

TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM PLÂNTULAS DE SOJA E SUA UTILIZAÇÃO¹

CARLOS ROBERTO SPEHAR² e MICHIO MAKITA³

RESUMO - Avaliou-se a tolerância ao alumínio em plântulas de 23 genótipos de soja adaptada aos Cerrados. As sementes, previamente germinadas, foram transferidas para solução nutritiva com 100 mg/kg de Ca, à qual adicionaram-se 1,5 e 3,0 mg/kg de alumínio, níveis definidos em experimento anterior, com o pH ajustado para 4,0. O período utilizado para o experimento foi de quatro dias. A reação ao alumínio foi avaliada pela medição do comprimento radicular e pela coloração com hematoxilina. Na coloração das raízes, as cultivares mostraram resultados inconsistentes e diferiram dos obtidos nas medições radiculares. O alongamento das raízes é influenciado pelas condições de vigor das sementes e pela técnica de manuseio. Buscou-se reduzir estes efeitos pela padronização do tamanho da radícula antes do teste e aumento do número de indivíduos por repetição. Os genótipos foram classificados entre altamente tolerantes e susceptíveis. Das cultivares comerciais, a 'Doko', a 'Cristalina', a 'Tropical' e a 'BR-9 (Savana)', apresentaram-se superiores à 'IAC-9', padrão de tolerância.

Termos para indexação: cultivar, genótipo, *Glycine max*, vigor, dano, alongamento radicular, nutriente, toxidez, hematoxilina.

ALUMINIUM TOLERANCE IN SOYBEAN SEEDLINGS AND ITS UTILIZATION

ABSTRACT - Seedlings of 23 soybean genotypes were evaluated for aluminium tolerance in hydroponics from seeds previously germinated and transferred to solution containing 100 mg/kg Ca, combined to the levels of 1.5 and 3.0 mg/kg aluminium, defined in a previous experiment, with the pH adjusted to 4.0. The time interval required for conducting the experiment was of four days. Al-reaction was evaluated by direct measurement and hematoxylin staining. In staining with hematoxylin the cultivars showed inconsistent results and differed from those obtained in the root measurements. The root elongation is highly influenced by seed vigour and handling techniques. These limiting factors were overcome by standardizing radicle length before the tests and by increasing the number of individuals per replicate. The genotypes were classified between highly tolerant and susceptible. Among commercial cultivars, 'Doko', 'Cristalina', 'Tropical' and 'BR-9 (Savana)' were superior to 'IAC-9' standard for aluminium tolerance.

Index terms: cultivar, genotype, *Glycine max*, vigour, damage, root elongation, nutrient, toxicity, hematoxylin.

INTRODUÇÃO

Na classificação das plantas cultivadas para obtenção de tolerância ao Al, a soja mostra-se superior ao trigo e à cevada, porém inferior ao arroz (Tanaka, 1989). Os danos no crescimento das

plantas iniciam com distúrbios na divisão celular e no alongamento das células do tecido meristemático das raízes, e causam deficiência na absorção de nutrientes, com reflexo negativo na produção de grãos. Nas espécies da família *Leguminosae*, como a soja, é necessário considerar, além das implicações dos danos de Al sobre as raízes e a planta, a sua influência na fixação de N. A instalação das bactérias nitrificantes e o processo de fixação de N mostraram-se sensíveis ao Al (Tanaka, 1989). Contudo, Munns et al. (1981), em trabalho anterior, verificaram a ocorrência de nodulação

¹ Aceito para publicação em 26 de setembro de 1994.

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

³ Eng. Agr., Ph.D., Department of Research Planning and Coordination National Institute of Agrobiological Resources (NIAR), Tsukuba-shi, Ibaraki, 305, Japan.

satisfatória mesmo quando as plantas estavam expostas ao estresse de Al.

