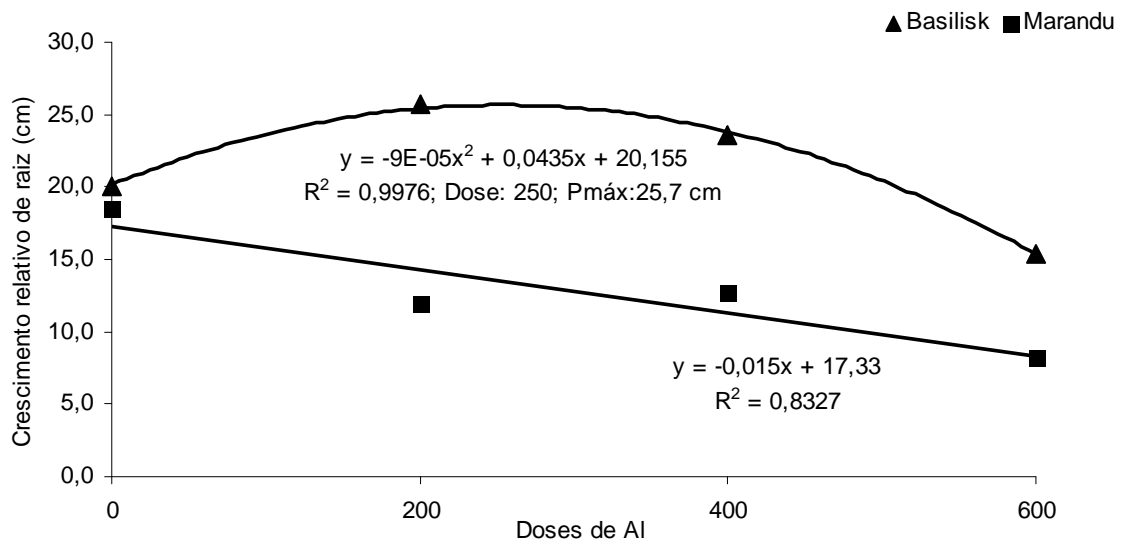


Figura 1. Crescimento relativo de raiz (CRR) para duas cultivares de braquiária (cv. Basilisk e Marandu) nas quatro doses de AlCl_3 (μM).

Muitos estudos têm mostrado que a inibição do crescimento da raiz é o sintoma mais facilmente reconhecido da toxicidade do Al em plantas, o que resulta na redução e em danos no sistema radicular, podendo levar à deficiência mineral e estresse hídrico (DEGENHARDT et al., 1998). ALMEIDA et al., (2000) e OLIVEIRA et al., (2000) avaliando diferentes genótipos de *Panicum maximum*, observaram decréscimo significativo no CRR quando os genótipos foram submetidos à doses crescentes de Al.

O Al em níveis tóxicos não só inibe o crescimento da raiz, mas também induz um aumento no diâmetro das raízes, pois altera propriedades da parede celular e da plasmalema, resultando na inibição da alongação e divisão celular do eixo principal (TAYLOR 1991, RYAN et al. 1993, KOCHIAN 1995). Entretanto, não foi observado efeito significativo do Al no DR, nas duas cultivares (Figura 2).

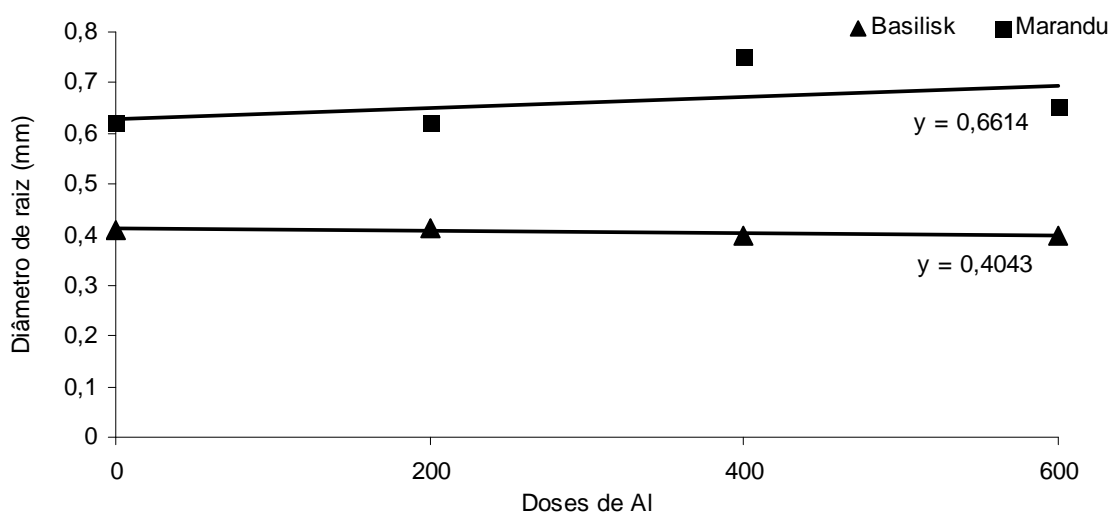


Figura 2. Diâmetro de raiz (DR) para duas cultivares de braquiária (cv. Basilisk e Marandu) nas quatro doses de AlCl_3 (μM).

