

# Adaptação de Milho a Solos Ácidos: Tolerância a Toxidez de Alumínio e Eficiência no Uso de Nutrientes no Programa de Pesquisa da Embrapa-Milho e Sorgo<sup>1</sup>

Sidney Netto Parentoni<sup>2</sup>, Elto E.G.Gama, Manoel X. Santos, Mauricio A. Lopes, Vera M.C.Alves, Antonio F.C.Bahia Filho, Carlos A.Vasconcelos, Ricardo Magnavaca, Cleso A.P.Pacheco, Walter F. Meirelles, Paulo E.O.Guimarães, Alvaro Eleutério da Silva, Waldemar Naspolini Filho, José R. Moro, Ronaldo T.Viana, Gilson V.E. Pitta, Gonçalves, E.França, Antonio Alvaro C. Purcino, Izabel R.P. Souza, Ivanildo E.Marriel, Altair T. Machado, Luiz A Correa, Antonio C. Oliveira, Edilson Paiva

## Introdução

A região de savanas no Brasil, conhecida como "cerrado" ocupa cerca de 207 milhões de ha (24,42% do território nacional), sendo que 127 milhões de ha são considerados aptos para utilização agrícola. Está localizada entre os paralelos 5°50' Norte e 21°26' de latitude Sul. Atualmente 12 milhões de ha do cerrado brasileiro produzem 25% da safra de soja, milho e arroz, 20% do café e 15% do feijão colhidos no país. Existem ainda 35 milhões de ha sendo utilizados para produção animal, gerando 40% da carne e 12% do leite produzidos no Brasil.

A ocupação desta fronteira agrícola iniciou-se na década de 70, e foi fruto de esforços de pesquisa conduzidos por diversas instituições públicas e privadas tanto do país quanto do exterior, com enfoque principalmente nas áreas de manejo e fertilidade de solos e no desenvolvimento de cultivares adaptados às restrições existentes nesta área.

A região dos cerrados associa características favoráveis com outras restritivas à exploração agrícola. Dentre as favoráveis deve-se mencionar: topografia plana e textura de solos que favorecem a mecanização; precipitação suficiente (apesar de distribuição pouco regular de chuvas); temperaturas adequadas; abundante luminosidade durante todo o ano; boa drenagem dos solos; reservas de calcário e fósforo presentes na região. A maior limitação ao uso agrícola desta área é a associação entre alta acidez (baixo pH e altas saturações de alumínio) com baixa fertilidade natural dos solos. A estratégia de reduzir estas limitações naturais via aplicação de níveis elevados de calagem e fósforo apresenta limitações de ordem técnica (dificuldade de corrigir-se a acidez sub-superficial e alta adsorção do fósforo aplicado através de fertilizantes solúveis) e limitações de ordem econômica (elevada quantidade de insumos necessária para correção completa do solo podendo levar a um baixo retorno econômico). A combinação de práticas de manejo de solo com o uso de doses adequadas de calcário e fósforo, associado ao emprego de cultivares adaptados a solos ácidos foram fatores chave que permitiram atingir-se os atuais níveis de utilização agrícola desta área.

A importância do trabalho de melhoramento para tolerância a estresses abióticos é enfatizada por Duvick, 1996. O autor afirma que um dos fatores responsáveis por manter uma taxa de cresci-

1 - Trabalho apresentado na XVIII Reunión Latinoamericana de Maíz. Sete Lagoas, Brasil. Agosto 22-27, 1999.

2 - EMBRAPA-Milho e Sorgo, C.P. 151 Sete Lagoas - MG. 35701-970. Email sidney@cnpms.embrapa.br

mento de 74 kg/ha/ano na média dos últimos 70 anos nos Estados Unidos foi o ganho obtido em adaptação a estresses abióticos (baixa fertilidade, seca e baixas ou altas temperaturas) e estresses bióticos nos programas de melhoramento americanos. Pode-se inferir que, em áreas tropicais onde a ocorrência de estresses abióticos é muito maior que em solos temperados, grande atenção deva ser dada ao melhoramento para esta condição. O texto abaixo apresenta uma coletânea de dados do programa de pesquisa para adaptação a solos ácidos e eficiência na utilização de nutrientes que vem sendo conduzido na EMBRAPA-Milho e Sorgo nos últimos 25 anos.

## Variabilidade genética e desenvolvimento de germoplasma para solos ácidos

O programa de melhoramento de milho para adaptação a solos ácidos da EMBRAPA-Milho e Sorgo iniciou-se em 1975, sendo que desde o início da década de 60 já existiam dados de fertilidade de solos e nutrição de plantas em milho em solo sob cerrado. Este programa tem contado com uma equipe multidisciplinar nas áreas de genética e melhoramento de plantas, fertilidade de solos, nutrição de plantas, estatística e fitopatologia (Bahia Filho et. al., 1997).

Inicialmente foi determinada a variabilidade genética existente para esta característica no acervo de germoplasma disponível na época. Em 1975 foi feito um screening utilizando-se 363 linhagens da coleção do CNPMS em um Latossolo Vermelho Escuro com 55% de saturação de alumínio (Bahia Filho et. al., 1978). Foi utilizada uma escala visual de notas de 1 (muito ruim) a 5 (ótimo desenvolvimento). Sessenta dias após a germinação, 68,7% das linhagens estavam mortas, sendo que somente 3,6% das mesmas receberam nota 4 e nenhuma recebeu nota 5. Com base nestas avaliações foram selecionadas 30 linhagens com produção em solo ácido igual ou superior a 2000 kg espigas/ha. Estas linhagens foram testadas em um LE sob 3 níveis de calagem: 0, 2 e 7 toneladas/ha, correspondendo a saturações de alumínio de 64%, 46% e 5% (Naspolini Filho et. al., 1981). Foram identificados 3 grupos de linhagens com diferentes tipos de resposta à correção do ambiente. Dados de 3 linhagens com resposta típica de cada um dos 3 grupos foram: a) linhagens como a L69 (produção relativa a seu valor máximo de produção nos níveis de 0, 2 e 7 ton. calcário/ha de 97, 100 e 92%), ou seja, a linhagem não responde a melhoria do ambiente; b) linhagens como a L 297, com valores de 53, 70 e 100% em cada um dos níveis de calagem, ou seja, a linhagem somente atinge seu máximo potencial produtivo com altos níveis de correção do ambiente; c) linhagens como a L 153, produção relativa de 81%, 100% e 100%, representando linhagens capazes de atingir seu máximo potencial produtivo (100%) com pequena correção do ambiente (2 ton. calcário/ha).

O programa de solos ácidos utilizou também como material básico, germoplasma introduzido de diversas partes do mundo e que não haviam sido previamente selecionados para esta condição. Uma das introduções que maior impacto teve sobre o germoplasma elite desenvolvido pela EMBRAPA nos últimos 20 anos, foram 31 populações e Pools do CIMMYT introduzidos em 1976. Estes materiais foram avaliados em 27 locais (solos de média a alta fertilidade), identificando-se populações com grande potencial de utilização no país (Moro et al., 1981). Após passarem por diversos ciclos de seleção recorrente dentro do programa de melhoramento da EMBRAPA-Milho e Sorgo algumas

destas variedades foram lançadas para utilização direta por agricultores ou vem sendo utilizadas para extração de linhagens em diversos programas de melhoramento no país. As mais importantes variedades obtidas via seleção recorrente e o germoplasma original introduzido do CIMMYT em 1976 da qual elas se derivaram foram: a) BR-105-obtida a partir de Suwan DMR via recombinação de 93 progenies de irmãos germanos selecionadas de um grupo de 800 progênies avaliadas em Sete Lagoas no verão 1977/78 (Moro et. al., 1981a). O BR105 já passou por 8 ciclos de seleção recorrente em solos férteis, sendo que desde 1986 está sob seleção recorrente recíproca com a variedade BR 106 (Santos et. al., 1992). Apesar de não ter sido selecionado em condição de solo ácido no Brasil, a variedade BR 105 tem produzido linhagens com boa tolerância a toxidez de alumínio em solução nutritiva (Parentoni et. al. 1995; Alves et. al, 1999 – dados não publicados); b) CMS 28-Tuxpeno Amarelo, é um Sintético Tuxpeno formado a partir de segregação para grãos amarelos identificada em Tuxpeno 1 – CIMMYT. Após 2 ciclos de seleção recorrente, foi obtido um grupo de linhas S3 e estas foram avaliadas em top-cross com a variedade BR111. As 10 linhagens superiores foram recombinadas para formar o sintético CMS 28. Linhagens obtidas desta população tem sido utilizadas em híbridos com boa adaptação a solos ácidos como o BRS 2110 por exemplo; c) CMS03-Variedade obtida a partir de Amarillo Cristalino-CIMMYT. A linhagem L 723 extraída desta população tem produzido híbridos eficientes na utilização de fósforo (Parentoni et. al., 1996); d) CMS04C (obtida a partir de seleção recorrente na variedade Amarillo Dentado-CIMMYT. Atualmente já passou por 6 ciclos de seleção recorrente em solo ácido); e) BR 111 Sintético de linhas S3 derivadas do Pool 21-CIMMYT, já passou por 6 ciclos de seleção recorrente em solo fértil. A linhagem L 53, (padrão de suscetibilidade a alumínio em solução nutritiva) foi extraída desta população; e) BR112 - Sintético de linhas S3 derivadas do Pool 22-CIMMYT, já passou por 6 ciclos de seleção recorrente em solo fértil. Uma das linhagens do HS macho do híbrido BR 201 foi extraída desta variedade; f) CMS 14 C - Sintético obtido em 1982 a partir da recombinação de 90 progênies S2 selecionadas entre 1100 progenies do Pool 25-CIMMYT, avaliadas em um LE com 45% de saturação de alumínio. Desde sua formação o CMS14C já passou por 6 ciclos de seleção recorrente em solos ácidos.

Um composto sintetizado na EMBRAPA-Milho e Sorgo e que tem tido grande utilização não só como variedade per se, mas como fonte de linhagens em programas públicos e privados de melhoramento é a variedade BR106. Este composto foi formado em 1975 pelo cruzamento de germoplasma tuxpeno brasileiro (Maya, Dentado Composto e Centralmex), com Tuxpeno 1 introduzido do CIMMYT (Magnavaca et. al. comunicação pessoal). O BR106 já passou por 13 ciclos de seleção em solos férteis, sendo que a partir de 1986 vem sendo submetido a seleção recorrente recíproca com o BR 105 (Santos et. al., 1992). A variedade BR 106, apesar de apresentar baixa tolerância a alumínio em solução nutritiva (Lopes et. al., 1987), tem sido boa fonte de linhagens para obtenção de híbridos adaptados a solos ácidos (Parentoni et al., 1996).