Desde a década de 1970, com o objetivo de pesquisar a tolerância de soja ao Al nos solos ácidos do sudeste dos Estados Unidos, têm sido aprimorados os métodos de testes, principalmente na fase de plântula, com a utilização de hidroponia. Sartain & Kamprath (1978) e Sapro et al. (1982) verificaram reduzida relação entre os danos de Al às raízes sob hidroponia e os distúrbios no crescimento de plantas cultivadas no solo em casa de vegetação. Entretanto, Hanson & Kamprath (1979) conseguiram correlação significativa ($R=0,79$) entre os dados obtidos em hidroponia e os de solo, em casa de vegetação, com alta herdabilidade ($H=0,60$) da tolerância ao Al. Garland et al. (1990) encontraram $R=0,81$ entre o comprimento das raízes de plântulas de soja cultivada sob hidroponia e o peso seco de plantas no solo, com a possibilidade de sua utilização em programas de melhoramento quanto à tolerância ao Al. No mesmo trabalho, para aumentar a precisão do método de cultivo em vasos, foi necessário elevar o número de indivíduos por repetição.

As características genéticas de tolerância foram investigadas em experimentos com híbridos da geração F_1 entre nove cultivares de soja previamente selecionadas por experimento em campo. A herdabilidade foi elevada ($H=0,73$), e houve correlação dos testes hidropônicos e de campo, com a possibilidade de selecionar com vistas à tolerância ao Al pelo alongamento radicular (Spehar, 1989).

A avaliação da tolerância ao Al por hidroponia, apesar dos pontos comuns nos procedimentos e no período de tratamento, apresenta algumas divergências.

O objetivo deste trabalho consistiu em rever a literatura existente para obter um método prático de identificar a tolerância ao Al no melhoramento da soja, com as características de simplicidade, baixo custo e possibilidade de avaliar um grande número de indivíduos para o avanço de geração e teste de progênie.

MATERIAL E MÉTODOS

Equipamentos e reagentes

O recipiente-teste para a acomodação de sementes

germinadas é um escorredor de plástico utilizado para lavagem de material em laboratório, de 30 cm de comprimento, 24 cm de largura e 10 cm de altura, com fundo reticulado propício ao escoamento e um recipiente para a solução nutritiva. No fundo do escorredor foi fixada uma malha de plástico ondulada para distribuir as sementes pré-germinadas. Ao serem colocadas sobre o recipiente com 2,5 litros de solução hidropônica, as sementes ficaram em contato com a superfície do líquido. Para a aeração por compressor, fixaram-se dois tubos de vinil, com inúmeros orifícios, no fundo do recipiente. Os recipientes foram preparados, para a utilização de duas concentrações de Al. Utilizou-se uma incubadora Percival com iluminação fluorescente e controle de temperatura e luminosidade. A solução hidropônica foi constituída por 100 mg/kg de Ca na forma de $Ca(NO_3)_2$ e pH ajustado para 4,0 com ácido clorídrico a 0,25 N. Para a preparação da solução de Al, foi utilizado $Al_2(SO_4)_3 \cdot 16H_2O$; e para a preparação da solução de hematoxilina, foram adicionados 2 mg/kg de $NaIO_3$ a 2 g/100 ml de solução aquosa de hematoxilina.

Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, com duas repetições por tratamento (genótipo). Cada parcela foi composta por dez plântulas de sementes previamente germinadas.

Procedimentos

Primeiro e segundo dia - Pré-germinação das sementes. Às 9 horas, as sementes foram colocadas entre duas folhas de papel-filtro (30 x 15 cm), para o embebedimento com solução hidropônica. Em seguida, estas foram enroladas de modo a formar um bastão, colocado em um becker de 500 ml, em número aproximado de oito rolos cada. Para evitar o ressecamento da parte superior, colocou-se uma tampa com papel-filtro úmido, e cobriu-se com um saco de plástico. Esse conjunto foi mantido em uma incubadora a 26°C.

