

# **AVALIAÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO QUANTO À TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO, EM SOLUÇÃO NUTRITIVA<sup>1</sup>**

José Cambraia<sup>2</sup>

Marcos de Carvalho Cambraia<sup>2</sup>

## **1. INTRODUÇÃO**

Vários métodos, baseados no uso de solução nutritiva, têm sido desenvolvidos para a avaliação das plantas quanto à tolerância ao Al (3,5,7). Em geral, esses métodos permitem a comparação de grande número de espécies e, ou, variedades em pequenas áreas, são rápidos e eficientes, fáceis de conduzir e possibilitam a utilização das plantas após a avaliação dos efeitos tóxicos do Al. Além disso, permitem o controle rígido dos fatores associados à toxidez, como temperatura, pH, composição da solução nutritiva, dentre outros, evitando, assim, a interferência de fatores incontroláveis do complexo do solo.

O desenvolvimento de um método rápido para a avaliação de plantas pressupõe a definição de pelo menos dois aspectos: a composição da solução nutritiva e o parâmetro de crescimento e, ou, da produção, a ser avaliado. Na escolha da composição ideal da solução nutritiva deve-se observar a concentração de Al, o pH e as concentrações de vários elementos minerais, principalmente os macronutrientes. É importante encontrar uma combinação desses fatores que possibilite às plantas manifestarem plenamente sua tolerância ao Al. Esta tolerância pode ser avaliada por meio de parâmetros bioquímicos e, ou, fisiológicos, com boa margem de segurança. Contudo, em razão do tempo demandado e das dificuldades de avaliação pelos métodos bioquímicos, dá-se preferência a parâmetros que podem ser facilmente avaliados e que não resultam na morte da planta. Os métodos de seleção

---

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 21.10.1994.

<sup>2</sup> Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa, MG.

rápida têm utilizado basicamente parâmetros de crescimento, como comprimento do sistema radicular e pesos da matéria fresca e seca do sistema radicular e da parte aérea. Destes, o comprimento do sistema radicular é o que tem apresentado melhor relação com o grau de tolerância ao Al (3,9,13).

No presente trabalho, foram estudados os efeitos da concentração de alguns elementos minerais da solução nutritiva e do pH sobre o crescimento da maior raiz, visando estabelecer as condições ideais para a avaliação de híbridos de milho, quanto à tolerância ao Al.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção das Plantas

Nos experimentos, foram utilizados dois híbridos de milho (*Zea mays* L.), sendo um sensível (BR126) e outro tolerante (BR136) ao Al, cujas sementes foram fornecidas pelo Centro Nacional de Pesquisas em Milho e Sorgo, Sete Lagoas (MG). Na avaliação final da tolerância de híbridos comerciais de milho, foram utilizadas sementes adquiridas em lojas de produtos agrícolas de Viçosa (MG).

As sementes, selecionadas quanto ao tamanho e à forma, após tratamento com hipoclorito de sódio a 2%, durante 15 minutos e lavagem em água desmineralizada, foram colocadas para germinar em cartuchos de papel-toalha imersos em solução nutritiva de CLARK (4), com um terço da concentração original e sob arejamento, em vasos com capacidade para 2,4 litros. Nos dois primeiros dias os vasos foram cobertos com sacos plásticos, com o objetivo de criar uma câmara úmida, adequada para a germinação. Após seis dias, as plântulas dos dois híbridos foram selecionadas quanto à uniformidade de tamanho e transplantadas duas de cada híbrido para o mesmo vaso de plástico, contendo 2,4 litros de solução nutritiva de CLARK (4). Os vasos receberam arejamento contínuo e o pH da solução nutritiva foi ajustado diariamente. Todos os experimentos foram conduzidos em sala de crescimento com temperatura controlada ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ), fluxo luminoso de radiação fotossinteticamente ativa, de  $230 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , e fotoperíodo de 16 horas.