A variável MS também indicou que houve estímulo no crescimento da raiz da cv. Basilisk no ponto estimado de $250 \mu\text{M}$ de AlCl_3 , com a matéria máxima de

0,05 g, sendo significativamente maior quando comparada a ausência de AlCl_3 , similar ao CRR. Entretanto, o estímulo não pode ser comprovado quando a cultivar foi submetida a 400 μM de AlCl_3 e o efeito tóxico também não foi detectado a 600 μM de AlCl_3 , como ocorreu com o CRR, pois os valores não foram significativos em relação a ausência do metal. Para a cv. Marandu houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) em função do aumento da dose de AlCl_3 , provocando um decréscimo no MS comparado a ausência de Al (Figura 3).

Trabalhos realizados por WENZL et al. (2001; 2002) e RICAURTE et al. (2007) já apontavam *U. decumbens* cv. Basilisk como um dos genótipos mais tolerantes ao Al do gênero *Urochloa* e também comparado a outras gramíneas como trigo, triticales e milho.

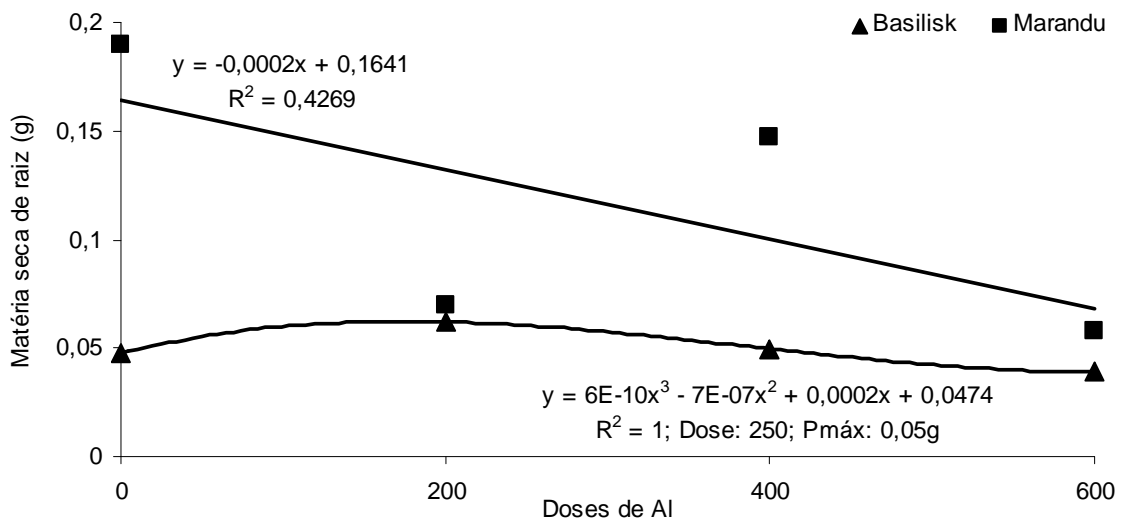


Figura 3. Matéria seca de raiz (MS) para duas cultivares de braquiária (cv. Basilisk e Marandu) nas quatro doses de AlCl_3 (μM).

Pelos resultados apresentados de CRR e MS pode-se concluir que as duas cultivares analisadas sofreram com a presença do Al na solução. A cv. Marandu mostrou-se sensível ao Al por apresentar inibição do CRR e MS nas doses de

200, 400 e 600 μM de AlCl_3 em comparação com a ausência de Al. Entretanto, esse efeito foi positivo (aumento) para cv. Basilisk quando submetida às doses de 200 e 400 μM de AlCl_3 comparadas à ausência desse elemento. Somente na dose de 600 μM de AlCl_3 foi observado um decréscimo no CRR e MS em comparação com a ausência de Al, revelando que nessa concentração ocorre perda da tolerância ao Al dessa cultivar.

É importante destacar que houve um decréscimo no CRR e MS para a cv. Basilisk na dose de 400 μM de AlCl_3 comparada a dose de 200 μM e que os maiores valores de CRR e MS foram estimados a uma dose de 250 μM de AlCl_3 .

CONCLUSÃO

A cultivar Basilisk mostrou-se tolerante as doses de 200 e 400 μM de AlCl_3 e a cv. Marandu foi sensível sempre que o Al estava presente. Os maiores valores de CRR e MS foram estimados a uma dose de 250 μM de AlCl_3 , sugerindo que esta deve ser a dose ideal para estudos de expressão de genes relacionados a esse estresse abiótico, quando o tempo de estresse foi de 21 dias.