Terceiro dia - Transferência para as soluções com Al. As sementes, retiradas com pinça, tiveram suas radículas medidas, e somente as uniformes com comprimento médio entre 1,5 a 2,5 cm foram colocadas sobre depressões da malha nos dois recipientes-teste, na ordem da medição, em número de dez plântulas por tratamento. Os recipientes foram previamente preenchidos com solução hidropônica, à qual foi adicionado Al nas concentrações de 1,5 mg/kg e de 3,0 mg/kg, respectivamente. Foram levados à incubadora, com temperatura ajustada para 28°C e regime luminoso de doze horas. A aeração da solução nutritiva foi efetuada com compressor, e, para evitar ressecamento, a parte superior foi coberta com película de plástico. As concentrações de Al foram definidas em experimento preliminar.

Quarto dia - Medição e determinação. Os recipientes-teste foram retirados da incubadora, 24 horas após o início do tratamento com Al, e mediu-se a parte radicular.

Avaliação

A avaliação foi realizada de acordo com duas estimativas, baseadas no comprimento da raiz principal das plântulas submetidas às concentrações de Al: A) diferença entre o comprimento radicular antes e depois do tratamento com Al (mm); B) (diferença entre o comprimento radicular antes e depois do tratamento/comprimento radicular antes do tratamento) x 100(%). Os valores obtidos foram analisados estatisticamente. As avaliações com hematoxilina fizeram-se concomitantemente, por observação visual da intensi-

dade de coloração, à qual atribuíram-se notas, conforme método descrito por Fonseca Junior et al. (1982).

Germoplasma

O germoplasma empregado nos testes foi composto por 23 genótipos selecionados para o cultivo no Brasil central. Destes, sete correspondem à parte do material utilizado nos experimentos genéticos sob hidroponia por Spehar (1989).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tolerância ao Al nos genótipos adaptados ao cerrado

Nas Tabelas 1 e 2, estão apresentados os dados

TABELA 1. Reação de genótipos de soja ao alumínio. Estimativa A: Diferença entre os comprimentos das raízes (mm) antes e depois do tratamento com alumínio.

Concentração de alumínio (ppm)					
1.5			3.0		
Cultivar	Média**		Cultivar	Média**	
BR 86-7423	31	A	BR 86-7423	27	A
Doko	28	B	PR-GO	25	B
Seridó	24	C	Doko	25	C
PR-GO	24		IAC-9*	24	D
Cristalina*	23	D	IAC-7*	22	E
Tropical	23		IAC-8*	21	
BR-40	22		BR 86-1047	21	
Savana	22		Tropical	20	
IAC-9*	22		Cristalina*	20	
BR 86-1047	22	B	Cariri	20	
Cariri	21	F	IAC-5*	20	
BR 85-473-76	21		Savana	19	
Santa Rosa	21		Santa Rosa	19	
IAC-5*	21		BR-40	19	
IAC-8*	20		Seridó	18	
BR-15	20		BR-15	18	A
BR 83-7605	20		BR 85-473-76	17	
IAC-7*	19		BR 86-943	17	
BR 86-943	18	C	Eureka	16	B
Eureka	17	D	BR 83-7605	16	C
IAC-2*	16	E	IAC-2*	15	D
UFV-1*	15		UFV-1*	15	
BR 86-582	15	F	BR 86-582	14	E

* Posição relativa, em comparação com os dados de Spehar (1989).

** Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Duncan 5%).

TABELA 2. Reação dos genótipos de soja ao alumínio. Estimativa B: (Diferença entre os comprimentos de raízes antes e depois do tratamento com alumínio/comprimento de raízes antes do tratamento com alumínio) x 100.

