

**Avaliação da tolerância de
duas cultivares de braquiárias
submetidas a doses crescentes
de alumínio**



ISSN 1983-9715

Dezembro, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Corte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 31

**Avaliação da tolerância de
duas cultivares de braquiárias
submetidas a doses crescentes de
alumínio**

*Gislayne de Araujo Bitencourt
Lucimara Chiari
Cacilda Borges do Valle
Valdemir Antônio Laura
José Roberto Moro*

Embrapa
Brasília, DF
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte

Rodovia BR 262, Km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS

Caixa Postal 154

Fone: (67) 3368 2083

Fax: (67) 3368 2180

<http://www.cnpqc.embrapa.br>

E-mail: publicacoes@cnpqc.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Pedro Paulo Pires*

Secretário-Executivo: *Wilson Werner Koller*

Membros: *Rodrigo Carvalho Alva, Elane de Souza Salles, Valdemir Antônio Laura, Dalziza Montenário de Aguiar, Davi José Bungenstab, Jaqueline Rosemeire Verzignassi, Roberto Giolo de Almeida, Vanessa Felipe de Souza*

Supervisão editorial: *Rodrigo Carvalho Alva*

Revisão de texto e Editoração Eletrônica: *Rodrigo Carvalho Alva*

Normalização bibliográfica: *Elane de Souza Salles*

Foto da capa: *Sanzio Barrios*

1ª edição

Versão online (2012)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Gado de Corte.**

Avaliação da tolerância de duas cultivares de braquiárias submetidas a doses crescentes de alumínio [recurso eletrônico] / Gislayne de Araujo Bitencourt... [et al]. – Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2012.

16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Gado de Corte, ISSN1983-974X ; 31).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: <<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/bp/BP31.pdf>>

Título da página da Web (acesso em 30 de dezembro de 2012).

Outros autores: Lucimara Chiari; Cacilda Borges do Valle; Valdemir Antônio Laura; José Roberto Moro.

1. Pastagem. 2. Melhoramento genético vegetal. 3. Gramínea forrageira. 4. Brachiária. 5. Urochloa. I. Bitencourt, Gislayne de Araujo. II. Chiari, Lucimara. III. Valle, Cacilda Borges do. IV. Laura, Valdemir Antônio. V. Moro, José Roberto. VI. Série.

Sumário

Resumo	5
Abstract.....	7
Introdução.....	8
Material e métodos.....	9
Resultados e discussão	11
Conclusões.....	14
Referências bibliográficas	14

Avaliação da tolerância de duas cultivares de braquiárias submetidas a doses crescentes de alumínio

*Gislayne de Araujo Bitencourt*¹

*Lucimara Chiari*²

*Cacilda Borges do Valle*³

*Valdemir Antônio Laura*⁴

*José Roberto Moro*⁵

Resumo

Forrageiras capazes de tolerar o alumínio em níveis elevados apresentam-se como uma alternativa viável para contornar um dos principais problemas das pastagens em solos ácidos. Entre as principais espécies de gramíneas forrageiras, destacam-se *Brachiaria decumbens* e *B. brizantha*, amplamente cultivadas por todo território brasileiro. Este trabalho objetivou determinar o nível de tolerância ao alumínio das cultivares *B. brizantha* cv. Marandu e *B. decumbens* cv. Basilisk usando doses crescentes desse elemento. Para tanto, perfilhos coletados das cultivares utilizadas foram submetidos a três doses de alumínio (200, 400 e 600 µM/L) em solução contendo 200 µM/L de cálcio e pH 4,2. Como controle foi utilizada uma solução sem a presença do alumínio. Após 21 dias, foram avaliados o crescimento relativo e o

¹Bióloga, Estudante de mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Campus de Jaboticabal. Av. Prof. Paulo Donato Castellane s/n., 17884-900, Jaboticabal, SP. Endereço eletrônico: gislayne86@hotmail.com

²Bióloga, D.Sc., Pesquisadora na Embrapa Gado de Corte. BR 262 Km 4, Caixa Postal 154, 79002-970, Campo Grande, MS. Endereço eletrônico: lchiari@cnpqc.embrapa.br

³Eng. Agrônoma, PhD., Pesquisadora da Embrapa Gado de Corte. Endereço eletrônico: cacilda@cnpqc.embrapa.br

⁴Eng. Agrônomo, D.Sc., Pesquisador da Embrapa Gado de Corte. Endereço eletrônico: valdemir@cnpqc.embrapa.br