Dentre as variedades utilizadas no programa de solos ácidos, além das CMS 14C e CMS 04C, mencionadas acima, duas outras variedades mostraram alta adaptação a este ambiente: a variedade CMS 36 e a variedade CMS 30. A variedade CMS 36 é um sintético formado a partir de 4 recombinações das 18 melhores linhagens do grupo inicial de 363 linhagens avaliadas em solo ácido em 1975. Este sintético foi submetido a três ciclos de seleção recorrente em solo ácido. Progênies S1 desta variedade foram uma das fontes utilizadas na formação da variedade tolerante a solos ácidos SA5 do CIMMYT.

A variedade CMS 30- Composto Amplo, foi sintetizada no Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queirós da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) a partir da recombinação de populações oriundas do CIMMYT, América Central e América do Sul. De 1975 a 1994 foram obtidos na EMBRAPA-Milho e Sorgo, 11 ciclos de seleção recorrente para peso de espigas em solo ácido nesta variedade. Progêneses S1 da CMS 30 foram uma das fontes utilizadas na formação da variedade tolerante a solos ácidos SA4 do CIMMYT. A variedade CMS 13 é um composto formado a partir de 18 populações selecionadas em solo ácido sob cerrado. Apesar de originada de materiais selecionados em condição de cerrado, a variedade CMS 13 mostrou baixa produtividade neste ambiente (Gama et. al., 1986) e também baixa tolerância a alumínio em solução nutritiva (Lopes et. al., 1986). Esta variedade não tem sido utilizada dentro do programa de melhoramento.

Um estudo de avaliação de ganhos de seleção recorrente em solo ácido foi conduzido utilizando-se a variedade CMS 04 C. Como mencionado acima, esta variedade já foi submetida a 6 ciclos de seleção recorrente em solos ácidos em Sete Lagoas, MG. Estes seis ciclos foram avaliados em 5 ambientes (Souza J. R., 1997). O autor classificou as áreas como 2 ambientes de solo ácido e 3 ambientes corrigidos. Entretanto, a saturação de alumínio em um dos solos considerados ácidos foi baixa (17% sat. Al, com pH sub-superficial de 5,2) sendo que o segundo ambiente ácido mostrou níveis médios de acidez (LE com 36% sat. Al e pH abaixo de 20 cm de 4,7). Não foram verificados ganhos na variável peso de espigas para os 6 ciclos de seleção nem nos ambientes férteis nem nos dois ambientes considerados ácidos. Entretanto, os dados do único ensaio conduzido no local com nível médio de acidez (36% Al, pH=4,7), mostraram uma tendência de ganho do Ciclo 0 para o Ciclo 6 (3667 kg/ha e 4169 kg/ha ou 2,2% por ciclo), sugerindo que um maior número de ensaios em solos com médios a altos níveis de acidez seriam necessários para se confirmar estas observações.

Uma questão importante no direcionamento do programa de solos ácidos foi verificar a possibilidade de associar-se alta produção em solos ácidos com a capacidade de resposta a melhoria ambiental de determinado genótipo. Estudo de avaliação em solos ácidos e férteis de variedades e híbridos comerciais de milho realizado na década de 80 (Gama et. al., 1986), indicaram que genótipos como a variedade CMS 36 e um híbrido simples cateto (CMS 200 X), apesar de muito produtivos em solo ácido, mostravam baixa capacidade de resposta a melhoria do ambiente. Esta foi uma das razões da pouca utilização da variedade CMS 36 como fonte de linhagens dentro do programa de híbridos para solos ácidos da EMBRAPA. A capacidade combinatória para peso de grãos das variedades selecionadas para solos ácidos CMS 36, CMS30, CMS14 C, CMS 04 C, e CMS 13 foi avaliada em esquema dialélico completo incluindo F1's e parentais, em ensaios conduzidos em quatro locais de solos ácidos (Eleutério et. al, 1988). A variedade CMS 36 mostrou maior média per se e maior capacidade combinatória para peso de espigas em solos ácidos dentre as cinco variedades avaliadas. A variedade CMS 14 C, apresentou neste ensaio, produtividade semelhante à CMS 36, e uma capacidade combinatória em solo ácido positiva mas bem menor que a CMS 36. Entretanto, a variedade CMS 14C, associa médios níveis de produtividade em solo ácido (Eleutério et. al., 1988) com alta resposta a melhoria ambiental (Gama et. al., 1986). Esta variedade tem sido muito utilizada como fonte de linhagens dentro do programa de adaptação de milho a solos ácidos da EMBRAPA.

## Tolerância a toxidez de alumínio

Uma das principais limitações ao crescimento de plantas na região dos cerrados são os altos níveis de saturação de alumínio nestes solos (Foy, 1992). Em geral a calagem corrige a camada superficial, mas níveis médios a altos de acidez ainda são encontrados na camada sub-superficial (Farina et al., 1988). Este fato restringe o volume de solo passível de ser explorado pelo sistema radicular de genótipos suscetíveis. Como o efeito principal da toxidez de alumínio é inibir o crescimento de raízes, este tem sido o parâmetro utilizado para avaliar tolerância de plantas ao alumínio (Moore, 1976). A metodologia de screening mais utilizada para determinar a tolerância a alumínio em cereais tem sido a avaliação do crescimento radicular de seedlings em solução nutritiva contendo níveis tóxicos de alumínio. Esta metodologia permite separar o efeito da toxidez de alumínio de diversos outros fatores existentes em solos ácidos e que também restringem o desenvolvimento das plantas neste ambiente, como por exemplo, limitações nutricionais e hídricas. Estudos de herança da tolerância a alumínio em milho em solução nutritiva encontraram desde herança monogênica (Rhue et al., 1978, Garcia Jr. And Silva, 1979), passando por característica controlada por dois genes complementares dominantes (Miranda et al., 1984), até herança quantitativa, controlada por poucos genes (Magnavaca, 1982; Sawazaki e Furlani, 1987). A metodologia de solução nutritiva utilizada dentro do programa de adaptação de milho a solos ácidos da EMBRAPA, foi ajustada por Furlani e Clark, 1981 e Magnavaca, 1982. Esta solução contém macro e micronutrientes e uma concentração de alumínio de 6 ppm ou 222  $\mu\text{mol/l}$ . O parâmetro que tem sido mais utilizado para determinar a tolerância a toxidez de alumínio é o crescimento relativo de raiz seminal (CRRS), que é a relação entre o crescimento final após 6 dias na solução, dividido pelo crescimento inicial. Um outro índice que pode também ser utilizado é o crescimento líquido de raiz seminal (diferença entre o crescimento final e inicial). Estudo de avaliação em solução nutritiva com 6 ppm de alumínio envolvendo famílias  $F_{3,4}$  obtidas do cruzamento entre uma linhagem altamente tolerante a alumínio (Cateto Al 237/67) e outra suscetível (L53) mostraram alta herdabilidade no sentido amplo para CRRS ao nível de médias de famílias, ( $h^2_m = 95.6\%$ ) enquanto as herdabilidades ao nível de plantas individuais no sentido amplo ( $h^2_p$ ) e no sentido restrito ( $h^2_r$ ) mostraram valores mais baixos (49,2% e 32,8%), indicando que o uso de CRRS ao nível de média de famílias é um índice mais confiável do que CRRS obtido ao nível de plantas individuais (Martins et al., 1999). Estudo de herança da tolerância a toxidez de alumínio utilizando o método de médias generacionais (Mather and Jinks, 1971) em seis diferentes cruzamentos em milho encontraram que os efeitos aditivos explicaram a maior parte da variância genética total, apesar dos efeitos de dominância terem sido significativos (Magnavaca et al., 1987b). Lima et al., 1992 também encontraram herança essencialmente aditiva para crescimento de raiz seminal em milho em solução com alumínio. Estes dados concordam com a alta correlação encontrada entre CRRS de linhagens per se e sua capacidade geral de combinação para CRRS em solução nutritiva ( $r=0.79$   $p=0.016$ ), indicando que a avaliação per se de linhagens em solução nutritiva pode vir a ser um bom indicador de seu comportamento em cruzamentos (Parentoni et al., 1986). Um refinamento da técnica de solução nutritiva tem sido sugerido por Alves et al., 1999 (dados não publicados). Os autores verificaram que medidas do crescimento radicular tomadas aos 2 e aos 7 dias em solução nutritiva com 6 ppm de alumínio permitiram uma mais alta discriminação entre os genótipos, já que aqueles altamente suscetíveis praticamente cessam seu crescimento radicular após dois dias de exposição ao alumínio en-

quanto genótipos tolerantes continuam se desenvolvendo. Estudos recentes realizados em conjunto com o laboratório do Dr. Leon Cochian na Universidade de Cornell (Alves et. al., 1999 – dados não publicados), utilizando linhagens recombinantes de milho para tolerância a alumínio do programa da EMBRAPA, confirmaram que a máxima acumulação de alumínio nestes genótipos ocorre no ápice radicular. Foi também verificado que, diferenças entre genótipos sensíveis e tolerantes quanto à sua taxa de acúmulo de alumínio no ápice radicular, somente são observadas entre 8 e 24 horas de exposição ao alumínio. Estes resultados indicam que, ao contrário do que ocorre em trigo, onde os efeitos de inibição do crescimento radicular após exposição ao alumínio são quase imediatos, o milho necessita de um período de adaptação (entre 8 e 24 horas) para expressar sua tolerância. Isto explica a utilização de técnicas de screening por um período mais longo em milho (5 a 7 dias sob exposição ao alumínio), enquanto solução mínima de cloreto de cálcio e tempo curto de exposição ao alumínio (1 a 2 dias) tem sido utilizados para screening em trigo. O uso de coloração com hematoxilina em ápices de raízes de seedlings de milho expostos a solução de alumínio, como índice fenotípico de tolerância a este metal foi avaliado como alternativa à determinação de CRRS em solução nutritiva (Cançado et. al., 1999). Este índice mostrou alta capacidade discriminativa e ainda boa correlação com CRRS.