		Concentração de alumínio (ppm)				
		1.5		3.0		
Cultivar	Média**			Cultivar	Média**	
BR 86-7423	159	A		BR 86-7423	136	A
BR-40	142		B	PR-GO	129	
Doko	137	A		Santa Rosa	126	
Eureka	132	D		Eureka	121	
Santa Rosa	126			Doko	119	
Savana	125			IAC-7*	119	
Seridó	122			BR-40	112	
BR 83-7605	117			IAC-8*	112	
PR-GO	117			Savana	111	
Cristalina*	117			BR 86-1047	110	
BR 85-473-76	115			IAC-9*	110	
BR 86-1047	113			Cariri	102	
Tropical	111	D		IAC-2*	101	
IAC-7*	105			Cristalina*	101	
IAC-8*	105			Tropical	98	
IAC-9*	104			BR 83-7605	95	
BR-15	98	J		BR-15	94	
Cariri	97			BR 86-943	93	
IAC-2*	95			Seridó	91	
IAC-5*	94			BR 85-473-76	90	
BR 86-943	92			UFV-1*	89	
UFV-1*	90			IAC-5*	86	
BR 86-582	80	J		BR 86-582	76	

* Posição relativa em comparação com os dados de Spehar (1989).

** Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Duncan 5%).

de reação ao Al dos 23 genótipos, medidos pelas estimativas A e B, respectivamente. Com a elevação do teor de Al na solução, reduziram-se as diferenças entre os tratamentos. Alguma discrepância na classificação dos genótipos nos dois níveis deveu-se, possivelmente, a efeitos não detectados de vigor nas sementes. Estes resultados podem ser comparados com os obtidos por Spehar (1989) para os tratamentos comuns, marcados por asteriscos. O autor classifica as cultivares Cristalina, IAC-9, IAC-7 e IAC-5 como tolerantes (T); IAC-8 e IAC-2 como moderadamente tolerantes (MT); e UFV-1 suscetível (S). Na comparação com os resultados do presente trabalho, confirmou-se a tolerância, e elevada correspondência nos dois métodos de avaliação. Pela estimativa B, a 'Cristalina',

a 'IAC-9' e a 'IAC-7' foram classificadas em nível superior, e a 'UFV-1' em nível inferior de tolerância. Destacaram-se como moderadamente tolerantes a 'IAC-8' e a 'IAC-2'. A cultivar UFV-1 foi classificada como suscetível, nos dois métodos. Houve grande correlação entre as estimativas, as quais foram consideradas equivalentes na avaliação da tolerância (Fig. 1 e 2).

Pela análise da tolerância ao Al (Tabelas 1 e 2), vê-se que a 'BR 86-7423' é altamente tolerante (AT) e superior às quatro cultivares tolerantes, as quais foram também superadas por 'Doko' e 'Paranagoiana'. As 'BR-86-7423', 'Doko' e 'Paranagoiana' foram desenvolvidas pela EMBRAPA-CNPSO (PR), EMBRAPA-CPAC (DF) e EMBRAPA-EMGOPA (GO). Por outro

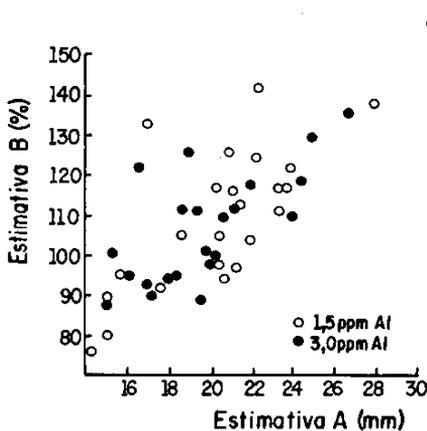


FIG. 1. Correlação entre as Estimativas A e B.