CAPITULO 3 – IMPLICAÇÕES

A identificação de material genético tolerante e a definição da dose e do tempo de estresse ao alumínio (Al) podem oferecer importantes subsídios aos programas de melhoramento genético de espécies de *Urochloa*. Trabalhos anteriores apontaram o genótipo D62 (*U. decumbens* cv. Basilisk) como tolerante (Wenzl et al. 2001; 2002), este estudo reforça esse achado, sugerindo sua utilização como genitor masculino em cruzamentos com plantas sexuais sensíveis ao Al com o intuito de obter uma população segregante para estudo desta importante característica e para mapeamento de genes e QTLs relacionados à tolerância ao Al.

Este estudo testou esta cultivar tolerante em doses mais elevadas de Al, do que a descrita nos trabalhos já citados, para detecção do momento em que a planta está em seu máximo de divisão celular, sintetizando ácidos nucléicos que é o ponto ideal para a extração desses, possibilitando a realização de estudos visando à busca de genes que controlam esta característica em *Urochloa*.

Os resultados revelaram que em altas doses (até 400 μ M) nenhum sintoma de perda de tolerância foi observado, pelo contrário, na dose de 200 μ M ocorreu uma melhora nas características analisadas em relação às mesmas características em plantas não submetidas ao alumínio. Portanto, ela pode ser considerada uma excelente fonte de genes de tolerância a esse estresse abiótico. Genes identificados e isolados nessa forrageira podem ser utilizados em programas de melhoramento de braquiária, na seleção assistida, ou introgridos/introduzidos em outras espécies, oferecendo importantes alternativas para o desenvolvimento de novas variedades mais adaptadas aos solos ácidos com altos teores desse elemento. Neste trabalho, também foi possível detectar a dose de alumínio necessária para a perda da tolerância desta cultivar, dado ainda não disponível na literatura.

Recomenda-se a complementação dos testes com ensaios em campo para confirmar se há correlação entre a metodologia utilizada e a tolerância ou a sensibilidade dos materiais ao Al e, indiretamente, a solos ácidos, visto que o objetivo maior deste é a determinação de metodologia para a identificação de genótipos promissores para a obtenção de bons níveis produtivos em condições de solos ácidos.

CAPITULO 4 - REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.A.S.; MONTEIRO, F.A.; JANK, L. Avaliação de *Panicum maximum* Jacq. para tolerância ao alumínio em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, SP, v.24, p.339-344, 2000.

AHN, S.; ANDERSON, J.A.; SORRELLS, M.E.; TANKSLEY, S. D. Homoeologous relationships of rice, wheat and maize chromosomes. **Molecular and General Genetics**, v. 241, n.5-6, p. 483-490, 1993.

ANIOL, A.; GUSTAFSON, J.P. Chromosome location of genes controlling aluminum tolerance in wheat, rye and triticale. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v.26, p. 701-705, 1984.

ANIOL, A. Genetics of tolerance to aluminum in wheat (*Triticum aestivum* L. Thell). **Plant and Soil**, Netherlands, v.123, n.2, p. 223-227, 1990.

ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2008. p.22-40.

ARANGO, A.; CORTES, D.F.; GALLEGOS, G.; WENZL, P.; RAO, I.M. ISHITANI, M.; TOHME, J. Identifying candidate genes whose expression is associated with aluminum resistance in *Brachiaria*. **Annual Report of Biotechnology Research Project**, CIAT, Cali, Colombia, p. 255-258, 2003.

BAIER, A.C.; SOMERS, D.J.; GUSTAFSON, J.P. Aluminum tolerance in wheat hydroponic evaluations with field and soil performances. **Plant Breeding**, Berlin, v.114, p.291-296, 1995.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminum toxicity and resistance: a review. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.48, n. 1, p.75-92, 2002.

BECKMANN, I. Sobre o cultivo e melhoramento do trigo (*Triticum vulgare* Vill) no sul do Brasil. **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 1, n.4, p.64-72, 1954.

BENNET, R.J.; BREEN, C.M. The aluminum signal: new dimensions to mechanisms of aluminum tolerance. **Plant and Soil**, Netherlands, v.134, p.153-166, 1991.

BENNETZEN, J.L.; FREELING, M. The Unified Grass Genome: Synergy in Synteny. **Genome Research**, v.7, n.4, p.301-306, 1997.

BOHNEN, H. Acidez e calagem. In: GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; TEDESCO, M.J. (Ed.). **Princípios de fertilidade de solo**. Porto Alegre: UFRGS. p.51-76. 1995.

BONIERBALE, M. W.; PLAISTED, R.L.; TANKSLEY, S.D. RFLP maps based on a set of common clones reveals modes of chromosomal evolution in potato and tomato. **Genetics**, v.120, n.4, p.1095-1103, 1988.

BUITRAGO, M.E.; RECIO, M.E.; CHAVES, A.L.; WENZL, P.; TOHME, J.; MILES, J.W.; RAO, I.M. Evaluating physiological components of acid soil adaptation in a population of *Brachiaria ruziziensis* x *Brachiaria decumbens* hybrids. **Annual Report of Biotechnology Research Project**. CIAT, Cali, Colombia, p. 253-255, 2003.