Magnavaca et. al., 1987a,c compararam a tolerância a toxidez de alumínio em solução nutritiva entre genótipos (variedades e linhagens) tropicais e temperados de milho. Os autores verificaram que o CRRS da variedade CMS 30-Ciclo 0 foi respectivamente 93%, 86% e 74% superior ao observado nas seguintes variedades temperadas: Corn Belt x Caribe; Hays Golden e no sintético Nebraska B. Synthetic. Foi observado ainda que a introgressão de germoplasma brasileiro em material do Corn Belt, aumentou o nível de tolerância a toxidez de alumínio neste último. Os mesmos autores verificaram ainda que a média de CRRS de 3 linhagens brasileiras foi de 2,07 enquanto para as 3 linhagens americanas este valor foi de 1,46 (a linhagem B73 apresentou um CRRS de 1,32 enquanto para Mo17 este valor foi de 1,64). Outro dado relevante deste estudo foi comparar as médias e variâncias para CRRS em solução nutritiva com alumínio, na variedade CMS 30 – Ciclo 0 e na mesma variedade após 4 ciclos de seleção recorrente em solo ácido, para peso de espigas. Verificou-se que após 4 ciclos de seleção em solo ácido, a média e a variância do CRRS diminuíram em relação ao Ciclo 0 (redução de 7,2% na média e 31,3% na variância, do Ciclo 0 para o Ciclo 4). Utilizando dados individuais de CRRS de 126 plantas de cada um dos dois ciclos, os autores construíram um histograma para os mesmos, utilizando 9 classes de tolerância. Foi verificado que a redução observada na média e na variância do parâmetro CRRS após 4 ciclos de seleção recorrente para peso de espigas em solos ácidos na variedade CMS 30, foi devido à perda de indivíduos nas classes mais tolerantes a alumínio em solução nutritiva do Ciclo 0 para o Ciclo 4. Este seria um primeiro indicador de que tolerância extrema a toxidez de alumínio não necessariamente se traduz em uma alta adaptação a solos ácidos.

Um segundo ensaio verificando os efeitos de seleção para produção de grãos em solo com alta saturação de alumínio sobre a tolerância a alumínio em solução nutritiva, foi conduzido por Souza, 1997. Este autor avaliou o CRRS em solução nutritiva com 6 ppm de alumínio para 6 ciclos de seleção recorrente em solo ácido na variedade CMS 04C avaliados per se e cruzados com dois testadores. Ao contrário do observado anteriormente por Magnavaca et. al., 1987c na variedade CMS 30, Souza, 1997 verificou que os 6 ciclos de seleção recorrente em solo ácido na variedade CMS 04C

augmentaram a tolerância a alumínio em solução nutritiva desta variedade em 44,8% do ciclo 0 para o ciclo 6 (ganho de 7,4% por ciclo) quando avaliados per se e ainda que ocorreu um aumento na capacidade combinatória para CRRS de 39% e 42% do ciclo 0 para o ciclo 6 quando cruzados com 2 testadores.

O dialelo completo (F1's e parentais) entre as 5 variedades selecionadas para solo ácido (CMS 04C, CMS 14C, CMS 13, CMS30, CMS 36) foi também avaliado em solução nutritiva (Lopes et. al., 1987). As variedades CMS 36 e CMS 30 mostraram os mais altos efeitos de capacidade geral de combinação para CRRS, indicando serem boas fontes de genes para tolerância a toxidez de alumínio. A variedade CMS 36 tem sido utilizada a nível mundial como fonte de tolerância a toxidez de alumínio em milho. A variedade CMS 14 C, apesar de vir sendo bastante utilizada como fonte de linhagens dentro do programa de adaptação a solos ácidos da EMBRAPA, mostrou possuir uma baixa frequência de genes para tolerância a toxidez de alumínio no ensaio em solução nutritiva. Pode-se especular que o bom comportamento em solos ácidos de híbridos obtidos a partir de linhagens extraídas desta variedade pode ser devido a existência nestes materiais de outras vantagens adaptativas em ambientes ácidos, como por exemplo, eficiência na utilização de fósforo (Parentoni et. al, 1995).

## Híbridos para solos ácidos

Dentro do programa de desenvolvimento de híbridos para solos ácidos, inicialmente um grupo de mais de 2000 linhagens S2, derivadas de 6200 plantas S1 foram avaliadas per se em solos ácidos e férteis (Bahia Filho et. al., 1997). Um grupo de 429 S2 foram selecionadas e cruzadas com dois híbridos simples testadores. As melhores linhagens deste top-cross foram utilizadas para produção de híbridos duplos. Destes duplos, um grupo de 20 híbridos foi reavaliado em solos ácidos e férteis e em solução nutritiva (Magnavaca et. al., 1988). Da mesma maneira como observado anteriormente para um grupo de linhagens avaliados em ambientes com diferentes níveis de acidez (Naspolini et. al., 1981), no trabalho de Magnavaca et. al., 1988, foram observados 3 tipos básicos de resposta dentre os híbridos avaliados: a) Grupo 1, representado pelos HD 7 e HD 9 que mostraram altos valores de CRRS em solução nutritiva (130 e 107%), baixas médias de peso de espigas em 5 ambientes: 2 solos férteis e 3 solos ácidos (6616 e 7081 kg espigas/ha), com um coeficiente de regressão (b) menor que 1, indicando serem estes genótipos mais adaptados aos ambientes mais pobres (ácidos); b) Grupo 2, representado pelo híbrido comercial Pioneer 6875 com baixo valor de CRRS em solução nutritiva (16%, mostrando sua alta suscetibilidade a toxidez de alumínio), associado a uma alta média de produção nos 5 ambientes (8050 kg espigas/ha) e com um coeficiente de regressão de 1,25 indicando que esta alta média se deveu a seu melhor desempenho nos ambientes de alta fertilidade; c) Grupo 3, representado pelos híbridos HD 14 e HD 15, com médios níveis de tolerância a alumínio em solução nutritiva (CRRS de 92 e 76%) associado a altas médias de produção (8712 e 8870 kg espigas/ha) e coeficientes de regressão próximos de 1, indicando sua adaptação tanto aos ambientes ácidos quanto aos ambientes férteis. O híbrido duplo HD 14 foi lançado pela EMBRAPA em 1986 com o nome de BR 201. Dentro desta linha de híbridos adaptados a solos ácidos e férteis e com média a alta tolerância a alumínio, foram posteriormente lançados os híbridos BR205, BR206, BR3123, BRS2110 e BRS3060.

A escolha adequada de testadores e a determinação de grupos heteróticos são pontos chaves em um programa de melhoramento tanto em solos férteis quanto em solos ácidos. Magnavaca, 1990 avaliou híbridos duplos obtidos a partir do cruzamento de três híbridos simples testadores representando tres grupos heteróticos, cruzados com 18 híbridos simples. Estes 18 híbridos simples foram obtidos a partir de cruzamentos pareados dentro de um grupo de 8 linhagens Tuxpeno ( não se conseguiu obter os 28 cruzamentos possíveis). O testador 1 foi o HS BR 201-M (obtido de linhagens extraídas das variedades CMS14C e CMS12). O testador 2 era formado por 2 linhagens obtidas da CMS 14C e o testador 3 por 2 linhagens do BR 105. As médias e amplitudes de variação para a variável peso de espiga obtida em 4 solos férteis em diferentes regiões do país para cada um dos três grupos de 18 duplos de acordo com o testador utilizado foram: T1 (CMS12 x CMS 14) – 7525 kg/ha (6715 – 8358); T2 (CMS 14C x CMS 14 C) – 7789 kg/ha (6862 – 8617); T3 (BR105 x BR 105) – 6850 kg/ha (6355 – 7298). Os dados evidenciam o potencial heterótico entre Tuxpeno e CMS 14 C na produção de híbridos. Um dialelo obtido entre 28 variedades do programa de melhoramento da EMBRAPA-Milho e Sorgo incluindo variedades dos programas de solos férteis e solos ácidos, foi avaliado em 10 ambientes (Santos et. al., 1994; Pacheco, 1997). Com base nos dados deste dialelo foi proposta uma classificação das 28 variedades em 4 grupos heteróticos (Parentoni et al., 1999). Os valores de F1 e capacidade específica de combinação para os 2 principais grupos heteróticos explorados atualmente no programa de melhoramento (BR 106 x CMS14 C e BR 106 x BR 105) foram respectivamente : 8515 kg/ha e 370 kg/ha ; 8532 kg/ha e 34 kg/ha. Um representante de cruzamento explorando a heterose do BR105 x BR106 é o híbrido BR 3123. A heterose BR106 x CMS 14C tem sido explorada em híbridos como BR 201 e BRS 3060.

### **Adaptação de milho a solos ácidos: tolerância a estresses múltiplos**

Não é nova a idéia de que a adaptação de milho a condição de solos ácidos é de natureza complexa, envolvendo associações entre características intrínsecas de cada genótipo com propriedades dos solos quer sejam de natureza física (textura e composição da fração argila) quer sejam de natureza química (toxidez de alumínio e capacidade de utilização de nutrientes) e ainda sob grande influência de condições climáticas que alteram o regime hídrico no perfil do solo. Durante as décadas de 70 e 80, a grande prioridade do programa foi gerar germoplasma adaptado a solos ácidos, baseado principalmente no binômio tolerância a alumínio e produção em solos ácidos e férteis. A partir da década de 90 aos objetivos anteriores, foram adicionados os seguintes: a) caracterização do germoplasma disponível para eficiência na utilização de fósforo e nitrogênio; b) obtenção de genótipos contrastantes e de grupos de dialelos entre linhagens com diferentes níveis de adaptação a solos ácidos para utilização em estudos em outras áreas de pesquisa; c) estudo de interações entre estes estresses (tolerância a alumínio e eficiência na utilização de P e N) na adaptação a solos ácidos (este último item está em fase inicial e não será discutido abaixo). Esta abordagem aumenta a complexidade do problema, mas fornece dados importantes a serem utilizados por outras disciplinas como nutrição mineral de plantas, fisiologia, biologia molecular e ainda em estudos de elucidação de mecanismos de adaptação de milho a solos ácidos.