### 2.2. Composição da Solução Nutritiva

Inicialmente utilizou-se a solução nutritiva de CLARK (4), que foi, paulatinamente, modificada à medida que os fatores eram estudados. O primeiro fator a ser analisado foi o pH da solução nutritiva. Neste caso, plântulas dos dois híbridos de milho foram submetidas a 0 e 5 ppm de Al na

forma de  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ , concentração determinada em experimento preliminar (dados não-relatados), em solução nutritiva com pH ajustado para 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; e 6,0. Após sete dias de tratamento, as plantas foram colhidas, determinando-se, em seguida, o comprimento da maior raiz. Escolheu-se como melhor o valor de pH que resultou em maior diferença entre os híbridos. As soluções passaram a ter o pH ajustado e corrigido diariamente para este valor.

Em seguida, passou-se a estudar os efeitos do Al (0, 5, 10, 20 ppm), do Ca (0; 2,6; e 5,2 mM), do Mg (0; 0,6; e 1,2 mM), do FeEDTA (0, 45 e 90  $\mu\text{M}$ ) e da proporção Fe:EDTA (1:2, 1:1 e 2:1). Decorridos sete dias de tratamento, colheram-se as plantas e determinou-se o comprimento da maior raiz. Em cada caso, após determinação da concentração do elemento mineral que resultava na maior diferença entre os híbridos, quanto à tolerância ao Al, fixava-se esse fator para as avaliações seguintes e passava-se ao elemento seguinte.

O efeito do Al sobre o crescimento das plantas foi avaliado com base no comprimento da maior raiz (CMR), com régua de aproximação de 1 mm. A percentagem de inibição causada pelo Al foi calculada em relação a uma planta-controle (% de inibição =  $(\text{CMR}_{\text{Al}} - \text{CMR}_{+\text{Al}})100/\text{CMR}_{\text{Al}}$ , sendo  $\text{CMR}_{\text{Al}}$  o CMR de uma planta-controle na ausência de Al e  $\text{CMR}_{+\text{Al}}$  o CMR de uma planta na presença de Al. Os experimentos foram montados no delineamento de blocos ao acaso, segundo esquema fatorial, com três repetições.

### *2.3. Avaliação de Híbridos Comerciais de Milho*

Plântulas de dois híbridos de milho, BR126 e BR136, e de nove híbridos comerciais de milho, AG302, AG122, BR106, AG106, BR201, C125, AG401, XL678 e AG303, adquiridos em casas comerciais de Viçosa (MG), foram submetidas a 0 e 5 ppm de Al, em solução nutritiva de composição determinada em 2.2., durante sete dias. Depois deste período, colheram-se as plantas e determinou-se o comprimento da maior raiz.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O Al reduziu significativamente o comprimento da maior raiz (CMR) do híbrido BR126 em todos os valores de pH, e o do híbrido BR136 apenas em pH igual a 4 e 4,5 (Quadro 1). As maiores percentagens de inibição foram observadas no pH mais baixo e à medida que o pH da solução nutritiva se elevava, a inibição do CMR decrescia. Diferenças significativas entre os híbridos, quanto à percentagem de inibição do

QUADRO 1 - Efeito do pH sobre o comprimento da maior raiz (CMR) em dois híbridos de milho

Híbridos	pH	Al (ppm)		Inibição <sup>2</sup> (%)
		0 CMR <sup>1</sup> (cm)	5	
BR126	4,0	34,0a	22,8b	32,9A
	4,5	37,1a	21,0b	43,5A
	5,0	34,1a	24,3b	28,7A
	5,5	36,6a	29,6b	19,1A
	6,0	36,4a	30,3b	16,8A
BR136	4,0	37,8a	20,5b	45,8A
	4,5	33,6a	25,4b	24,4B
	5,0	34,7a	31,6a	8,9B
	5,5	38,1a	37,6a	1,3B
	6,0	37,9a	34,6a	8,7A

<sup>1</sup>As médias nas linhas, seguidas da mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>As médias na coluna, seguidas da mesma letra maiúscula, entre híbridos e para cada valor de pH, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

CMR, surgiram a partir do pH 4,5 e ocorreram até o pH 5,5, faixa em que as maiores diferenças também foram observadas. Escolheu-se o pH igual a 4,5, ao invés de pH igual ou maior que 5,0, para ser utilizado em experimentos posteriores porque em valores mais elevados pode ocorrer precipitação do Al na forma de fosfato ou de hidróxido, reduzindo, assim, seu efeito tóxico para as plantas (7).

