

FABIOLA VILLA

**MICROPROPAGAÇÃO E AVALIAÇÃO
DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM
PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA**

2008

FABIOLA VILLA

**MICROPROPAGAÇÃO E AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO
ALUMÍNIO EM PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador:

Dr. Moacir Pasqual

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

FABIOLA VILLA

**MICROPROPAGAÇÃO E AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO
ALUMÍNIO EM PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

Aprovada em 06 de março de 2008.

Dr. José Carlos Fráguas - EPAMIG/Lavras

Dr. Ângelo Albérico Alvarenga - EPAMIG/Lavras

Dra. Janice Guedes de Carvalho - UFLA/Lavras

Dra. Aparecida Gomes de Araujo - UFLA/Lavras

Dr. Moacir Pasqual
UFLA/Lavras
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Villa, Fabíola.

Micropropagação e avaliação da tolerância ao alumínio em porta-
enxertos de videira / Fabíola Villa. -- Lavras : UFLA, 2008.

74 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Moacir Pasqual.

Bibliografia.

1. Cultura *in vitro*. 2. HPLC. 3. *Vitis* spp. 4. Alumínio. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.883

Dedico

À minha filha querida, Chiara Villa, que a cada dia preenche minha vida com sua alegria, seu sorriso, pensamentos e atitudes,

Aos meus pais, Emerson Carlos Villa e Izabel Villa, meus maiores exemplos de vida, amor e dignidade,

Aos meus irmãos, Fábio Alexandre Villa e Fabiana Villa Alves, pelo companheirismo, cumplicidade e amor que nos une,

À minha sobrinha, Giulia Villa Alves, que apesar da distância que nos separa, faz parte de minha vida,

Aos meus tios e primos, por todo amor e encorajamento,

Aos meus avós, Helena Blagitz Villa (*in memorian*) e Mário Villa (*in memorian*).

“Pouco conhecimento faz que as criaturas se sintam orgulhosas e muito conhecimento faz com que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto que as cheias as baixam para a Terra, sua mãe.”

(Leonardo da Vinci)

Agradeco

A Deus e à Santa Chiara, pela minha existência e contínua presença em todos os momentos de minha vida, iluminando sempre meu caminho.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura (DAG), pela oportunidade concedida para a realização do doutorado.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos membros do Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, pela colaboração durante o curso.

À Fundação de Apoio à Pesquisa, Ensino e Extensão de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro à execução do projeto.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Fazenda Experimental de Caldas, pelo apoio e infra-estrutura disponibilizada para a execução de parte desse trabalho.

Ao professor Dr. Moacir Pasqual, pelos ensinamentos transmitidos, apoio e amizade durante todo o curso.

Ao pesquisador e co-orientador Dr. Geraldo Magela de Almeida Cançado, pela valiosa orientação, oportunidades oferecidas e conhecimentos transmitidos.

Aos pesquisadores Dr. Ângelo Albérico Alvarenga, Dr. José Carlos Fráguas, Dra. Aparecida Gomes de Araujo e à professora Dra. Janice Guedes de Carvalho, pela colaboração e amizade.

Aos pesquisadores italianos Oriano Navacchi, Giuseppe Zuccherelli e Katiuscia Zuccherelli pela oportunidade de estágio na Vitroplant, na Itália.

As amigas de coração, Ellen Noly, Leila A. Pio, Luzia Yuriko, Maria Aparecida Moreira e Daniela Pavolucci, pelos momentos alegres e prazerosos.

Em especial aos amigos Franscinely, Sandra Elisabete, Alba, Regimeire, Gustavo, Carina, Elda, Claudinéia e Frederico, pelo apoio e amizade preciosa.

Aos amigos Aline, Ximena, Joyce, Dalíhia e Filipe pela ajuda na condução dos trabalhos e inestimável amizade.

Ao graduando em Química, Hudson Zoff pela realização das análises das amostras do presente trabalho.

Aos queridos amigos Vantuil Rodrigues, Antonio Claret, Antonio Carlos, Evaldoe e Marli, funcionários do Laboratório de Cultura de Tecidos da UFLA, pelo convívio e ensinamentos.

Aos queridos vizinhos, Nilda, Maia, Thais, Rodrigo, Nery, Jair, Renan, Maria José e Camila, pela agradável convivência.

A todos aqueles que, de uma forma ou outra, contribuíram para o desenvolvimento do trabalho e do curso.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
ARTIGO 1: Sulfato de adenina e BAP no crescimento <i>in vitro</i> de porta-enxertos de videira	01
Resumo	02
Abstract	03
1 Introdução	04
2 Material e Métodos	05
3 Resultados e Discussão	06
4 Conclusão	13
Referências Bibliográficas	13
ARTIGO 2: Glicina e inositol no cultivo <i>in vitro</i> de porta-enxerto de videira	17
Resumo	18
Abstract	19
1 Introdução	20
2 Material e Métodos	21
3 Resultados e Discussão	22
4 Conclusão	27
Referências Bibliográficas	28
ARTIGO 3: Seleção fenotípica de porta-enxertos de videira para tolerância ao alumínio, cultivados em solução nutritiva	30
Resumo	31
Abstract	32
1 Introdução	33
2 Material e Métodos	35
3 Resultados e Discussão	39
4 Conclusões	45
Referências Bibliográficas	46
ARTIGO 4: Avaliação da tolerância ao alumínio em porta-enxertos de videira	50
Resumo	51
Abstract	52
1 Introdução	53
2 Material e Métodos	55
3 Resultados e Discussão	62
4 Conclusões	70
Referências Bibliográficas	70