⁵Eng. Agrônomo, D.Sc., Professor Titular do Departamento de Biologia aplicada à Agropecuária na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP Campus de Jaboticabal. Endereço eletrônico: jrmoro@fcav.unesp.br

peso seco das raízes. As análises de variância e regressão polinomial demonstraram que na cultivar Marandu ambas as características foram linearmente decrescentes. Entretanto, na cultivar Basilisk foi observado um aumento no crescimento relativo e peso seco das raízes na dose de 200 $\mu\text{M/L}$ de alumínio e os maiores valores foram observados na dose estimada em 250 $\mu\text{M/L}$. Doses maiores causaram a redução nas características avaliadas. Pode-se concluir que a cultivar Marandu é sensível a todas as doses de alumínio utilizadas e a cultivar Basilisk é tolerante ao alumínio até a dose de 250 $\mu\text{M/L}$. As cultivares Marandu e Basilisk podem, respectivamente, serem utilizadas como referência de sensibilidade e tolerância ao alumínio.

Termos para indexação: estresse por alumínio, forrageiras, solos ácidos, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*.

Evaluation of the tolerance of two cultivars of brachiaria grass submitted to increasing doses of aluminum

Abstract

Forages which are able to tolerate high levels of aluminum are presented as the most viable alternative to bypass one of the main problems of pastures on acid soils. Among the main species of grasses, stand out Brachiaria brizantha and B. decumbens, widely cultivated throughout the Brazilian territory. This work aimed to determine the level of aluminum tolerance of the cultivars B. brizantha cv. Marandu and B. decumbens cv. Basilisk. For this, tillers of these cultivars were collected and submitted to three doses of aluminum (200, 400 and 600 $\mu\text{M/L}$) in solution containing 200 $\mu\text{M/L}$ of calcium and pH 4,2. As control, a solution without aluminum was used. After 21 days, growth and dry weight of roots were evaluated. The analysis of variance and polynomial regression demonstrated that in the cultivar Marandu both traits linearly decreased. However, in the cultivar Basilisk an increase in the relative growth and dry weight of roots was observed in the dose of 200 $\mu\text{M/L}$ of aluminum and the highest values were observed in the dose estimated to be 250 $\mu\text{M/L}$. High doses caused a reduction in the traits evaluated. It can be concluded that cultivar Marandu is sensitive to all doses of aluminum used and that cultivar Basilisk is tolerant to aluminum up to the dose of 250 $\mu\text{M/L}$. These cultivars may be used as reference of sensitivity and tolerance to aluminum, respectively.

Index terms: acid soils, aluminum stress, forage, Brachiaria decumbens, Brachiaria 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 *Brachiaria* (Trin.) Griseb. 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 alumínio (RAO et al. 2005).

Em solos ácidos o alumínio 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 alumínio 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 alumínio 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). Essas alterações e danos no sistema radicular podem levar à deficiência mineral e ao estresse hídrico (DEGENHARDT et al. 1998, ALMEIDA et al. 2000).

A alternativa mais promissora para reduzir os efeitos tóxicos do alumínio nas plantas é a exploração do potencial genético das culturas, pois as espécies e variedades diferem amplamente em sua tolerância a esse elemento.

Recentemente, um grande número de pesquisadores tem procurado identificar plantas dentro da mesma espécie que possuem maior tolerância às condições de solos ácidos e incluí-los em programas de

melhoramento genético, a fim de se transferir essa tolerância em materiais genéticos comerciais (QUAGGIO 2000).

Em *Brachiaria*, a cultivar Basilisk (*B. decumbens*) foi apontada como a cultivar comercial de braquiária mais adaptada aos solos ácidos e, resultados de trabalhos indicam que essa adaptação está relacionada à tolerância ao alumínio (RAO et al. 2005). Além disso, 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).

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

Neste trabalho, objetivou-se determinar o nível de tolerância ao alumínio de duas importantes cultivares de braquiária, *B. brizantha* cv. Marandu e *B. decumbens* cv. Basilisk, com vistas a auxiliar os programas de melhoramento na seleção de genótipos tolerantes ao alumínio e a projetos que visem a identificação e caracterização de genes envolvidos na resposta a esse elemento.

Material e métodos

Perfilhos de *B. decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cv. Marandu, provenientes do germoplasma da Embrapa Gado de Corte, foram coletados de plantas mantidas em vasos na casa de vegetação desta Unidade Descentralizada (UD) de pesquisa da Embrapa.