O CMR decresceu na presença de 5 ppm de Al, mas não se observou diferença significativa nas demais concentrações deste elemento na solução nutritiva (Quadro 2). A inibição do CMR na presença de 5 ppm de Al foi de 39% e 26,2% nos híbridos BR126 e BR136, respectivamente. Estes híbridos diferiram entre si em todos os níveis de Al. Escolheu-se a concentração de 5 ppm de Al para os experimentos posteriores, pois concentrações muito elevadas de Al tendem a eliminar diferenças de tolerância entre os híbridos. Estes resultados evidenciam mais uma vez a importância do Al sobre o alongamento radicular (1,3,6) e sugerem a utilização deste parâmetro de crescimento na avaliação de diferenças de tolerância ao Al entre híbridos de variedades.

QUADRO 2 - Efeito da concentração de Al sobre o comprimento da maior raiz (CMR) em dois híbridos de milho

Híbridos	Al (ppm)	CMR <sup>1</sup> (cm)	Inibição <sup>1</sup> (%)
BR126	0	34,9A	-
	5	21,3B	39,0A
	10	18,6B	46,4A
	20	16,9B	51,6A
BR136	0	34,4A	-
	5	25,4B	26,2B
	10	23,4B	32,0B
	20	22,2B	35,5B

<sup>1</sup>As médias seguidas da mesma letra maiúscula, entre híbridos e para cada nível de Al, não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

O Al na presença de Ca reduziu significativamente o CMR apenas no híbrido sensível (Quadro 3). No híbrido tolerante, observou-se redução apenas na ausência de Ca. Isto demonstra a importância do Ca na tolerância das plantas ao Al. O Ca compete com o Al por sítios na parede celular e,

QUADRO 3 - Efeito do alumínio (Al), na presença de Ca, sobre o comprimento da maior raiz (CMR) em dois híbridos de milho

Híbridos	Ca (mM)	Al (ppm)		Inibição <sup>2</sup> (%)
		0	5	
		CMR <sup>1</sup> (cm)		
BR126	0	31,8a	18,4b	42,1A
	2,6	36,3a	20,5b	43,5A
	5,2	41,0a	27,2b	33,7A
BR136	0	34,5a	18,6b	46,1A
	2,6	35,2a	29,6a	15,9B
	5,2	36,9a	30,7a	16,8B

<sup>1</sup>As médias nas linhas seguidas da mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>As médias na coluna, seguidas da mesma letra maiúscula, entre híbridos e para cada nível de Ca, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

principalmente, na membrana plasmática (11) e, portanto, o seu nível no solo ou em soluções nutritivas é importante fator a ser considerado na avaliação da tolerância de plantas ao Al (2,6,10). Escolheu-se a concentração de Ca de 2,6 mM, para experimentos posteriores.

Na presença do Mg, o Al reduz também significativamente o CMR apenas no híbrido sensível (Quadro 4). No híbrido tolerante observou-se redução dos efeitos tóxicos do Al nos dois níveis de Mg estudados. Esta ação protetora do Mg já foi constatada por outros autores (7,14) e, possivelmente, resulta da competição entre o Mg e o Al por sítios de ligação

QUADRO 4 - Efeito do alumínio (Al), na presença de magnésio (Mg), sobre o comprimento da maior raiz (CMR) em dois híbridos de milho