Uma retrospectiva de alguns trabalhos realizados nesta área mostra que ainda na década de 60 já havia sido observada a existência de inter-relações entre a absorção de nutrientes, principalmen-



te fósforo e nitrogênio, ocorrendo em solos sob cerrado corrigido cultivado com milho (Santos, H.L. et al., 1975). Os autores verificaram que os níveis de N aplicados em um Latossolo Roxo Eutrófico em Patos de Minas, afetaram a absorção de P no milho. A interação nível de fósforo x déficit hídrico sobre a produção de milho em um LE fase cerrado foram também relatados por Vasconcelos et. al., 1986. Em experimento utilizando diversos níveis e diferentes fontes de fosfato por um período de 5 anos, os autores verificaram que em anos de maior déficit hídrico foram necessárias maiores quantidades de fertilizante fosfatado para obter-se máximo rendimento em produtividade. Em uma área de solo corrigido em Sete Lagoas, Vasconcelos et. al., 1998 estudaram o acúmulo de P e N em 3 genótipos de milho (BR 106, AG 519 e BR201). Verificou-se que a eficiência de conversão dos nutrientes absorvidos em grãos (kg grão/kg nutriente) neste solo fértil não diferiu entre os 3 genótipos, sendo que em média foram produzidos 159 kg grãos/kg P absorvido e 170 kg grãos/kg de N. Foi observado que em média, 84,3% do P absorvido foi exportado sob a forma de grãos. O efeito do alumínio na absorção de amônio e nitrato em genótipos de milho contrastantes para tolerância a alumínio foi estudado por Alves et. al., 1999a. Híbridos tolerantes a alumínio (HD 91102 e HS 13 x 1143) e híbridos sensíveis a alumínio (HD 9148, HS 11x36, HS 36 x 723) foram crescidos em solução nutritiva completa e após 6 dias, metade das bandeijas receberam 166 mmol/L Al e a outra metade não recebeu Al. Sete dias após a aplicação dos tratamentos, foi feita a cinética de absorção de nitrato e amônio nos genótipos estudados. O alumínio aumentou a relação entre  $V_{max}$  de amônio /  $V_{max}$  de nitrato em todos os genótipos estudados, indicando que a absorção preferencial de nitrato em relação a amônio não diferiu entre genótipos tolerantes e sensíveis ao alumínio. Foi verificada uma tendência nos genótipos tolerantes de menores valores de  $V_{max}$  de amônio /  $V_{max}$  de nitrato, indicando que em genótipos tolerantes ocorre um menor efeito do alumínio no sistema de absorção de nitrato. Os efeitos do sistema de preparo do solo (plantio direto, arado de disco e arado de aiveca) e da aplicação de diferentes doses de nitrogênio (0, 60, 120 e 240 kg N/ha) na produção de grãos e no acúmulo de N em milho irrigado foram estudados por Fernandes, 1998. Verificou-se que as maiores produções de grãos e o maior acúmulo de N na parte aérea foram obtidos sob plantio direto.

Estudos conduzidos na década de 90 permitiram identificar de forma mais coerente algumas inter-relações existentes no ecossistema de cerrado e que afetam a nutrição mineral de fósforo e nitrogênio nestas condições. Um sumário dos principais pontos de alguns destes estudos são: a) os solos sob cerrado tem baixa capacidade de retenção de água e a distribuição irregular de chuvas (veranicos) leva a um cenário de repetidos ciclos de umedecimento e secagem durante a estação de crescimento da cultura; b) os latossolos desta área tem alta capacidade de fixação de fósforo sendo que o solo é grande competidor da planta pelo fósforo disponível; c) pequenas reduções no conteúdo de água nestes solos (muito antes de se atingir o ponto de murcha) reduzem drasticamente a disponibilidade de fósforo para a cultura, e este fenômeno torna-se mais importante com o aumento do teor de argila do solo (Novais et. al., 1999); d) ao contrário do observado em solos temperados ou em solos de boa fertilidade natural, a forma predominante de N em LE sob cerrado é amônio em vez de nitrato (Coelho, 1995); e) plantas sob estresse de fósforo tem menor capacidade de absorver água (Novais et. al., 1999), afetando a absorção de nutrientes via fluxo de massa; f) a absorção de nitrogênio em milho é drasticamente reduzida sob estresse de fósforo sendo este efeito mais pronunciado sobre a absorção de nitrato do que sobre a absorção de amônio (Magalhães et al., 1996).

Estes fatos apontam no sentido de que restrições na absorção de fósforo provocam um efeito cascata que pode interferir profundamente na adaptação de plantas a solos ácidos. Abaixo são relatados dados de alguns estudos em eficiência na utilização de fósforo e nitrogênio em milho obtidos pelo programa.

### **Eficiência na utilização de fósforo em genótipos de milho.**

Da mesma maneira como feito para alumínio, no caso do fósforo tentou-se ajustar uma metodologia de screening utilizando seedlings em solução nutritiva. Um experimento utilizando 12 híbridos de milho em solução de Steinberg sob 4 níveis de fósforo foi conduzido por Alves, 1988. Verificou-se que os dados obtidos em solução nutritiva utilizando seedlings são altamente influenciados pelo teor de P na semente e que o problema não é eliminado quando se destaca a semente remanescente após a germinação da planta. A inexistência de uma metodologia simples e rápida de screening para eficiência na utilização de fósforo, levou ao desenvolvimento de uma técnica de avaliação de cultivares em ambientes com e sem estresse de fósforo com o objetivo de se identificar genótipos contrastantes quanto a sua eficiência na utilização deste nutriente. Baseado no conceito de nível crítico de fósforo em latossolos, obtido a partir da quantidade de P recuperada pelo extrator e a quantidade de P adicionada ao solo, foram identificados níveis de 5 e 10 ppm de P, representando respectivamente 50% e 100 % do nível crítico para o Latossolo Vermelho Escuro (LE) da região de Sete Lagoas-MG (Bahia Filho et. al., 1997). Uma área de LE fase cerrado foi então corrigida para pH próximo de 5 sendo que metade da área teve seu nível de fósforo corrigido para 5 ppm e a outra metade para 10 ppm. Um primeiro grupo de 100 híbridos simples formado a partir de linhagens provenientes do programa de adaptação a solos ácidos e também de linhagens sem seleção prévia para condição de acidez foi avaliado nestas áreas no verão 94/95 (Parentoni et. al., 1996; Parentoni et al., 1999 no prelo). O critério de seleção utilizado no caso de avaliação per se de genótipos foi produção sob estresse de fósforo (5 ppm P), dividido pela produção no nível sem estresse de fósforo (10 ppm de P). Buscou-se também identificar genótipos eficientes e responsivos ao fósforo. Os experimentos foram irrigados, buscando-se reduzir a interação água x fósforo. Foi verificada uma redução média de peso de espigas entre níveis de P de 16,7%, com uma amplitude de variação entre níveis para os genótipos avaliados de menos de 1% até 40% de redução. Outras alterações fenotípicas verificadas no ambiente com estresse de fósforo foram: aumento no ciclo da planta (florescimento e umidade na colheita) respectivamente de 3 dias e 2,8% de umidade; redução na altura de planta próximo de 12% e uma redução no número de espigas/planta. Em experimentos mais recentes, os valores de fósforo nas duas áreas vem sendo mantidos em 2 ppm e 15 ppm respectivamente, o que tem levado a uma redução média na produção entre níveis de cerca de 30%. Este decréscimo médio de produção devido ao estresse de P tem sido adequado para discriminar genótipos contrastantes quanto a sua eficiência na utilização deste nutriente. Vários dos híbridos simples avaliados sob 2 níveis de fósforo em 94/95 tinham linhagens comuns em seu pedigree. Baseado na produção destes híbridos nos dois níveis de fósforo, foi possível determinar híbridos simples contrastantes quanto a sua eficiência e responsividade a fósforo. Buscou-se então identificar linhagens que apareciam com maior frequência em cada um destes grupos contrastantes. Baseado nestes dados, um grupo de 8 linhagens

foi selecionado e foram obtidos os 28 cruzamentos possíveis entre elas. Este dialelo foi avaliado em solo ácido e fértil e em solução nutritiva com alumínio (Parentoni et al., 1996) e também sob 2 níveis de fósforo (Parentoni et. al., 1998). O processo de avaliação de um grande grupo de híbridos simples, identificação de linhagens mais frequentes entre os híbridos contrastantes quanto à sua eficiência a fósforo, obtenção de dialelo entre estas linhagens e avaliação deste dialelo em solos ácidos e férteis e sob 2 níveis de fósforo, já foi repetido 3 vezes até o momento (Parentoni et. al., 1999, no prelo). Foram avaliados 3 dialelos o primeiro entre 8 linhagens, o segundo entre 9 linhagens e o terceiro entre 13 linhagens. Alguns pontos verificados nestes estudos foram: a) os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) foram significativos nos 3 dialelos, entretanto os efeitos aditivos (fg) para peso de espigas sob estresse de fósforo são superiores aos efeitos não aditivos (fs); b) a interação CGC x ambiente (com e sem restrição de fósforo) foi significativa nos 3 dialelos, enquanto a interação CEC x ambiente (com e sem restrição de fósforo) foi não significativa nos 3 dialelos. Mudanças na capacidade combinatória de uma linhagem entre o ambiente sem estresse de fósforo para o ambiente com estresse de fósforo tem sido utilizadas para identificar linhagens contrastantes quanto a sua capacidade de produzir híbridos com maior ou menor grau de adaptação ao estresse de fósforo. Foram identificadas linhagens capazes de produzir híbridos com alta eficiência na utilização de fósforo e linhagens que só produzem híbridos superiores em ambiente sem estresse de fósforo. Estudos comparando a eficiência a fósforo em linhagens avaliadas per se com a eficiência das mesmas em cruzamento (mudanças na capacidade combinatória entre níveis de estresse) estão em andamento. Dados de avaliação do teor e da partição (palhada x grãos) do P absorvido entre os 78 HS obtidos do dialelo de 13 linhagens estão sendo processados. A translocação de P da raiz para parte aérea foi avaliada em 3 híbridos de milho utilizando solução nutritiva com 2 concentrações de P: 0,02 mM e 0,10mM (Alves, 1994), O peso e conteúdo do exudato do xilema e a quantidade de P translocado da raiz para parte aérea foram avaliados. O stress de P reduziu o peso e a concentração de P no exudato do xilema, reduzindo a translocação de P da raiz para a parte aérea nos 3 híbridos. Quando comparado aos dois outros híbridos avaliados, o híbrido BR 201 mostrou mais alta concentração de P no exudato do xilema na solução com baixo nível de P. Dentre os genótipos avaliados até o momento a nível de solo, para eficiência na utilização de fósforo, o híbrido triplo BRS 3060 mostrou alta eficiência na utilização deste nutriente (Parentoni et. al., 1998). Estudos de alteração de morfologia do sistema radicular sob estresse de fósforo em 8 genótipos de milho (4 eficientes e 4 ineficientes a fósforo) dentro do programa da EMBRAPA foram conduzidos por Alves et. al., 1999. Os genótipos foram colocados em solução nutritiva de Steimberg por sete dias, após períodos prévios de omissão de fósforo de 3, 6 e 9 dias. O comprimento total de raízes foi determinado nos 8 híbridos. Dentre os genótipos ineficientes não foi verificada nenhuma alteração significativa a nível de sistema radicular devido ao estresse de P. Já os híbridos eficientes a fósforo aumentaram o peso e comprimento do sistema radicular após o estresse de fósforo. Os aumentos de comprimento do sistema radicular foram de 55% para o híbridos simples (HS 20 x 723), 61% para o híbrido duplo BR 201 e 112% para o híbrido triplo BRS 3060. O híbrido BRS 3060 foi lançado pela EMBRAPA em 1998.