Esses perfilhos foram enraizados em uma mesa de hidroponia contendo solução nutritiva, preparada segundo Hoagland e Arnon (1950),

permanecendo por 11 dias. Após esse período, o comprimento inicial das raízes foi medido com auxílio de uma régua de 50 cm. Os perflhos foram transferidos para quatro mesas de hidroponia, cada qual conectada a um recipiente contendo 15 L das seguintes soluções: Solução 1 (200 μM CaCl_2 + 0 μM AlCl_3) (controle); Solução 2 (200 μM CaCl_2 + 200 μM AlCl_3); Solução 3 (200 μM CaCl_2 + 400 μM AlCl_3) e Solução 4 (200 μM CaCl_2 + 600 μM AlCl_3); todas com pH ajustado para 4,2. O experimento durou 21 dias e foi realizado em casa de vegetação. O pH e o volume das soluções foram monitorados diariamente e ajustados quando necessário. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com sete repetições.

Para avaliação da tolerância ao alumínio 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 peso seco das raízes (PS).

Passados 21 dias, as plantas foram retiradas das soluções e as raízes foram medidas para obtenção do comprimento final. Após, elas foram separadas e 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 600 dpi, para análise do diâmetro, 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 peso seco, realizada em balança eletrônica digital e precisão 0,001 (BEL Engineering).

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

Resultados e discussão

Vários autores relataram que o alumínio afeta o crescimento e diâmetro das raízes, porque altera as propriedades da parede celular e do plasmalema o que resulta em inibição do alongamento e da divisão celular do eixo principal (TAYLOR 1991, RYAN et al. 1993, KOCHIAN 1995). Entretanto, neste trabalho, observou-se o efeito negativo do alumínio apenas no CRR e PS e o efeito foi não significativo no DR (Tabela 1).

Tabela 1 - Resumo da análise de variância (ANOVA) para crescimento relativo (CRR), diâmetro (DR) e peso seco (PS) de raízes das cultivares: *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cv. Marandu, submetidas a doses crescentes de alumínio

Fontes de variação	G.L.	Basilisk			Marandu		
		F			F		
		CRR	DR	PS	CRR	DR	PS
Alumínio	3	14,5778**	0,1427	2,4166	3,2842*	0,9130	4,1170*
RL	1	9,3411**	0,2549	1,8934	8,2054**	0,6073	5,2756*
RQ	1	34,2877**	0,0050	4,2234*	0,1910	0,5624	0,2515
RC	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.		14,6189	13,2489	32,8584	48,0679	25,9071	71,1278

RL = regressão linear; RQ = regressão quadrática; RC = Regressão cúbica.
*significativo ($P < 0,05$); **significativo ($P < 0,01$)

BITENCOURT et al. (2011) avaliando cinco genótipos de *Brachiaria decumbens* e cinco de *B. ruziziensis* submetidos a uma única dose de alumínio (200 $\mu\text{M/L}$ AlCl_3), observaram engrossamento das raízes nos cinco genótipos de *B. ruziziensis* e em dois genótipos de *B. decumbens*. A cultivar Basilisk foi um dos genótipos de *B. decumbens* avaliados que não apresentou engrossamento significativo do DR, corroborando com o observado neste estudo, mesmo em doses mais elevadas de alumínio.

Com relação ao CRR, pode-se observar pela regressão linear obtida para determinar o ponto máximo de crescimento, que *B. brizantha* cv. Marandu apresentou redução no CRR quando o alumínio estava presente na solução. A redução foi linear com o aumento da dose de alumínio, mostrando que essa cultivar foi sensível a todas as doses testadas (Figura 1). OLIVEIRA et al. (2000) também observaram decréscimo significativo no CRR de diferentes genótipos de *Panicum maximum* submetidos a doses crescentes de alumínio.

Por outro lado, neste trabalho observou-se um aumento significativo no CRR da cv. Basilisk, enquadrando-se em um modelo de regressão polinomial, com ponto máximo de crescimento de 25,7 cm ($R^2 = 0,9976$), na dose estimada de 250 μM de alumínio (Figura 1). A partir desta dose observou-se uma redução do CRR das raízes. ROUT et al. (2001), analisando a tolerância ao alumínio em diferentes espécies de plantas, relataram que baixas doses de alumínio podem muitas vezes estimular o crescimento das raízes, da mesma forma que foi observada neste trabalho para *B. decumbens* cv. Basilisk.