Híbridos	Mg (mM)	Al (ppm)		Inibição <sup>2</sup> (%)
		0	5	
		CMR <sup>1</sup> (cm)		
BR126	0	34,5a	21,4b	38,0A
	0,6	33,0a	21,1b	36,1A
	1,2	30,6a	20,1b	34,3A
BR136	0	34,3a	23,2b	32,4A
	0,6	30,5a	27,3a	10,5B
	1,2	30,1a	27,5a	8,9B

<sup>1</sup>As médias nas linhas, seguidas da mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>As médias na coluna, seguidas da mesma letra maiúscula, entre híbridos e para cada nível de Mg, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

na membrana (12). Observaram-se diferenças significativas entre os híbridos de milho nos níveis 0,6 e 1,2 mM de Mg, mas escolheu-se a concentração 0,6 mM de Mg para experimentos posteriores porque a inibição pelo Al tende a decrescer com o aumento dos níveis de Mg (8), o que pode eliminar possíveis diferenças entre os híbridos.

O Al na presença de FeEDTA reduziu o CMR do híbrido sensível mas não do tolerante (Quadro 5). Esses híbridos diferiram entre si quanto ao CMR em todos os níveis de FeEDTA testados, tendo sido escolhido o nível de 45 µM para os experimentos posteriores.

O Al reduziu o CMR apenas no híbrido sensível, nas proporções de FeEDTA de 1:1 e de 2:1 (Quadro 6). Na proporção de 1:2, em que havia excesso de ácido etileno diaminotetracético (EDTA) não se observou efeito

**QUADRO 5 - Efeito do alumínio (Al), na presença de FeEDTA, sobre o comprimento da maior raiz (CMR) em dois híbridos de milho**

Híbridos	FeEDTA ( $\mu$ M)	Al (ppm)		Inibição <sup>2</sup> (%)
		0	5	
		CMR <sup>1</sup> (cm)		
BR126	0	26,6a	20,9b	21,4A
	45	29,9a	23,9b	20,1A
	90	30,3a	19,8b	34,7A
BR136	0	25,6a	28,0a	-9,4B
	45	29,4a	28,2a	4,1B
	90	30,6a	27,7a	9,5B

<sup>1</sup>As médias nas linhas, seguidas da mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>As médias na coluna, seguidas da mesma letra maiúscula, entre híbridos e para cada nível de FeEDTA, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott -Knott, a 5% de probabilidade.

**QUADRO 6 - Efeito do alumínio (Al), na presença de diferentes proporções de Fe:EDTA, sobre o comprimento da maior raiz (CMR) em dois híbridos de milho**

Híbridos	Proporção Fe-EDTA	Al (ppm)		Inibição <sup>2</sup> (%)
		0	5	
		CMR <sup>1</sup> (cm)		
BR126	1:2	35,6a	30,9a	13,2A
	1:1	43,2a	29,2b	32,4A
	2:1	39,1a	25,8b	34,0A
BR136	1:2	36,4a	36,6a	-0,6B
	1:1	36,5a	35,5a	2,7B
	2:1	36,6a	31,5a	13,9B

<sup>1</sup>As médias nas linhas, seguidas da mesma letra minúscula, não diferem significativamente entre si, pelo teste F, a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>As médias na coluna, seguidas da mesma letra maiúscula, entre híbridos e para cada proporção Fe:EDTA, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

do Al nos dois híbridos. A maior diferença na percentagem de inibição entre os híbridos foi encontrada na proporção 1:1 de Fe:EDTA, sendo esta escolhida para experimentos posteriores.

Os híbridos comerciais de milho testados neste experimento apresentaram inibição do CMR, que variou de 18 a 33% (Quadro 7). Os híbridos BR136 (6,9% de inibição) e BR126 (26,6% de inibição), fornecidos pela EMBRAPA, foram utilizados na definição das classes de tolerância ao Al. Assim, os híbridos comerciais de milho foram classificados em sensíveis e intermediários para as percentagens de inibição maior que 26% e de 7 a 26%, respectivamente. Os resultados foram: Sensíveis - AG302, AG122, BR106 e AG106; e Intermediários - BR201, C125, AG401, XL678 e AG303. Nenhum dos híbridos comerciais de milho testados mostrou-se tolerante segundo o critério adotado.