CAIRES, E.F.; FONSECA, A.F.; FELDHAUS, I.C.; BLUM, J. Crescimento radicular e nutrição da soja cultivada no sistema plantio direto em resposta ao calcário e gesso na superfície. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.1029-1040, 2001.

CAMARGO, C.E.O; OLIVEIRA, O.F. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia**, Campinas, v.40,n.3, p.21-31, 1981.

CAMARGO, C.E.O. Efeito da temperatura da solução nutritiva na tolerância ao alumínio de cultivares de trigo. **Bragantia**, Campinas, v.42, n.6, p.51-63, 1983.

CAMARGO, C.E.O. O pH das soluções nutritivas no comportamento de cultivares de trigo à toxicidade de alumínio. **Bragantia**, Campinas, v.43, n.2, p.327-335, 1984.

CAMARGO, C.E.O. A concentração de fósforo na tolerância de cultivares de trigo à toxicidade de alumínio em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v.44, n.11, p.49-64, 1985.

CANÇADO, G.M.A.; CARNEIRO, N.P.; CARNEIRO, A.A.; PURCINO, A.A.C.; GUIMARÃES, C.T.; ALVES, V.M.C.; PARENTONI, S.N.; SOUZA, I.R.P.; PAIVA, E. Novas perspectivas para adaptação de culturas ao Cerrado: contribuição da biologia molecular na compreensão e solução dos efeitos tóxicos do alumínio em plantas. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v.23: p.56-61. 2001.

DEGENHARDT, J.; LARSEN, P.B.; HOWELL, S.H.; KOCHIAN, L.V. Aluminum resistance in the Arabidopsis mutant alr-104 is caused by an aluminum-induced increase in rhizosphere pH. **Plant Physiology**, v.117, p.19-27, 1998.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R.; RANDALL, P.J. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). II. Aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apices. **Plant Physiology**, 103, p. 695-702. 1993.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.107, n. 2, p. 315-321,1995.

DEVINE, T.E.; FOY, C.D.; FLEMING, A.L.; HANSON, C.H.; CAMPBELL, T. A.; MC MURTREY, J.E.; SCWARTZ, J.W.S. Development of alfafa strains with differential tolerance to aluminum toxicity. **Plant Soil**, Wageningen, v.44, n.1, p.73-79, 1976.

DEVOS, K.M.; MILLAN, T.; GALE, M.D. Comparative RFLP maps of the homoeologous group-2 chromosomes of wheat, rye and barley. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.85, p.784-792. 1993.

DORNELLES, A.L.C. **O uso da cultura de tecidos na geração de variabilidade para tolerância à toxicidade do alumínio e sensibilidade ao ácido giberélico em trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 1994. 102f. Tese (Doutorado em Plantas de Lavoura) Programa de pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1994.

DUTRA, J.D.; LAURA, V.A.; FAVERO, S. **Indução de raízes adventícias em *Brachiaria brizantha* cv. marandu e *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, por auxinas (AIB e ANA)**. 2005. p.367-378. Monografia (Curso de Ciências Biológicas) - Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal - UNIDERP. Campo Grande, MS, 2005.

ECHART, C.L.; CAVALLI-MOLINA, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismos de tolerância e seu controle genético. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, p.531-541, 2001.

EPSTEIN, E. **Nutrição mineral das plantas: princípios e perspectivas**. São Paulo: EDUSP, 1975. 344p.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 227p.

FLEMING, A.L.; FOY, C.D. Root structure reflects differential aluminum tolerance in wheat varieties. **Agronomy Journal**, Madison, v.60, n.2, p.172-176, 1968.

FOY, C.D. Differential aluminum and manganese tolerance of plant species and varieties in soils. **Ciência e Cultura**, Campinas, v.28, n.2, p.150-155, 1976.

FOY, C.D.; FLEMING, A.L.; SCHWARTZ, J.W. The physiology of plant tolerance to excess available aluminum and manganese in acid soils. In: JUNG, G.A. **Crop tolerance to sub optimal land condition**. Madison, The soil Science Society American, 1978, p.301-338.

FLOSS, E.L. **Avaliação da toxicidade do alumínio em genótipos de aveia**. Piracicaba: ESALQ, 1992. 296f. Tese (Doutorado em Agronomia-Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

FURLANI, P.R.; CLARK, R.B. Screening sorghum for aluminum tolerance in nutrient solution. **Agronomy Journal**, Madison, v. 73, p. 587-594, 1981.

FURLANI, P.R. Efeitos fisiológicos do alumínio em plantas. In: SIMPÓSIO AVANÇADO DE SOLOS E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 2, 1989. Piracicaba. **Anais...** Campinas: Fundação Cargil, 1989, p.73-90.

FURLANI, P.R.; FURLANI, A.M.C. Tolerância a alumínio e eficiência a fósforo em milho e arroz: características independentes. **Bragantia**, v. 50, p.331-340, 1991.

GALE, M.D.; DEVOS, K.M. Comparative genetics in the grasses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, v. 95, n. 5, p. 1998, p.1971-1974.