Um ponto observado nos três dialelos mencionados acima foi que linhagens como as L11, L 36, L723 e L161-1, com tolerância média a baixa a toxidez de alumínio em solução nutritiva, mas

com alta capacidade combinatória em solo sob estresse de fósforo, também produziram híbridos superiores em solo com média saturação de alumínio (Parentoni et. al., 1998, Parentoni et. al. 1999 no prelo). Estes dados sugem que neste Latossolo sob níveis médios de acidez (36% de saturação de alumínio), eficiência na utilização de P pode vir a ser mais importante que tolerância a toxidez de alumínio. Um experimento que guarda relação com este tema foi conduzido por Baligar et.al., 1997. Os autores avaliaram em 22 genótipos de milho, a interação entre 3 níveis de saturação de alumínio em um LE de Sete Lagoas com a taxa de eficiência no uso de fósforo ou NER-P (expressa em mg peso seco de parte aérea / mg de P na parte aérea). Os valores médios de NRE-P para os 22 genótipos nos níveis de 2%, 41% e 64% de saturação de alumínio no solo foram respectivamente de 368, 384 e 256 mg MSPA/mg P na parte aérea com um LSD 5% de 52. Estes dados mostram que no LE de Sete Lagoas, níveis de até 41% de saturação de alumínio não alteraram a eficiência na utilização de P em relação aquela obtida no LE corrigido (2% saturação Al). Este fato concorda com a hipótese acima de que genótipos de milho com baixa tolerância a alumínio em solução nutritiva e eficientes na utilização de P obtida quando avaliados sob 2 níveis de P em LE corrigido (0% Al), tem mostrado bom desempenho em áreas com níveis de 36% de saturação de alumínio neste mesmo LE, indicando que seu bom desempenho em solo ácido pode estar ligado a sua maior eficiência na utilização de fósforo.

Screening para identificação de novas fontes de eficiência na utilização de fósforo em germoplasma não melhorado vem também sendo conduzidos. Um grupo de 269 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Milho foram avaliados em solo com baixa disponibilidade de fósforo em Janaúba-MG e Lagarto SE. Foram utilizados como testemunha as variedades BR 106 e BR 136. Estas variedades apresentaram produtividade média de espigas de 2116 e 2819 kg/ha respectivamente na média dos dois ambientes com estresse de fósforo, enquanto entre os acessos do Banco de Germoplasma testados, a amplitude de variação para esta característica foi de 853 kg/ha a 6278 kg/ha. Com base nestes dados foram selecionados dois acessos para Sergipe e dois acessos para Minas Gerais. Estes genótipos vem sendo submetidos a seleção recorrente em condição de baixa disponibilidade de fósforo (Santos, M.X & Carvalho, H.W.L., dados não publicados).

## **Eficiência na utilização de nitrogênio em genótipos de milho**

Como parte de avaliação de genótipos para estresses múltiplos, trabalhos de caracterização e seleção de materiais para adaptação a estresse de nitrogênio tem sido realizados. Duas estratégias tem sido seguidas nestes estudos: a primeira busca avaliar a variabilidade genética existente entre germoplasma não melhorado, identificar-se aqueles com maior potencial para cultivo em solo sob baixo nível de nitrogênio e praticar-se seleção recorrente nestes materiais em ambiente com estresse de N. A segunda estratégia consiste em utilizar-se genótipos selecionados dentro do programa de solos ácidos para estudar a eficiência dos mesmos na utilização de N.

A seguir serão relatados alguns resultados obtidos com a primeira estratégia. A definição de eficiência na utilização de nitrogênio medida como kg de grãos/kg de N aplicado tem sido utilizada para caracterizar a eficiência dos genótipos estudados. A partir de um grupo de 18 populações de milho avaliados em solo com baixa capacidade de suprimento de N no início dos anos 80, foram selecionadas 4 populações para serem submetidas a seleção recorrente em solo com baixo N: Tuxpeno

1, Maya XIII, Centralmex e CMS 01. (Mariel et. al., 1990). Coincidentemente, 3 destas 4 variedades são da raça Tuxpeno (variedades 1 a 3), sugerindo que genes para eficiência na utilização de N podem ser mais frequentes nesta raça de milho. As 4 populações acima foram submetidas a quatro ciclos de seleção de irmãos germanos sob baixo nível de N. O ganho genético ao longo dos 4 ciclos de seleção para as 4 populações estudadas foi avaliado sob níveis de 10 e 130 kg N/ha. Somente foram verificados ganhos na seleção no ambiente com baixo N, sendo este ganho variável com a população (Mariel et. al., 1990). Uma nova avaliação sob 2 níveis de N (0 e 90 kg/ha) foi feita em 30 genótipos de origens diversas incluindo materiais primitivos indígenas do banco ativo de germoplasma. As populações Chandele e Cogollero mostraram-se eficientes na utilização de N (Mariel et. al., 1990 a). Um novo screening em condição de baixa disponibilidade de N no solo foi feito entre um grupo de variedades melhoradas e alguns híbridos (Marriell et. al., 1991). Encontrou-se alta variabilidade genética para eficiência no uso de N entre as populações avaliadas, com valores para produção variando entre 2 a 4 t/ha de grãos. As populações Sintético Elite, CMS 30, CMS 50, CMS 39 e o híbrido simples BR 201-Macho comportaram-se como eficiente e as populações CMS 04, CMS 51, CMS 33, e CMS13 como ineficientes para uso de N sob estresse de nitrogênio. O Sintético Elite foi formado em 1987 a partir das 10 melhores linhagens do programa de melhoramento disponíveis naquela época (Santos et. al., 1998). Dentre estas 10 linhagens estavam as 4 linhagens utilizadas no híbrido duplo BR 201. Este sintético passou por 3 recombinações, e a partir desta última foram obtidas 400 progênies S1 que foram avaliadas em solo com alto e baixo N. As 40 melhores S1's passaram por duas recombinações em solo fértil e uma terceira em solo com baixa disponibilidade de N e alta densidade de plantas (100.000 plantas/ha). Desta última recombinação foram selecionadas 144 progênies de meios irmãos (Santos et. al., 1996). Estimativas de parâmetros genéticos para esta população quando avaliada em ambiente com e sem estresse de N foram obtidas a partir destas 144 progênies de meios irmãos (Santos et. al., 1998). As estimativa da variância genética aditiva e do progresso genético esperado no ambiente com estresse de N foram de 567,5 g/pl<sup>2</sup> e 12,78 g/pl respectivamente, correspondendo a 46,62% e 66 % dos valores obtidos na ausência de estresse de N. As populações Sintético Elite, CMS 36, CMS22 e CMS 28 estão sendo utilizadas como fontes de linhagens para um programa de obtenção de híbridos eficientes na utilização de nitrogênio. Existem atualmente linhagens com nível de endogamia variando de S3 a S5 e produtividade sob estresse de N (abaixo de 15 ppm de N disponível), variando entre 200 e 3000 kg/ha (Pacheco et. al., 1992; Marriell et. al., 1997). Um outro grupo de germoplasma de diferentes origens foi selecionado para eficiência de N por Machado & Paterniani, 1989. A partir da recombinação dos genótipos selecionados, foram obtidas duas populações denominadas Nitrodente e Nitroflint. Estas variedades foram submetidas a 5 ciclos de seleção em solo com baixa disponibilidade de N (Machado et. al., 1996). A variedade Nitroflint foi lançada pela EMBRAPA em 1998 com o nome de BRS 157-Sol da Manhã.

Dentro da segunda estratégia discutida acima, a eficiência a nitrogênio em híbridos desenvolvidos dentro do programa de solos ácidos vem sendo avaliada. Um primeiro grupo de 45 híbridos F1's obtidos de um dialelo entre 10 linhagens foi avaliado sob níveis contrastantes de N (30 kg N/ha e 130 kg N/ha) em um LE fase cerrado corrigido no verão 94/95 (Parentoni et. al, 1996). Destes 45 F1's, 36 deles eram comuns ao dialelo de 9 linhagens avaliado em solo ácido, em solo sob 2 níveis de P e em solução nutritiva (para estas quatro últimas avaliações não foi possível obter os cruzamentos com uma

das linhagens – L 40, devido a baixa produção de pólen da mesma, avaliando-se então o dialelo entre 9 linhagens). Os seguintes dados foram obtidos na avaliação do dialelo de 10 linhagens sob 2 níveis de N: a) verificou-se uma redução média de peso de espigas entre níveis de N de 19%, com uma amplitude de 38% a 0 % de redução dependendo do genótipo; b) foram significativos ( $p < 0.01$ ) os efeitos de níveis de N, genótipos, CGC, CEC, interação Genótipos x níveis de N, e CGC x níveis de N. A interação CEC x níveis de N foi não significativa. Os efeitos de CGC para peso de espigas foram superiores aos de CEC nos dois níveis de N. Baseado nos dados de CGC nos ambientes sem e com estresse de N, foi possível identificar três tipos principais de resposta entre as linhagens estudadas: a) as linhagens 11 e 64 mostraram alta capacidade combinatória em ambiente com alto nível de N, mas baixa CGC sob estresse de N, indicando que híbridos produzidos com estas linhagens tenderão a ser mais exigentes em fertilização nitrogenada para alcançarem seu máximo potencial de produção; b) a linhagem 724 mostrou CGC muito maior sob baixo nível de nitrogênio do que sob alto N, indicando que híbridos produzidos com esta linhagem, quando plantados em ambientes com menor disponibilidade de nitrogênio tenderão a atingir produções maiores que os híbridos produzidos com as outras linhagens testadas; c) a linhagem 36 mostrou o tipo ideal de resposta ou seja, mostrou alta CGC nos dois níveis de N. Esta linhagem mostrou este mesmo tipo de resposta quando avaliada em dialelo sob 2 níveis de P e em dialelo conduzido em solos ácidos e férteis, indicando seu potencial de utilização dentro do programa de solos ácidos. Um ponto a mencionar é que apesar de excelente progenitor em solos ácidos, ou sob estresse de P e N, a linhagem L 36 apresenta baixa tolerância a alumínio em solução nutritiva (Parentoni et. al., 1995). Novos estudos estão em andamento visando caracterizar o germoplasma de solo ácido quanto a seu comportamento sob estresse de nitrogênio.