QUADRO 7 - Avaliação de híbridos comerciais quanto à tolerância ao Al

Híbridos	Al (ppm)		Inibição <sup>1</sup> (%)
	0	5	
	CMR <sup>1 2</sup> (cm)		
Agroceres AG 106	48,3a	32,2b	33,3A
BR 106	47,9a	32,7b	31,7A
Agroceres AG 122	42,6a	29,5b	30,7A
Agroceres AG 302	47,0a	33,6b	28,5A
BR 126	41,7a	30,6b	26,6A
Agroceres AG 303	45,6a	34,4b	24,6B
Braskalb XL 678	44,4a	34,3b	22,7B
Agroceres AG 401	45,3a	35,2b	22,3B
Cargil C 125	48,0a	37,5b	21,9B
BR 201	42,2a	34,6b	18,0B
BR 136	43,5a	40,5a	6,9C

<sup>1</sup>As médias nas linhas, seguidas da mesma letra minúscula, e na coluna, seguidas da mesma letra maiúscula, não diferem significativamente entre si, pelos testes F e de Scott-Knott, respectivamente, a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>Comprimento da maior raiz.

O CMR evidenciou, de modo claro e confiável, as diferenças de tolerância ao Al entre os híbridos testados. Este parâmetro apresentou a vantagem de ser medido rápida e facilmente, não requerendo equipamentos de laboratório e permitindo a utilização das plantas em experimentos



posteriores. As comparações, entretanto, são mais bem apreciadas quanto à percentagem de inibição, ao invés de números absolutos.

#### 4. RESUMO E CONCLUSÕES

Dois híbridos de milho, um sensível (BR126) e outro tolerante (BR136) ao Al, obtidos no Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, foram submetidos, em solução nutritiva de CLARK (4), a diferentes valores de pH e à composição da solução nutritiva. Após sete dias de cultivo, foi avaliado o efeito do Al sobre o comprimento da maior raiz, sendo os resultados expressos em percentagem de inibição causada pelo Al, em relação a uma planta-controle.

A inibição causada pelo Al nos dois híbridos de milho variou com os valores de pH e da composição da solução mineral. Com base nas maiores diferenças encontradas entre os dois híbridos de milho, escolheu-se como a composição ideal da solução nutritiva para seleção rápida de híbridos de milho, quanto à tolerância ao Al, uma solução de Clark (4) modificada: pH = 4,5; Ca = 2,6 mM; Mg = 0,6 mM; FeEDTA 1:1 = 45 µM; e concentração de Al = 5 ppm.

Nove híbridos de milho Al, largamente cultivados no Brasil, foram avaliados quanto à tolerância ao Al. Nenhum deles foi tão tolerante quanto ao BR136. Os híbridos Agrocere AG 303 e 401, Cargil C 125, Braskalb XL 678 e BR201 apresentaram tolerância intermediária entre 7 e 26% de inibição. Os híbridos Agrocere AG 106, 122 e 302 e BR106 foram considerados sensíveis, com mais de 26% de inibição.

Constatou-se que o método utilizado, baseado na medição do comprimento da maior raiz (CMR), permitiu avaliar plantas de milho quanto à tolerância ao Al, de modo simples, rápido e confiável; portanto, espera-se que este método se torne um excelente meio de avaliação da tolerância ao Al de híbridos de milho.

#### 5. SUMMARY

##### (SCREENING CORN HYBRIDS FOR ALUMINUM TOLERANCE IN NUTRIENT SOLUTION)

Seedlings of two corn hybrids, BR136 (Al tolerant) and BR126 (Al sensitive), obtained from the Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, grown in Clark's nutrient solution with different values of pH and mineral composition were treated with toxic levels of Al. Seven days after treatments the length of the longest root was measured and the results expressed as % of inhibition by Al relative to control plants.