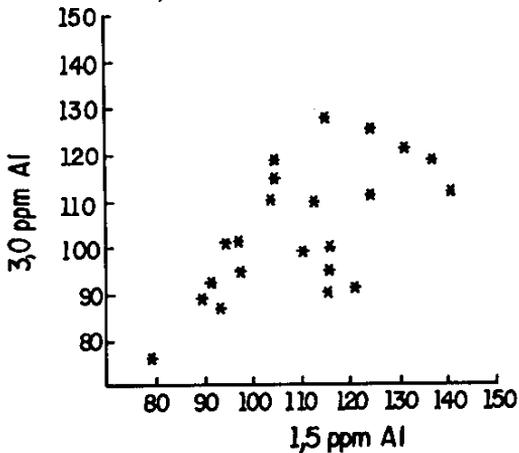


FIG. 2. Correlação entre as Concentrações de Al na Estimativa A.

lado, os genótipos 'UFV-1' e 'BR 86-586', classificados como os mais suscetíveis, foram desenvolvidos pela Universidade Federal de Viçosa e EMBRAPA-CNPSo (PR), respectivamente. As cultivares tolerantes Doko e Cristalina, amplamente cultivadas nos cerrados, têm justificado, em parte, o seu desempenho superior. De igual importância para o cerrado, as cultivares 'Tropical' e '(BR-9) Savana', incluídas nesse mesmo grupo, foram superiores à 'IAC-9', padrão de tolerância. Apesar da adaptação dos genótipos, a tolerância ao Al mostrou variabilidade, o que indica a sele-

ção involuntária em experimentos de campo e a necessidade do emprego de técnicas de laboratório, sob condições controladas de estresse, para elevar a pressão seletiva.

Discussão do método de avaliação

Os efeitos secundários decorrentes dos distúrbios no crescimento radicular causados pelo Al, tais como a redução na produtividade e suscetibilidade ao veranico, com reflexo na produção de grãos, são danos da maior seriedade no cultivo da soja. No entanto, durante o processo de melhoramento, não foi feita uma seleção específica e efetiva para elevar a tolerância das cultivares ao Al. As possíveis causas são: i) a inexistência de métodos de avaliação em larga escala no campo, como os descritos para o trigo (Rosa et al., 1994); e ii) a moderada-alta tolerância ao Al em soja não se constitui em limitante para seu cultivo (Tanaka, 1989). Diante desses fatores, torna-se necessária a identificação de tolerância ao Al pelo crescimento radicular, sob hidroponia, na fase inicial de crescimento.

Fonseca Junior et al. (1982) classificaram cultivares de soja tolerantes ao Al pela coloração de raízes de plântulas de soja com hematoxilina. Entretanto, no presente experimento, esse método mostrou baixa repetibilidade e não houve correlação com a resposta ao Al medida pela taxa de alongamento.

Embora a principal causa dos distúrbios de crescimento de raízes de soja, na maioria dos solos de cerrado, seja atribuída à presença de Al, acredita-se que a diferença nos resultados entre cultivo hidropônico e de campo é que a hidroponia reflete tolerância ao Al diretamente, ao passo que no campo podem estar envolvidos outros fatores, como: toxidez de manganês, interação com nutrientes e matéria orgânica, e efeitos imprevisíveis das condições ambientais.

Neste trabalho, empregou-se uma solução de 100 mg/kg de Ca com pH ajustado a 4,0. A razão de não se utilizar a solução nutritiva completa deve-se ao curto período (24 horas) para o alongamento radicular sob estresse de Al, pois os nu-

nutrientes contidos nos cotilédones são suficientes para atender às demandas das plântulas.

O íon Ca foi adicionado para evitar a desestabilização do pH, acelerar o alongamento radicular e, conseqüentemente, elevar a absorção de Al.

Existem trabalhos que relatam a adição de 10 ppm de Ca, na forma de CaCl_2 e CaSO_4 na solução nutritiva (Sartain & Kamprath, 1978; Hanson & Kamprath, 1979; Garland et al., 1990); utilização apenas de Ca na solução nutritiva (Sapra et al., 1982); e também ausência de nutrientes (Nakamura & Hozyo, 1984). Há trabalhos que relatam desde a utilização de concentrações baixas 0, 0,25, 0,5 e 1,0 ppm por 48 horas (Sartain & Kamprath, 1978) até concentrações de 0, 2,4, 6 e 8 ppm por cinco dias (Sephar, 1989).