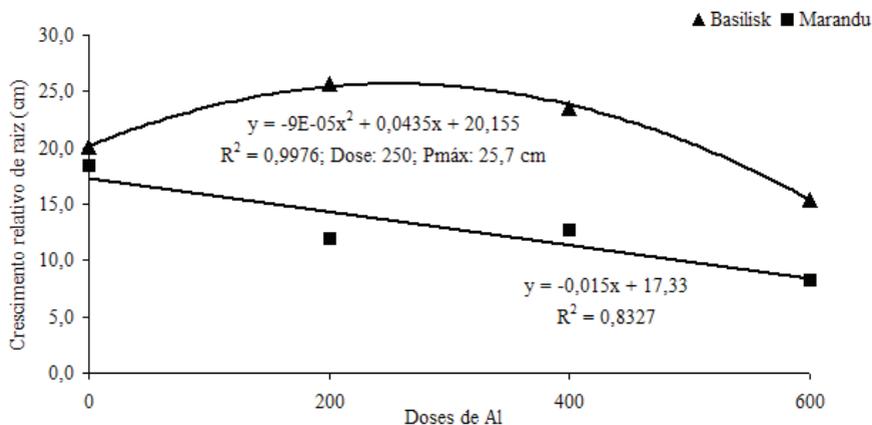


Figura 1. Crescimento relativo das raízes (cm) das cultivares: *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cv. Marandu, submetidas a doses crescentes de alumínio.

Na análise do PS também foi observado um estímulo no crescimento das raízes da cv. Basilisk no ponto estimado de 250 μ M de alumínio, com o peso máximo de 0,05 g, sendo significativamente maior quando comparada a ausência de alumínio. Para *B. brizantha* cv. Marandu observou-se o mesmo comportamento de queda linear do PS com o aumento da dose de alumínio, similar ao ocorrido com o CRR, enquadrando-se em um modelo linear decrescente (Figura 2).

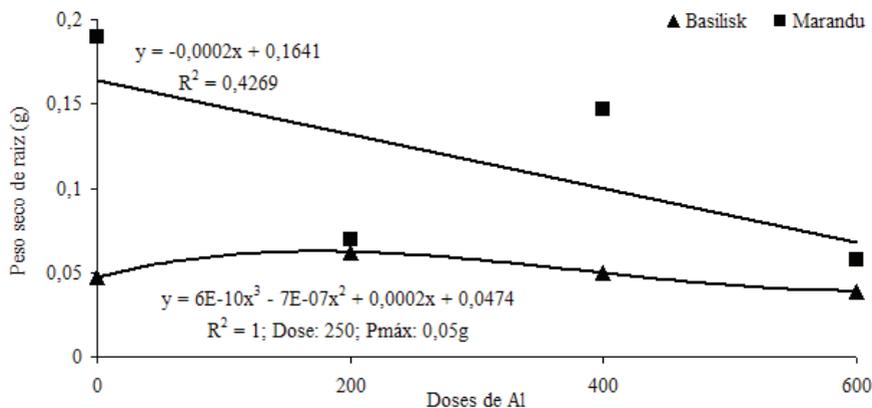


Figura 2. Peso seco das raízes (g) das cultivares: *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cv. Marandu, submetidas a doses crescentes de alumínio.

Conclusão

Pelos dados de CRR e PS que *B. decumbens* cv. Basilisk é mais tolerante ao alumínio que *B. brizantha* cv. Marandu e que ambas respondem diferentemente a presença desse elemento, enquadrando-se em modelos de regressão distintos.

A menor dose utilizada neste estudo foi capaz de distinguir o nível de tolerância ao alumínio das duas cultivares avaliadas, podendo ser essa a dose aplicada em estudos de fenotipagem e de expressão gênica realizados em hidroponia em casa de vegetação.

Sugere-se a realização de novos estudos com experimentos utilizando vasos contendo solos com diferentes pHs e saturações de alumínio para confirmar de maneira mais precisa o comportamento desses genótipos de *Brachiaria* frente a esses fatores.

Referências bibliográficas

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**, v.24, p. 339-344, 2000.

BITENCOURT, G. A.; CHIARI, L.; LAURA, V. A.; VALLE, C. B.; JANK, L.; MORO, J. R. Aluminum tolerance on genotypes of signal grass. **Revista brasileira de zootecnia (Online)**, v. 40, p. 245-250, 2011.

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.

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

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

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

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

PRIOLI, A.J.; SCAPIM, C.A.; PRIOLI, S.M.A.P.; BONI, T.A.; OLIVEIRA, A.V.; PANARARI, R.S.; RETUCI, V.S.; MACEDO, E.S.; PRATI, R.M. Genetic analysis of aluminum tolerance in maize. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.2, p.275-280, 2002.

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

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. **Anais**. In: WORKSHOP ON ADVANCES IN IMPROVING ACID SOIL ADAPTATION OF TROPICAL CROPS AND FORAGES AND MANAGEMENT OF ACID SOILS. Brasília, DF, 2005. p.7-10.

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

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, 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**, v.19 p.287-298, 1984.

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

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**, v.125, p.1473-1484, 2001.

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



Gado de Corte

**Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento**

**Governo
Federal**

CGPE 10185