Inhibition by Al was dependent upon pH and mineral composition of the nutrient solution. Best results were obtained with a Clark's nutrient solution with the following modifications: Ca: 2.6 mM, Mg: 0.6 mM, FeEDTA (1:1) 45  $\mu$ M and Al: 5 ppm. Nine widely cultivated Brazilian corn hybrids were evaluated by this method with respect to Al tolerance. None of them showed an Al tolerance higher than BR136. Five of them showed an intermediate Al tolerance (between 5 and 26% inhibition): Agroceres AG 303 e 401, Cargill C 125, Braskalb XL 678 e BR201. The hybrids Agroceres AG 302, 1 e 106 e BR106 had an inhibition higher than 26% and were considered quite sensitive to Al.

Reliable differences among corn hybrids were easily and quickly detected by measuring the length of the longest root. This method will certainly be useful to evaluate a great number of corn hybrids with respect to a Al tolerance.

## 6. LITERATURA CITADA

1. CAMARGO, C. E. O. Tolerância de cultivares de arroz a dois níveis de alumínio em soluções nutritivas contendo diferentes concentrações de sais. *Bragantia*, 43:381-388. 1984.
2. CAMARGO, C. E. O. Efeitos de níveis de cálcio combinados com diferentes concentrações de sais na tolerância de trigo à toxicidade de alumínio, em solução nutritiva. *Bragantia*, 44: 659-668. 1985.
3. CAMBRAIA, J.; SILVA, M. A.; CANO, M. A. O. & SANT'ANNA, R. Método simples para a avaliação de cultivares de sorgo quanto a tolerância ao alumínio. *Rev. Brasil. Fisiol. Veg.*, 3:87-95. 1991.
4. CLARK, R.B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. *J. Agric. Food Chem.*, 23: 458-460. 1975.
5. FAGERIA, N. K. & ZIMMERMANN, F. J. P. Seleção de cultivares de arroz para tolerância à toxicidade de alumínio em solução nutritiva. *Pesq. Agropec. Brasil.*, 14: 141-147. 1979.
6. FOY, C. D. Effect of aluminum on the plant growth. In: CARSON, E. W. (ed.). *The Plant Root and its Environment*. Charlottesville, University Press Virginia, 1974. p. 601-642.
7. FURLANI, P.R. & CLARK, R.B. Screening sorghum for aluminium tolerance in nutrient solutions. *Agron. J.*, 73:587-594. 1981.
8. GRIMME, H. The effect of Al on Mg uptake and yield of oats. In: INT. PLANT NUTRITION COLLOQUIUM, 9, Warwick University, England, 1982. Proceedings, 1982, p. 198-203.
9. MOORE, D. P.; KRONSTAD, W. E. & METZGER, R. J. Screening for aluminium tolerance. In: WRIGHT, M.T. (ed.). *Plant Adaptation to Mineral Stress in Problem Soils*. Ithaca, Cornell Univ., Agric. Exp. Stn., 1976, p. 287-295.
10. PAVAN, M.A. & BINGHAM, F.T. Toxidez de alumínio em cafeeiros cultivados em solução nutritiva. *Pesq. Agropec. Brasil.*, 17:1293-1302. 1982.
11. RENGEL, Z. Role of calcium in aluminium toxicity. *New Phytol.*, 121:499-513. 1993.
12. RENGEL, Z. & ROBINSON, D.L. Competitive  $Al^{+3}$  inhibition of net  $Mg^{+2}$  by intact *Lolium multiflorum* roots. *Plant Physiol.*, 91:1407-1413. 1989.

13. REID, D.A.; FLEMING, A.L. & FOY, C.D. A method for determining aluminum response of barley in nutrient solution in comparison to response in Al-toxic. *Agron. J.*, 63: 600-603. 1971.
14. RHUE, R.D. & GROGAN, C.O. Screening corn for Al tolerance using different Ca e Mg concentration. *Agron. J.*, 69:755-760. 1977.