GALLEGO, F.J.; BENITO, C. Genetic control of aluminum tolerance in rye (*Secale cereale* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.92, p.688- 695, 1997.

GARVIN, D. F.; CARVER, B. F. The role of the genotype in tolerance to acidity and aluminum toxicity. In: RENGEL, Z. (Ed.). **Handbook of soil acidity**. New York: M. Dekker, p.387-406, 2003.

GAUT, B.S.; D'ENNEQUIN, M.; LE, T.; PEEK, A.S.; SAWKINS, M.C. Maize as a model for the evolution of plant nuclear genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, v.97, p.7008-7015, 2000.

GONZÁLEZ, A.M.T.; MORTON, C.M. Molecular and morphological phylogenetic analysis of *Brachiaria* and *Urochloa* (Poaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, n.37, p. 36–44, 2005.

HARTWIG, I.; OLIVEIRA, A.C.; CARVALHO, F.I.F.; BERTAN, I.; SILVA, J.A.G.; SCHMIDT, D.A.M.; VALÉRIO, I.P.; MAIA, L.C.; FONSECA, D.A.R.; REIS, C.E.S. Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 219-228, 2007.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The Water-cultured method for growing plants without soil**. California: California Agricultural Experiment Station, 1950. p.1-32 (Circular, 347).

HORST, W.J.; PÜSCHEL, A.K.; SCHMOHL, N. Induction of allose formation is a sensitive marker for genotypic aluminum sensitivity in maize. **Plant Soil**, v. 192, p.23-30, 1997.

HULBERT, S.H.; RICHTER, T.E.; AXTELL, J.D.; BENNETZEN, J.L. Genetic mapping and characterization of sorghum and related crops by means of maize DNA probes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, v. 87, n.11, p.4251-4255, 1990.

JONES, D.L.; KOCHIAN, L.V. Aluminum inhibition of the inositol 1,4,5-triphosphate signal transduction pathway in wheat roots: a role of aluminum toxicity. **Plant Cell**, Rockville, v.7, n.11, p.1913-1922, 1995.

KELLER-GREIN, G.; MAASS, B.L.; HANSON, J. Natural variation in *Brachiaria* and existing germplasm collections. In: MILES, J.W., MAASS, B.L., DO VALLE, C.B. (Eds.), **Brachiaria: Biology Agronomy and Improvement**. CIAT Publication No. 259, Cali, Colombia, 1996. p. 16–42.

KENNEDY, I.R. Acid soil and acid rain: The impact of environment of nitrogen and sulphur cycling. **John Wiley & Sons**, 234p. 1986.

KERRIGED, P.C.; DAWSON, M.D.; MOORE, D.P. Separation of degrees of aluminum tolerance in wheat. **Agronomy Journal**, Madison, v.63, p.586-590, 1971.

KOCHIAN, L.V. Cellular mechanisms of aluminium toxicity and resistance in plants. **Proceedings...** Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, Palo Alto, v.46, 1995, p.237-260.

LAFEVER, H.H.; CAMPBELL, L.G.; FOY, C.D. Differential response of wheat cultivar to Al. **Agronomy Journal**, Madison, v.69, n.4, p.563-568, 1977.

LAFEVER, H.H.; CAMPBELL, L.G. Inheritance of aluminum tolerance in wheat. **Canadian Journal of Genetic and Cytology**, Ottawa, v.20, p.355-364, 1978.

LAGOS, M.B.; FERNANDES, M.I.M.; CAMARGO, C.E.O.; FEDERIZZI, L.C.; CARVALHO, F.I.F. 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.

LARSEN, P.B.; TAI, C.; KOCHIAN, L.V.; HOWELL, S.H. Arabidopsis mutants with increased sensitivity to aluminum. **Plant physiology**, v.110, p.743-751, 1996.

LIMA, M.; MIRANDA-FILHO, J.B.; FURLANI, P.R. Diallel cross among inbred lines of maize differing in aluminum tolerance. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, SP, v.18, n.4, p.579-584, 1995.

LOPES, A.S.; SILVA, M.C.; GUILHERME, L.R.G. **Acidez do solo e calagem**. 3^a ed. Ver. /AS. São Paulo, ANDA 1990. 22 p. (Boletim Técnico, 1)

MA, J.F.; HIRADATE, S.; NOMOTO, K.; IWASHITA, T.; MATSUMOTO, H. Internal detoxification mechanism of Al in hydrangea (Identification of Al form in the leaves). **Plant Physiology**, Rockville, v. 113, n.4, p.1033-1039, 1997.

MA, J.F.; RYAN, P.R.; DELHAIZE, A. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. **Trends Plant Science**, London, v.6, n.6, p.273-278, 2001.

MAGALHÃES, J.V.; GARVIN, D.F.; WANG, Y.; SORRELLS, M E.; KLEIN, P. E.; SCHAFFERT, R.E.; LI, L.; KOCHIAN, L.V. Comparative mapping of a major aluminum tolerance gene in sorghum and other species in the Poaceae. **Genetics**, Maryland, v.167, p.1905-1914, 2004.