Os pontos mais importantes nesta avaliação pelo comprimento radicular foram a utilização de sementes com vigor o mais alto possível, para todos os genótipos, e a padronização dos indivíduos com comprimento radicular entre 1,5 a 2,5 cm, para separar os efeitos de vigor na semente dos de tolerância.

As determinações fizeram-se pela diferença entre comprimento radicular antes e depois do tratamento para cada indivíduo. Mesmo assim, houve alguma variação entre indivíduos dentro de um mesmo genótipo, e tornou-se necessário utilizar um número superior a 10 indivíduos. Entretanto, o método de seleção pelo alongamento radicular permite a produção de sementes das plantas selecionadas para testes de progênes na próxima geração, o que constitui vantagem no melhoramento genético da soja com vistas à tolerância ao Al.

CONCLUSÕES

1. O método de avaliação do alongamento radicular é simples, de curta duração, de baixo custo e, principalmente, não-destrutivo. Esta característica permite o avanço de geração dos indivíduos selecionados com vistas a testes de progênie e estudos genéticos de tolerância ao Al em soja.

2. Tornam-se necessários novos estudos para elevar o controle sobre diferenças no vigor das plântulas, para tornar o método mais eficiente.

3. A avaliação pelo método da hematoxilina apresentou baixa repetibilidade em comparação com as medições do alongamento radicular, e necessita de mais estudos para o seu aprimoramento.

REFERÊNCIAS

- FONSECA JUNIOR, N.S.; MARIA, J.; SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M.G.; YAMADA, M.M.; TRAGNAGO, J.L. Método de detecção visual da sensibilidade ao alumínio em soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., 1981, Brasília. *Anais...* Londrina, PR.: EMBRAPA-CNPSo, 1982. v.2, p.678-685.
- GARLAND, M.L.; CAMPBELL, K.A.; CARTER JUNIOR, T.E. Aluminum tolerance in soybean: I. Genotypic correlation and repeatability of solution culture and greenhouse screening methods. *Crop Science*, v.30, p.1049-1054, 1990.
- HANSON, W.D.; KAMPRATH, E.J. Selection for aluminum tolerance in soybean based on seedling root growth. *Agronomy Journal*, v.71, p.581-586, 1979.
- MUNNS, D.N.; HOLEMBERG, J.S.; RIGHETTI, T.L.; LAUTER, D.J. Soil acidity tolerance of symbiotic and nitrogen fertilized soybeans *Glycine max*. *Agronomy Journal*, v.73, n.3, p.467-410, 1981.
- NAKAMURA, S.; HOZYO, Y. Simple selection for Al-tolerance in soybean based on seedling root growth in Al-solution. In: **REPORT on Japan-Indonesia Joint Agricultural Research Project**. [S.l.]: JICA, 1984. p.31-39.
- ROSA, O.S.; CAMARGO, C.E.O.; RAJARAM, S.; ZANATTA, A.C.A. Produtividade de trigo (*Triticum aestivum* (L.) Thell.) com tolerância ao alumínio tóxico no solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.29, n.3, p.411-417, 1994.
- SAPRA, V.T.; MEBRAHTU, T.; MUGWIRA, L.M. Soybean germplasm and cultivar aluminum tolerance in nutrient solution and bladen clay loam soil. *Agronomy Journal*, v.74, p.687-690, 1982.
- SARTAIN, K.B.; KAMPRATH, E.J. Aluminum tolerance of soybean cultivars based on root elongation in solution culture compared with growth in acid soil. *Agronomy Journal*, v.70, p.17-20, 1978.
- SPEHAR, C.R. **The genetics of aluminum tolerance in soya beans *Glycine max* (L.) Merrill**. Cambridge (Inglaterra): University of Cambridge, 1989. 123p. Ph.D. Thesis.
- TANAKA, A. **Solos ácidos e seus usos agrícolas - situação e futuro nos trópicos**. [S.l.]: Editora Hakuyu, 1989.