### **Utilização do germoplasma de milho caracterizado para tolerância a alumínio, eficiência na utilização de fósforo e eficiência no uso de nitrogênio em estudos básicos e projetos conjuntos com outras instituições.**

Além de uso direto pelos agricultores, os genótipos contrastantes quanto a sua eficiência a fósforo identificados até o momento vem sendo utilizado em estudos de mecanismos envolvidos na eficiência do uso de fósforo (Alves et. al., 1999). Estes mesmos genótipos deverão ser utilizados em trabalhos conjuntos com outras instituições nas áreas de mecanismos moleculares da aquisição de fosfato (Raghothama, 1999), mecanismos fisiológicos da eficiência na utilização de fósforo (Kochian, 1999) e identificação e clonagem de genes de eficiência a fósforo utilizando ESTs (expressed sequence tag) em projeto conjunto a ser iniciado com a UNICAMP (Menossi et. al., 1999). Um dos resultados esperados destes estudos é o desenvolvimento de novas técnicas de screening capazes de discriminar de forma rápida e simples a eficiência a fósforo em genótipos de milho. Até o momento, o parâmetro que tem se mostrado mais promissor como critério de seleção para o desenvolvimento de novas metodologias de screening é a avaliação de alterações na morfologia do sistema radicular sob estresse de fósforo (Alves et. al., 1999).

Genótipos obtidos dentro do programa de solos ácidos da EMBRAPA tem sido avaliados em solos ácidos de Guadalupe na América Central e Cameroon na África, como parte de atividades conjuntas de projeto de pesquisa financiado pela Comunidade Econômica Européia envolvendo a Universidade de Hanover, Universidade de Barcelona, o CIRAD e INRA na França, a EMBRAPA-Milho e Sorgo e os programas nacionais da Colômbia, Cameroon e Guadalupe. Genótipos brasileiros como o HD 9176, HD 91102, BRS 2110 (HD9481) e HS 64 x 1143 mostraram ótimo desempenho quando avaliados em solos ácidos de Cameroon e Guadalupe (Horst, W. et al., 1999), indicando a possibilidade de utilização do germoplasma brasileiro de milho em outros países com problemas de solos ácidos, principalmente na África.

Trabalhos na área de mapeamento de genes para tolerância a alumínio em milho vem sendo conduzidos dentro do programa de pesquisa da EMBRAPA (Torres et. al, 1995; Torres et, al, 1997; Martins et. al., 1999). Até o momento foram identificados 5 marcadores de RFLP nos cromossomas 5, 6, 8 e 9 que explicaram 34,7% da variância fenotípica da característica. Atualmente estão sendo feitos trabalhos utilizando-se microsátélites para saturar estas regiões visando aumentar a proporção da variância fenotípica para CRRS explicada por marcadores. Uma possibilidade atrativa é utilizar-se dados de mapeamento com marcadores moleculares para identificar-se genes candidatos para a característica estudada. Utilizando-se os dados de mapeamento obtidos por Martins et. al., 1999 e comparando-se o mapa de RFLP com o mapa de genes funcionais existente (Maize Genetic Newsletter), 3 dos 5 marcadores ligados a tolerância a alumínio previamente identificados, localizaram-se próximos de genes ligados ao metabolismo de malato (MDH5, MDH2 e MDH1), indicando que produção de ácido orgânico pode vir a ser um dos mecanismo que explique a tolerância a alumínio nos genótipos estudados.

Isoformas aniônicas da enzima peroxidase tem sido associadas com lignificação de parede celular (Lampert, 1986) e recentemente Ezaki et al., 1996 mostraram que isoenzimas de peroxidase estão envolvidas com mecanismos de detoxificação de alumínio em tabaco. Variação no padrão protéico em SDS page entre genótipos de milho contrastantes quanto a sua tolerância a alumínio foram observados por Cançado et. al., 1997. Dentro desta mesma linha, Souza et al., 1999 avaliaram as alterações no padrão protéico em SDS-page e a variação na atividade da enzima peroxidase em ápices (primeiros 2 mm) de raízes de milho em uma linhagem tolerante (Cateto AI 237/67) e uma linhagem suscetível (L36) expostas ou não a níveis tóxicos de alumínio em solução nutritiva. Foi verificada alteração no padrão protéico em SDS-page das linhagens quando submetidas a presença de alumínio. Estudo da atividade de peroxidase em segmentos de 2mm obtidos ao longo dos primeiros 20 mm do ápice radicular das 2 linhagens contrastantes na presença e na ausência de estresse de alumínio mostraram que a linhagem tolerante não alterou sua atividade de peroxidase quando exposta a alumínio, enquanto na linhagem suscetível ocorreu uma redução na atividade de peroxidase quando exposta ao alumínio e esta redução somente foi detectada nos segmentos de 1 a 5 mm do ápice radicular.

O efeito do alumínio sobre as enzimas de metabolismo de nitrogênio e fósforo também tem sido investigado. Genótipos de milho sensíveis (HS 11x723; HD 9148; HS 36x723) e tolerantes a alumínio (HS 13x1143; HD 91102; HD 9176) foram cultivados em solução nutritiva completa, pH

ajustado para 4,6 em presença e ausência de  $222 \mu\text{M}$  de  $\text{Al}^{3+}$  (Purcino et. al., 1999). Quando prevista, a adição do nível tóxico de  $\text{Al}^{3+}$  à solução nutritiva foi realizada 10 dias após a germinação (DAG) das sementes. A atividades das enzimas de assimilação de nitrogênio, glutamina sintetase (GS), glutamato sintase (GOGAT), glutamato desidrogenase (GDH) e da fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC) foi determinada aos 1, 3, 6 e 9 DAG. Observou-se que o  $\text{Al}^{3+}$  afetou a atividade da GS, GOGAT, GDH nas raízes e folhas de todos genótipos testados, independente da sua classificação quanto a tolerância à toxidez deste metal. Após 9 dias de tratamento com  $\text{Al}^{3+}$ , a atividade da GS aumentou nas folhas e decresceu nas raízes de todos genótipos. Ao contrário, as atividades da GDH e da PEPC diminuíram nas folhas e aumentaram nas raízes. A toxidez de  $\text{Al}^{3+}$  aumentou a atividade da GOGAT nas folhas de dois genótipos classificados como sensíveis e de dois genótipos classificados como tolerantes, mas aparentemente não afetou a atividade desta enzima nas raízes. Como estes resultados apareceram somente após 9 dias depois da imposição do estresse, concluiu-se que o  $\text{Al}^{3+}$  não tem um efeito direto na atividade destas enzimas e que os efeitos observados foram devidos ao efeito geral do estresse do  $\text{Al}^{3+}$  nas plantas. Os efeitos do fósforo no metabolismo de N foram também investigados (Purcino et. al., 1999). Plantas do genótipo HS 201-M foram cultivadas em solução nutritiva completa até 10 dias após a germinação. Nesta ocasião, metade das plantas foram mantidas na solução nutritiva completa e a outra metade transferida para uma solução que não continha fósforo. Seis horas após a transferência para a solução sem P, as plantas já mostravam uma significativa redução na atividade foliar e radicular da redutase do nitrato (RN). Por outro lado, o efeito do estresse de P afetou a atividade da GS e da GOGAT somente depois de 144 horas de tratamento. Observou-se também neste experimento, que o declínio na atividade da RN, causado pelo estresse de P, foi menos acentuado nas plantas tratadas com  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  que nas tratadas com  $\text{NaNO}_3$ . Comparadas com plantas controle, plantas sob estresse de P tinham baixíssima atividade da RN, enquanto que as atividades da GS e da GOGAT mantiveram-se altas. Como a RN é uma enzima induzida pelo  $\text{NO}_3^-$  e o efeito do estresse de P nas atividades da GS e da GOGAT foram significativas somente depois de um longo período de estresse, estes resultados sugerem que o estresse de P não teve um efeito direto na atividade das enzimas de assimilação de nitrogênio. Analisadas coletivamente, estas observações sugerem que o principal efeito do estresse de P no metabolismo de nitrogênio acontece no processo de absorção de N e não durante a assimilação do mesmo.

Recentemente foi observado que a super expressão do gene da citrato sintetase que controla a produção de ácido cítrico na planta, pode aumentar a tolerância a alumínio em plantas de fumo e mamão (Fuente et. al., 1997). Dentre as propostas de colaboração entre a EMBRAPA e outras instituições de pesquisa na área de solos ácidos, pretende-se iniciar trabalho conjunto com o laboratório do Dr. Luiz Herrera-Estrela no CINVESTAV – México, visando investigar o efeito da introdução deste gene em genótipos de milho contrastantes quanto a sua tolerância a toxidez de alumínio e sua eficiência na utilização de fósforo.



## Atividades futuras

As atividades do programa de adaptação de milho a solos ácidos da EMBRAPA nos próximos anos devem seguir no sentido de contemplar os seguintes tópicos:

a) continuar a obtenção, caracterização e seleção de genótipos (linhagens, híbridos e variedades) quanto à sua tolerância à toxidez de alumínio em solução nutritiva, sua eficiência na utilização de fósforo e nitrogênio e seu tipo de resposta quando cultivados em solos férteis (sem limitação de ordem nutricional) e solos com diferentes níveis de saturação de alumínio (36% e 50%). Além do germoplasma nacional, deve-se continuar trabalho colaborativo na área de introdução e avaliação de germoplasma provenientes dos programas de solos ácidos do CIMMYT- Cali, e do CIMMYT-México e também com programas nacionais da África.

b) continuar estudos de mecanismos ligados à tolerância à toxidez de alumínio e eficiência na utilização de fósforo e nitrogênio em milho em colaboração com outras instituições nacionais e internacionais.

c) identificar descritores morfológicos e fisiológicos associados aos mecanismos de tolerância;

d) desenvolver linhas recombinantes para estudo de tolerância a alumínio (já concluído), e eficiência na utilização de fósforo e nitrogênio (em andamento).

e) quantificar a importância relativa da tolerância a toxidez de alumínio e da eficiência na utilização de fósforo e nitrogênio sobre a adaptação de milho a solos ácidos;

f) estudar a nível molecular alterações nos padrões protéicos e de DNA que possam estar associadas a tolerância a toxidez de alumínio e eficiência na utilização de fósforo e nitrogênio.

g) utilizar marcadores moleculares para mapeamento de genes de tolerância a alumínio e eficiência na utilização de fósforo.

h) realizar em conjunto com o CINESTAV-México estudos do efeito da super-expressão de gene de citrato sintetase em genótipos contrastantes quanto a sua tolerância a alumínio e eficiência na utilização de fósforo.

i) realizar estudos em controle gênico associado à eficiência na absorção de fósforo e nitrogênio e tolerância a toxidez de alumínio;

j) buscar desenvolver técnicas de screening para eficiência na utilização de fósforo e nitrogênio.