MAGNAVACA, R.; GARDNER, C.O.; CLARK, R.B. Evaluation of inbred maize lines for aluminum tolerance in nutrient solution. In: GABELMAN, H.W.;

LOUGHMAN, B.C. eds, **Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition**. Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands, 1987. p 255-265.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. 2. ed. Piracicaba, SP, POTAFOS, 1997. 319p.

MATTHESS, G. **Lehrbuch der Hydrogeologie**: Die Beschaffenheit des Grundwassers. Berlin : Gebr. Borntraeger, 1983. v.2.

MATSUMOTO, H. Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants. **International Review Cytology**, v. 200, p.1-46, 2000.

MIFTAHUDIN, G.; SCOLES, G. J.; GUSTAFSON, J. P. AFLP markers tightly linked to the aluminum-tolerance gene *Alt3* in rye (*Secale cereale* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 104, n. 4, p. 626-631, 2002.

MILES, J.W.; VALLE, C.B.DO. Manipulation of apomixis in *Brachiaria* breeding In: MILES, J.W.; MAASS, B.L. & VALLE, C.B.DO. (Eds.) **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. CIAT/Brasília: EMBRAPA-CNPGC, CIAT Publication, n. 259, 1996. p.164-177.

MILES, J.W.; VALLE, C.B.DO.; RAO, I.M.; EUCLIDES, V.P.B. Brachiariagrasses. In: SOLLENBERGER, L.E.; MOSER, L.; BURSON, B. (Eds.). Warm-season (C4) grasses. Madison, ASA: CSSA: SSSA (American Society of Agronomy - Crop Science Society of America- Soil Science Society of America). **Agronomy**, n.45, 2004, p 745-783.

MIYAZAWA, M.; CHIERICE, G.O.; PAVAN, M.A. Determinação de alumínio tóxico às raízes do trigo por potenciometria com eletrodo seletivo de fluoreto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, p.955-61, 1993.

MINELLA, E.; SORRELLS, M.E. Inheritance and chromosome location of *Alp*, a gene controlling aluminum tolerance in "Dayton" barley. **Plant Breeding**, Berlin, v. 116, p.465-469, 1997.

MONTEIRO, F.A.; RAMOS, A.K.B.; DE CARVALHO, D.D.; ABREU, J.B.R.; DAIUB, J.A.S.; DA SILVA, J.E.P.; NATALE, W. Cultivo de *Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu em solução nutritiva com omissões de macronutrientes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, SP, v. 52, n.1, p.135-141, 1995.

NGUYEN, V.T.; NGUYEN, B.D.; SARKARUNG, S.; MARTINEZ, C.; PATERSON, A.H.; NGUYEN, H.T. Mapping of genes controlling aluminum tolerance in rice: comparison of different genetic backgrounds. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 267, n.6, p.772-780, 2002.

NGUYEN, B.D.; BRAR, D.S.; BUI, B.C.; NGUYEN, T.V.; PHAM, L.N.; NGUYEN, H. T. Identification and mapping of the QTL for aluminum tolerance introgressed from the new source, *Oryza rufipogon* Griff. into indica rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.106, n.4, p.583-593, 2003.

NINAMANGO-CÁRDENAS, F.E.; GUIMARÃES, C.T.; MARTINS, P.R.; PARENTONI, S.N.; CARNEIRO, N.P. Mapping QTLs for aluminum tolerance in maize. **Euphytica**, v. 130, n. 2, p. 223-232, 2003.

OLIVEIRA, A.C.; FILHO, J.A.U.; SIQUEIRA, W.J. Nova metodologia de avaliação da reação de genótipos de capim-colonião ao alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.11, p.2261-2268, 2000.

OLIVEIRA, P.H. **Estudo da herança genética da tolerância ao alumínio tóxico em um cruzamento de aveia nas gerações F₂ e F₅**. 2002. 101f. Tese (Doutorado) – Programa de pós-graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

OHYANAGI, H.; TANAKA, T.; SAKAI, H.; SHIGEMOTO, Y.; YAMAGUCHI, K.; HABARA, T.; FUJII, Y.; ANTONIO, B.A.; NAGAMURA, Y.; IMANISHI, T.; IKEO, K.; ITOH, T.; GOJOBORI, T.; SASAKI, T. The Rice Annotation Project Database (RAP-DB): hub for *Oryza sativa* ssp. *japonica* genome information. **Nucleic Acids Research**, v.34, Database Issue, p.741-744, 2006.

PAPERNIK, L.A.; KOCHIAN, L.V. Mechanisms of aluminum tolerance in wheat: the role of root exudates and electrical signals. In: FLORES, H.E.; LYNCH, J.P.; EISSENSTAT, D. (Ed.) Radical biology: advances and perspectives on the function of plant roots. **Proceedings...** ANNUAL PENN STATE SYMPOSIUM IN PLANT PHYSIOLOGY. 11. American Society of Plant Physiologists. Rockville, Maryland USA. 1997. p.487-490.

PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; FURLANI, P.R. Tolerância à toxicidade de alumínio de linhagens e híbridos de milho em solução nutritiva. **Bragantia**, v. 61, p.11-16, 2002.

PATERSON, A. H.; LIN, Y. R.; LI, Z.; SCHERTZ, K. F.; DOEBLEY, J. F.; PINSON, S. R. M.; LIU, S. C.; STANSEL, J. W.; IRVINE, J. E. Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci. **Science**, v. 269, p. 1714-1718, 1995.

PERSSON, H.; MADJIL, H. Effects of acid deposition on tree roots in Swedish forest stands. **Water, air and soil pollution**, v.85, p.1287-1292, 1995.

PIÑEROS, M.A.; KOCHIAN, L.V. A patch-clamp study on the physiology of aluminum toxicity and aluminum tolerance in maize. Identification and characterization of Al³⁺-induced anion channels. **Plant Physiology**, 125, p. 292-305, 2001.

POLLE, E.; KONZAC, C. F.; KITTRICK, J. A. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedling roots. **Crop Science**, Madison, v. 18, p. 823-827, 1978.

QUAGGIO, J.A. **Acidez e calagem em solos tropicais**. Campinas, Instituto Agronômico de Campinas, 2000. 111p.

RADAMBRASIL. **Levantamento de recursos naturais**. Rio de Janeiro, Ministério das Minas e Energia 25, folha SD-22/Goiás, 1981.

RAO, I.M.; ZEIGLER, R.S.; VERA, R. Selection and breeding for acid-soil tolerance in crop. **BioScience**, Washington, v. 43, n. 7, p. 454-465, 1993.

RAO, I.; WENZL, P.; ARANGO, A.; MILES, J.; WATANABE, T.; SHINANO, T.; OSAKI, M.; WAGATSUMA, T.; MANRIQUE, G.; BEEBE, S.; TOHME, J.; ISHITANI, M.; RANGEL, A.; HORST, W. Advances in developing screening methods and improving aluminum resistance in common bean and *Brachiaria*. **Proceedings... WORKSHOP ON ADVANCES IN IMPROVING ACID SOIL ADAPTATION OF TROPICAL CROPS AND FORAGES AND MANAGEMENT OF ACID SOILS**. Brasilia, DF, 2005. p. 7-10.

REID, D. A. Genetic control of reaction to aluminum in winter barley. In: NILAN, R.A. (Ed.). **Barley genetics II**. 2nd Int. Barley Genetics Symposium, Pullman, WA, USA: Washington State University, 1969. p.409-413.

RIEDE, C.R.; ANDERSON, J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. **Crop Science**, Madison, v.36, p 905-909, 1996.

RICAURTE, J; RAO, I.M.; MENJIVAR, J.C.F. Estrategias de enraizamiento de genotipos *Brachiaria* em suelos ácidos y de baja fertilidad em Colômbia. **Acta Agronômica**, v. 56 n.3, p.107-115, 2007.

ROUT, G.R.; SAMANTARAY, S.; DAS, P. Aluminium toxicity in plants: a review. **Agronomie**, v.21 n.1, p. 3-21, 2001.

RITCHEY, K.D.; SILVA, J.E.; COSTA, U.F. Calcium deficiency in clayey B horizons of savanna oxisols. **Soil Science**, v.133, p.378- 382, 1982.

RYAN, P.R.; DITOMASE, J.M.; KOCHIAN, L.V. Aluminum toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.44, p.437-446, 1993.

RYAN, P.R.; SHAFF, J.E.; KOCHIAN, L.V. Aluminum toxicity in roots: correlation among ionic currents, ion fluxes, and root elongation in aluminum-sensitive and aluminum-tolerant wheat cultivars. **Plant Physiology**, v. 99, p.1193-1200, 1995.

SAGHAI-MAROOF, M.A.; YUE, Y.G.; XIANG, Z.X.; STROMBERG, E.L.; RUFERNR, G.K. Identification of quantitative trait loci controlling resistance to gray leaf spot of maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 93, n. 4, p. 539-546, 1996.

SÁNCHEZ-CHACÓN, C.D.; FEDERIZZI, L.C.; SANDRA CRISTINA KOTHE MILACH, S.C.H.; PACHECO, M.T. Variabilidade genética e herança da tolerância à toxicidade do alumínio em aveia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.9, p.1797-1808, 2000.

SASAKI, T.; YAMAMOTO, Y.; EZAKI, B.; KATSUHARA, M.; JU AHN, S.; RYAN, P.R.; DELHAIZE, E.; MATSUMOTO, H. A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter. **Plant Journal**, n. 37, p.645-653, 2004.

SCHEFFER, F.; SCHACHTSCHABEL, P. **Lehrbuch der Bodenkunde**. 12.Aufl. Stuttgart : F. Enke, 1989. 491p.

SHERMAN, J.D.; FENWICK, A.L.; NAMUTH, D.M.; LAPITAN, N.L.V. A barley RFLP map: alignment of the three barley maps and comparisons to gramineae species. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 91, n. 4, p. 681-690, 1995.