## Literatura citada

- Alves, V.M.C. 1994. Frações de Fósforo, de Açúcares Solúveis e de Nitrogênio em Quatro Híbridos de Milho Submetidos à Omissão e ao Ressuprimento de Fósforo. Viçosa, MG. 106p. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa.
- Alves, V.M.C.; Vasconcelos, C.A., Pitta, G.V.E., Maganavaca, R. 1988. Seleção de genótipos de milho para eficiência a fósforo. *Pesq. agron. Bras.* 23(10): 1083-1090.
- Alves, V.M.C., Bahia Filho, A.F.C, Vasconcelos, C.A, Pitta, G.V.E., França, G.E., Prates, H., Parentoni, S.N. 1999. Mechanisms of phosphorus efficiency in maize. IN: Workshop on Improving phosphorus acquisition efficiency in marginal soils. October 17-22, 1999. Sete Lagoas, MG, Brazil (in press).
- Alves, V.M.C., Pitta, G.V.E., Oliveira, C.A., França, C.C.M., Parentoni, S.N. 1999 a. Absorção de nitrato e amônio por genótipos de milho crescidos na presença e ausência de Al. IN: Horst, W. 1999 – Fitting maize into cropping systems on acid soils of the tropics. Project ERBIC 18 CT 960063. Second Scientific Progress Report 01-10-97 to 30-09-98.

- Bahia Filho, A.F.C., França, G.E., Pitta, G.V.E., Magnavaca, R., Mendes, J.F., Bahia F.G.F.T.C., Pereira, P., 1978. Avaliação de linhagens e populações de milho em condições de elevada acidez. Anais da XI Reunião Brasileira de Milho e Sorgo. Piracicaba, 26-30 julho 1976. pp 51-58. ESALQ, Piracicaba, Brasil.
- Bahia Filho, A.F.C., Magnavaca, R., Schaffert, R., Alves, V.M. Identification, utilization and economic impact of maize germplasm tolerant to low levels of phosphorus and toxic levels of exchangeable aluminum in Brazilian soils. 1997. IN Proceedings of the Fourth International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 17-24 March, 1996. p. 59-70.
- Baligar, V.C., Pitta, G.V.E., Gama, E.E.G., Schaffert, R.E. Bahia Filho, A.F.C., Clark, R.B. 1997. Soil acidity effects on nutrient use efficiency in exotic maize genotypes. *Plant and Soil*, 192: p. 9-13.
- Cançado, G.M.A., Carvalho, F.T. Schaffert, R.E. Parentoni, S.N. Paiva, E., Lopes, M.A. 1997. Screening maize and Sorghum genotypes for variations in root proteins associated with response to toxic aluminum. IN Proceedings of the Fourth International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 17-24 March, 1996. P. 267.
- Cançado, G.M.A., Loguercio, L.L., Martins, P.R., Parentoni, S.N., Paiva, E., Borém, A., Lopes, M.A. Hematoxylin staining as a phenotypic index for aluminum tolerance selection in tropical maize. *Theor. Appl. Genetics* 99- p.747-754, 1999.
- Coelho, A.M. 1995. Efeitos de níveis de N-uréia na dinâmica de amônia e nitrato em latossolo cultivado e irrigado. IN Congresso Nacional de La Ciencia del Suelo, 7- 1995, Temuco, Chile. Resumen. Temuco: Universidad de La Frontera, 1995 p. 6.
- Duvick, D.N. 1997. What's Yield ? IN: G.O. Edmeades, M. Bazinger, H.R. Mickelson and C.B. Pena-Valdivia, (eds.). *Developing Drought-and Low N-Tolerant Maize. Proceedings of a Symposium, March 25-29, 1996, CIMMYT, El Bátan, México. México, D.F.: CIMMYT. P. 332-335.*
- Eleutério, A., Gama, E.E.G., Morais, A.R. 1988. Capacidade de combinação e heterose em híbridos intervarietais de milho adaptados às condições de cerrado. *Pesq. agropec. Bras.* 23, 247-253.
- Ezaki, B., Tsugita, S., Matsumoto, H. 1996. Expression of a moderately anionic peroxidase is induced by aluminum treatment in tobacco cells: possible involvement of peroxidase isozymes in aluminum ion stress. *Physiol. Plant* 96:21-28.
- Farina, M.P.W. and Channon P. 1988. Acid-subsoil amelioration. II. Gypsum effects on growth and subsoil chemical properties. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 175-180.
- Fernandes, L.A., Futini Neto, A.E., Vasconcelos, C.A, Guedes, G.A.A 1998. Preparo do solo e adubação nitrogenada na produtividade do milho em Latossolo sob vegetação de cerrado. *R. Bras. C. Solo*, 22:247-254.
- Foy, C.D. 1992. Soil chemical factors limiting plant root growth. *Adv. Soil Sci.* 19:97-131, Springer-Verlag, New York.
- Fuente, J.M., V. Ramirez-Rodríguez, J.L. Cabrera-Ponce, L. Herrera-Estrella. 1997. Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science* 276:1566-1568
- Furlani P.R. and Clark, R.B. 1981. Screening sorghum for aluminum tolerance in nutrient solution. *Agron. J.* 73, 587-594.
- Gama, E.E.G., Magnavaca, R., Morais, A.R., Oliveira, A.C. 1986. Comportamiento de cinco poblaciones de maíz y de sus respectivos híbridos interpoblaciones em suelos fertiles y acidos. *Mémoria da XII Reunión de Maiceros de la Zona Andina, Quito, Peru, 29, set. a 3 out. pp. 77-96. CIMMYT, México.*
- Garcia Jr. O, and Silva, W.J. 1979. Análise genética da tolerância ao alumínio em milho. *Ciência e Cultura* 31: 585.
- Horst, W. 1999 – Fitting maize into cropping systems on acid soils of the tropics. Project ERBIC 18 CT 960063. Second Scientific Progress Report 01-10-97 to 30-09-98.
- Kochian, L.V. 1999. Can we gain insights into mechanisms of P efficiency by studying aluminum tolerance in crop plants ? IN: Workshop on Improving phosphorus acquisition efficiency in

- marginal soils. October 17-22, 1999. Sete Lagoas, MG, Brazil (in press).
- Lima, M., Furlani, P.R and Miranda Filho, J.B. 1992. Divergent selection for aluminum tolerance in a maize (*Zea mays* L.) population. *Maydica* 37: 123-132.
- Lopes, M.A., Magnavaca, R., Bahia Filho, A.F.C., Gama, E.E.G. 1987. Avaliação de populações de milho e seus cruzamentos para tolerância a toxidez de alumínio em solução nutritiva. *Pesq. Agrop. Bras.* 22:257-263.
- Machado, A.T., Paterniani, E. 1989. Avaliação de germoplasma de milho em relação à eficiência e/ou fixação biológica de nitrogênio. Parte 1. IN: Congresso Nacional de Milho e Sorgo (17): Piracicabas, 1989. Anais.
- Machado, A.T., Magalhães, J.R. 1996. Melhoramento de Milho para Nitrogênio. IN Simpósio Internacional Sobre Estresse Ambiental: o milho em perspectiva. EMBRAPA-Milho e Sorgo – CIMMYT/UNDP, Belo Horizonte, MG., 8 a 13 de Março de 1992, 449p. p.321-343.
- Magalhães, J.V. 1996. Absorção e translocação de nitrogênio por plantas de milho submetidas a períodos crescentes de omissão de fósforo na solução nutritiva. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, MG. Brasil.
- Magnavaca, R. 1982. Genetic variability and the inheritance of aluminum tolerance in maize (*Zea mays* L.). Ph.D. dissertation, University of Nebraska, Lincoln, Nebraska.
- Magnavaca, R., Gardner C.O and Clark R.B. 1987a. Evaluation of maize inbred lines for aluminum tolerance in nutrient solution. In Genetic aspects of plant mineral nutrition. Eds H W Gabelman and B C Longhman. Pp 255-265. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster.
- Magnavaca, R., Gardner C.O and Clark R.B. 1987b. Inheritance of aluminum tolerance in maize. In Genetic aspects of plant mineral nutrition. Eds H W Gabelman and B C Longhman. Pp 201-212. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster.
- Magnavaca, R., Gardner C.O and Clark R.B. 1987c. Comparitions of maize populations for aluminum tolerance in nutrient solution. In Genetic aspects of plant mineral nutrition. Eds H W Gabelman and B C Longhman. Pp 189-199. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht/Boston/Lancaster.
- Magnavaca, R., Gama, E.E.G., Bahia Filho, A.F.C., Fernandes, F.T. 1988. Obtenção de híbridos duplos de milho para tolerância a toxidez de alumínio. *Pesq. agrop. Bras.* 23, 971-977.
- Magnavaca, R., Pacheco, C.A.P., Parentoni, S.N., Gama, E.E.G., Guimarães, P.E.O., Santos, M.X., Winkler, E.I.G. 1990 Avaliação de testadores para produção de híbridos duplos semi-dentados de milho. IN: Memórias da XIII Reunión de Maiceros de La Zona Andina, Chiclayo, PERU. INIAA p.1-6.
- Marriel, I. E.; Pacheco, C. A. P.; Gama, E.E.G, França, G.E.; Purcino, A.A.C. 1990 Avaliação de quatro ciclos de seleção para eficiência no uso de nitrogênio em quatro populações de milho. IN: 18º Congresso de milho e Sorgo, Vitória ES, 1990. P.38
- Marriel, I.E.; Feldmann, R.O., Gama, E.E.G. Oliveira, A.C.; 1990 a - Potencial de genótipos exóticos de milho para eficiência no uso de nitrogênio. IN 18º Congresso de milho e Sorgo, Vitória ES, 1990. P.39
- Marriel, I.E.; Pacheco, C.A.P.; Purcino, A.A C.; Magalhães, J.R.; Oliveira, A.C. 1991. Eficiência no uso de nitrogênio em populações de milho cultivadas sob estresse. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 3., Viçosa, MG. 1991, Resumos...Viçosa: SBFV, 1991. p.37.
- Marriel, I.E.; Gama, E.E.G.; Santos, M..X.; Pacheco, C.A.P.; Oliveira, A.C.; França, G.E.; Vasconcellos, C.A. 1997 Avaliação e seleção de genótipos de milho sob estresse de N no solo. Sete Lagoas: Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997. 5p. (EMBRAPA.CNPMS. Pesquisa em andamento ).
- Martins, P.R., Lopes, M.A, Parentoni, S.N., Vencovsky, R., Paiva, E. 1999. RFLP markers related to aluminum tolerance in maize. (to be submitted to *Euphytica*).
- Matter K and Jinks, J.L. 1971. *Biometrical Genetics*. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY.
- Menossi, M., Maron, L.G., Jorge, R.<sup>a</sup>, Felix, J.M., Fukada, M.K. Stukart, G.C. , Bergamo, R.F., Ottoboni, L.M.M. and Paulo Arruda. 1999. Aluminum tolerance in maize. IN: Workshop on