SHUMAN, L.M.; WILSON, D.O.; DUNCAN, R.R. Screening wheat and sorghum cultivars for aluminum sensitivity at low aluminum levels. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.16, p.2383-2395, 1993.

SILVA, B.C.; NOVAIS, R.F.; SEDIYAMA, C.S. Comportamento de genótipos de soja em solo com alta saturação de alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 19 3: 287-298, 1984.

SILVA, A.A. **Toxicidade de alumínio em trinta genótipos de *Panicum maximum* Jacq. cultivados em solução nutritiva**. 1997. 146f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas). Escola Superior de Agricultura "Luís de Queiroz". Piracicaba, 1997.

SILVA, L.A. **Validação do efeito do gene *AltSB* que controla a tolerância ao alumínio em sorgo**. 2008. 75f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, 2008.

SIBOV, S. T.; GASPAR, M.; SILVA, M. J.; OTTOBONI, L. M. M.; ARRUDA, P.; SOUZA, A. P. Two genes control aluminum tolerance in maize: genetic and molecular mapping analyses. **Genome**, Ottawa, v. 42, n. 3, p. 475-482, 1999.

SIVAGURU, M.; PALIWAL, K. Differential aluminum tolerance in some tropical rice cultivars. I. Growth performance. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.16, n.9, p.1705-1716, 1993.

SOUZA, A.P.DE. Biologia molecular aplicada ao melhoramento. In: NASS LL, VALOIS, A.C.C, DE MELO, I.S. & VALADARES-INGLIS, M.C. (Eds.). **Recursos Genéticos & Melhoramento** – Plantas, Rondonópolis, Fundação MT. p.549-602. 2001.

STOLEN, O.; ANDERSEN, S. Inheritance of tolerance to low soil pH in barley. **Hereditas**, Lund, v. 88, n. 2, p. 101-105, 1978.

TANG, Y.; SORRELLS, M.E.; KOCHIAN, L.V.; GARVIN, D.F. Identification of RFLP markers linked to the barley aluminum tolerance gene *Alp*. **Crop Science**, Madison, v.40, p.778-782, 2000.

TAYLOR, G.J. The physiology of aluminum tolerance in higher plants. **Communication in Soil Science and Plants Analysis**, v.19, p.1179-1194, 1991.

VON UEXKULL, H.R.; MUTERT, E. Global extent, development and economic impact of acid soils. In: DATE, R.A.; GRUNDON, N.J.; RAYMET, G.E.; PROBERT, M.E. eds, **Plant-Soil Interactions at low pH: Principles and Management**, Dordrecht, The Netherlands: kluwer Academic. 1995. p. 5-19.

VALLE, C.B.DO.; MILES J.W. Breeding of apomictic species. In: SAVIDAN, Y.H.; CARMAN, J.G. & DRESSELHAUS, T. (Eds.) **The flowering of apomixis: from**

mechanisms to genetic engineering. Mexico, European Commission, p. 137-152. 2001.

VALLE, C.B.; JANK, L.; RESENDE, M.S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Ceres**, v.56, n.4, p.460-472, 2009.

WAGNER, C.W.; MILACH, S.C.K.; FEDERIZZI, L.C. Genetic inheritance of aluminum tolerance in oat. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Brasília, v.1, n.1, p.22-26, 2001.

WENZL, P.; PATIÑO, G.M.; CHAVES, A.L.; MAYER, J.E.; RAO, I.M. The high level of aluminum resistance in signalgrass is not associated with known mechanisms of external aluminum detoxification in root apices. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 125, n. 3, p.1473–1484, 2001.

WENZL, P.; CHAVES, A. L.; PATIÑO, G. M.; MAYER, J.E.; RAO, I.M. Aluminum stress stimulates the accumulation of organic acids in root apices of *Brachiaria* species. **Journal Plant Nutrition and Soil Science**, v. 165, n. 5, p.582-588, 2002.

WENZL, P.; ARANGO, A.; CHAVES, A.L.; BUITRAGO, M.E.; PATIÑO, G.M.; MILES, J.; RAO, I.M. A greenhouse method to screen *Brachiaria* grass genotypes for aluminum resistance and IM A root vigor. **Crop Science**, Madison, v.46, n. 2, p.968-973, 2006.

WU, P.; LIAO, C.D.; HU, B.; YI, K.K.; JIN, W.Z.; NI, J.J.; HE, C. QTLs and epistasis for aluminum tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) at different seedling stages. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.100, n.8, p.1295-1303, 2000.

ZHENG, S.J.; MA, J.F.; MATSUMOTO, H. Continuous secretion of organic acids in related to aluminum resistance during relatively long-term exposure to aluminum stress. **Physiologia Plantarum**, Oxford, v. 103, n. 2, p. 209-214, 1998a.

ZHENG, S.J.; MA, J.F.; MATSUMOTO, H. High aluminum resistance in buckwheat: I. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips. **Plant Physiology**, Rockville, v. 117, n. 3, p. 745-751, 1998b.