- Improving phosphorus acquisition efficiency in marginal soils. October 17-22, 1999. Sete Lagoas, MG, Brazil (in press).
- Miranda, L.T., Furlani, P.R., Miranda, L.E.C. and Sawazaki, E. 1984. Genetic and environmental resistance and super-genes. Latent aluminum tolerance. Maize Genetics Coop. Newsletter 58:46-48.
- Moore, D.P., Kronstad, W.E., Metzger, R.J. 1976. Screening wheat for aluminum tolerance, pp. 287-296. In: M.J.Wright (Ed.) Plant Adaptation to Mineral Stress in Problem Soils. Proceedings of workshop, 22-23 Nov. 1976, Beltsville, MD.
- Moro, J.R., Napolini Filho, W., Vianna, R.T., Gama E.E.G., 1981. Introdução de novos germoplasmas de milho no Brasil. Pesq. agropec. Bras., Brasília, 16(6): 867-882.
- Moro, J.R., Napolini Filho, W., Vianna, R.T., Gama E.E.G., 1981a. Seleção entre e dentro de progênies de irmãos germanos na população de milho "Suwan DMR" (Zea Mays). Ciência e Cultura, 33(4), p.563-570.
- Napolini Filho V., Bahia Filho, A.F.C., Vianna, R.T., Gama, E.E.G., Vasconcelos, C.A., Magnavaca, R. 1981. Comportamento de linhagens e híbridos simples de milho (Zea Mays L.) em solos sob vegetação de cerrado. Ciência e Cult. 33, 722-727.
- Novais, R.F., and Smyth, T.J., 1999. Fósforo em solo e planta em condições tropicais. Roberto Ferreira de Novais, T.Jot Smyth. -Viçosa-MG: UFV, DPS 399 p.
- Pacheco, C.A.P.; Marriel, I.E.; Santos, M.X.; Gama, E.E.G. 1992. Avaliação de progênies S1 da população CMS 22, em condições de estresse de nitrogênio. RELATÓRIO TÉCNICO ANUAL CNPMS 1988-1991, Sete Lagoas, p.113-114. 1992.
- Pacheco C.A.P., 1997 Associação das metodologias de análise dialélica de Griffing e de análise de adaptabilidade e estabilidade de Eberhart e Russel. Tese (doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, UFV, 118p.
- Parentoni, S.N., Bahia Filho, A.F.C., Gama, E.E.G., Lopes, M.A., Guimarães, P.E.O; Santos, M.X.. 1995. "Capacidade Combinatória de linhagens elite de milho em solo ácido e fértil." In: Proceedings of III Latin American Maize Researchers Meeting. Editors: Gonzalo Ávila and Ligia Céspedes, Cochabamba, Bolívia. Vol. 1 - pg. 35-46.
- Parentoni, S.N., Gama, E.E.G., Lopes, M.A., Santos, M.X., Guimarães, P.E.O; Eleutério, A., Bahia Filho, A.F.C., Alves, V.M.C., França, G.E., Coelho, A.M., Correa, L.A., Paiva, E., Vasconcelos, M.J. 1996. "Avanços no programa de adaptação de milho a solos ácidos do CNPMS/ EMBRAPA, 1994 a 1996". IN Reunion de Coordenadores Suramericanos de Programas de Maiz. Cali, 24-27 de Julho, 1996. p. 74-103.
- Parentoni, S.N., Bahia Filho, A.F.C., Gama, E.E.G., Lopes, M.A., Guimarães, P.E.O., Santos, M.X. 1997. Diallel analysis in acid and fertile soils of maize inbred lines differing in their levels of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. IN Proceedings of the Fourth International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 17-24 March, 1996. P. 230.
- Parentoni, S.N., Alves, V.M.C., Santos, M.X., Gama, E.E.G., Lopes, M.A., Guimarães, P.E.O., Pacheco, C.A.P., Bahia Filho, A.F.C., Meireles, W.F., Souza, I.R.P., Correa, L.A. 1998 Identificação de genótipos padrões para eficiência na utilização de P em milho. In. XXII Congresso Nacional de Milho e Sorgo-Recife-PE, 6-11/09/98, RESUMOS pg.22; resumo expandido em cd room.
- Parentoni, S.N.; Magalhães, J.V.; Santos, M.X.; Pacheco, C.A. P.; Abadie, T.; Gama, E.E.G.; Guimarães, P.E.O.; Lopes, M.A.; Vasconcelos, M.J.V.; Paiva, E. 1999. "Heterotic groups based on specific combining ability and phylogenetic relationship determined by RAPD markers for 28 tropical maize open pollinated varieties". - submitted to Euphytica.
- Purcino, A.A.C., V.M.C. Alves, S.N. Parentoni, C.L. Belele. 1999. Biochemistry and molecular biology of N metabolism: the quest for increased nitrogen use efficiency. In: Siquera, J.O. (eds), Soil Fertility, Plant Nutrition and Soil Biology Relationships: Consolidating a Paradigm (32 pg, no prelo)
- Raghothama, K.G. 1999. Molecular determinants of phosphate acquisition and their utility in crop

- improvement. IN: Workshop on Improving phosphorus acquisition efficiency in marginal soils. October 17-22, 1999. Sete Lagoas, MG, Brazil. (in press)
- Rhue, R.D., Grogan, C.O., Stockmeyer, E.W. and Everett, H.L. 1978. Genetic control of aluminum tolerance in corn. *Crop Sci.* 18: 1063-1067.
- Santos, H.L., Bahia Filho, A.F.C., Bahia F., Magnavaca, R., Silva, J., Murad, A.M., Pacheco, E.B. 1975. Ensaio de adubação com nitrogênio, fósforo e potássio na cultura do milho em MG. II – Avaliação da nutrição do milho pela análise foliar. *Pesq. agropec. Bras. Ser. Agron.* 10: 47-51.
- Santos, M.X., Pacheco, C.A.P., Gama, E.E.G., Guimarães, P.E.O., Souza Júnior, C.L., Magnavaca, R. 1992. Seleção recorrente recíproca com progênes de meios-irmãos interpopulacionais obtidas alternadamente em plantas não endógamas ( $S_n$ ) e endógamas ( $S_1$ ). Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, 1988-1991. Pg. 135-136.
- Santos M.X., Pacheco C.A.P., Guimarães P.E.O., Gama E.E.G., Silva A.E., Oliveira A.C. 1994. Diallel among twenty eight varieties of maize. *Revista Brasileira de Genética* 17(3):277-282.
- Santos, M.X., Guimarães, P.E.O., Pacheco, C. A.P., França, G.E., Parentoni, S.N., Gama, E.E.G., Lopes, M.A. 1997. Improvement of the Maize Population "Elite Synthetic NT" for Soils with Low Nitrogen Content. IN: G.O. Edmeades, M. Bazinger, H.R. Mickelson, and C.B. Pena-Valdivia- (eds.) 1997. Developing Drought-and Low N-Tolerant Maize. Proceedings of a Symposium, March 25-29, 1996. CIMMYT, El Batán, México. México, D.F. CIMMYT. p. 508-511.
- Santos, M.X., Guimarães, P.E.O., Pacheco, C.A.P., França, G.E., Parentoni, S.N., Gama, E.E.G., Lopes, M.A. 1998. Melhoramento Intrapopulacional no Sintético Elite NT para solos pobres em nitrogênio. I. Parâmetros genéticos de produção. *Pesq. agropec. Bras., Brasília*, v.33 n1, p.55-61.
- Sawazaki, E. and Furlani, P.R. 1987. Genética da tolerância ao alumínio em linhagens de milho cateto. *Bragantia* 46: 269-278.
- Souza, J. R. 1997. Avaliação de seis ciclos de seleção para tolerância à acidez na população de milho (Zea mays L) CMS 04C. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Goiás – Goiania, Brasil, 145 p.
- Souza IRP, Alves V.M.C., Parentoni S.N., Teixeira F.F., Paiva E, Purcino A.A.C. "Peroxidase Activity along the Main Root Apex of Aluminum Tolerant and Sensitive Maize Inbred Lines" IN Peroxidase '99, International Symposium for Plant Peroxidases, Columbus, Ohio USA, July 17-21, 1999. ABSTRACT... 52.
- Torres, G.A., Parentoni, S.N., Lopes, M.A., Paiva, E. "Use of RFLPs to identify genes for aluminum tolerance in maize." Proceedings of International Symposium on the use of induced mutations and Molecular Techniques for crop improvement. International Atomic Agency and United Nations. Viena, Austria, 19-23 June 1995. p.227-236.
- Torres, G.A., Parentoni, S.N., Lopes, M.A., Paiva, E. "A search for RFLP markers to identify genes for aluminum tolerance in maize". *Brazilian Journal of Genetics*-20 (3) 459-465. 1997.
- Vasconcelos, C.A., Santos, H.L., França, G.E., Bahia Filho, A.F.C., Pitta, G.V.E. 1986. Níveis, Métodos de Aplicação e Fontes de Fosfatos na Produção de Milho. *Pesq. agrop. Bras.*, 21(3), 245-254.
- Vasconcelos, C.A., Viana, M.C.M., Ferreira, J.J. 1998. Acúmulo de matéria seca e de nutrientes em milho cultivado no período inverno-primavera. *Pesq. agrop. Bras.* V. 33 – n 11, p. 1835-1845.