RESUMO

VILLA, Fabíola. **Micropropagação e avaliação da tolerância ao alumínio em porta-enxertos de videira**. 2008. 74p. Tese (Doutorado em Agronomia. Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Na viticultura, as técnicas de micropropagação tornam-se imprescindíveis para a obtenção em larga escala de material de boa qualidade fitossanitária. Assim, objetivou-se estudar a multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de videira, por meio da utilização de 5 concentrações de sulfato de adenina, associado a 3 de BAP e, 4 concentrações de glicina associadas a 4 de inositol. Segmentos nodais do porta-enxerto de videira 'VR043-43', 'R110' e 'Kobber', com cerca de 2 cm comprimento, oriundos de brotações pré-estabelecidos *in vitro* foram excisados e introduzidos em tubos de ensaio contendo 15 mL do meio de cultura DSD1. Os meios foram acrescidos de 20 g L⁻¹ de sacarose, solidificados com 6 g L⁻¹ de ágar e o pH ajustado para 6,4, antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento a 25±2°C, irradiância de 35 µmol.m⁻².s⁻² e fotoperíodo de 16 horas diárias, permanecendo nestas condições por 70 dias. O delineamento experimental utilizado foi o DIC, utilizando-se 4 repetições com 12 brotações por tratamento. Foram avaliados números de folhas, comprimento da parte aérea, peso da matéria fresca da parte aérea e de calos. Melhores resultados na micropropagação de 'VR043-43' e 'R110' foram obtidos em meio DSD1 sem a adição de sulfato de adenina e com 1,0 mg L⁻¹ de BAP. Para o porta-enxerto de videira, melhores resultados foram obtidos na ausência e/ou com baixas concentrações de glicina e concentração de inositol igual ou superior à recomendada no meio de cultura DSD1. A seleção de cultivares de planta com tolerância ao Al é crucial à realização de uma agricultura eficiente em solos ácidos brasileiros. Por isso, objetivou-se avaliar 8 porta-enxertos de videira em solução nutritiva, quando submetidos a 4 níveis de alumínio, com a finalidade de selecionar os genótipos mais tolerantes ao alumínio. Estacas com comprimento de 30cm foram mantidas por 30 dias em câmara fria. Após esse período foram hidratadas com água + AIB por 24 horas na concentração de 2000 mg L⁻¹, sendo colocadas posteriormente para enraizar em vermiculita + areia (1:1) durante 60 dias e a seguir transferidas para os vasos com volume de 3,5 L onde a solução nutritiva estava contida. Após 40 dias de cultivo foram avaliados os comprimentos da parte aérea, peso da matéria seca da parte aérea, comprimento do sistema radicular e peso da matéria seca do sistema radicular. O delineamento

* Comitê Orientador: Dr. Moacir Pasqual - UFLA (Orientador); Dr. Geraldo Magela de Almeida Cançado - EPAMIG/Caldas (Co-orientador).

experimental utilizado foi o DIC com 5 repetições. Maior comprimento da parte aérea foi obtido pelo genótipo 'IAC 766' na ausência de alumínio, e pelo genótipo '420 A' com a dosagem de 40 mg L⁻¹. Obteve-se maior peso seco da parte aérea e peso seco da estaca de 'IAC 572' com 40 mg L⁻¹. Maior comprimento do sistema radicular foi obtido pelo genótipo 'Gravesac' na dosagem de 10 mg L⁻¹. Quanto ao peso seco do sistema radicular o '1045 P' mostrou-se pouco sensível na dosagem de 10 mg L⁻¹. As cultivares 'IAC 572', 'IAC 766' e '1103P' apresentaram crescimento do sistema radicular semelhante na ausência ou presença do alumínio, o que faz supor uma boa resistência à toxicidade deste elemento. No quarto experimento foi avaliado a tolerância ao Al em 6 genótipos de porta-enxertos de videira. As plantas cresceram em solução nutritiva na ausência e com 250 e 500 µM de Al, em pH 4,2. Foram avaliados em todos os genótipos o índice fenotípico de crescimento das raízes, peso da matéria fresca e seca das raízes, área do sistema radicular, hematoxilina e o conteúdo de Al. Os porta-enxertos de videira que mostraram alta tolerância para a maioria dos índices fenotípicos avaliados foram o 'Kobber', 'Gravesac', 'Paulsen 1103' e 'IAC 766' enquanto que, os mais sensíveis ao Al foram o 'R110' e 'IAC 572'. Além desses parâmetros foi avaliada a exsudação de ácidos orgânicos pelo sistema radicular de 'Kobber' e 'R110' cultivados *in vitro* na ausência e presença de alumínio. O citrato foi o único ácido orgânico cuja resposta foi relacionada ao estresse causado pelo Al. A taxa de exsudação em 'Kobber' foi mais alta que em 'R110', indicando um possível papel deste ácido na aquisição de tolerância ao Al em videira.

Palavras-chave: cultura de tecidos, *Vitis* spp., toxicidade, sistema radicular.

ABSTRACT

VILLA, Fabíola. **Micropropagation and evaluation of aluminum tolerance of rootstocks grapevine**. 2008. 74 p. Thesis (Doctorate in Crop Science) - Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

In the viticulture, the micropropagation's techniques become indispensable for obtaining in wide scale of material of good fitossanitary quality. The present work had as objective studies the multiplication *in vitro* of grapevine rootstocks, through the use of 5 concentrations of adenine sulphate, associated to 3 of BAP and, 4 concentrations of glicine associated to 4 of inositol. Nodal segments of grapevine rootstock 'VR043-43', 'R110' and 'Kobber', with about 2 cm length, originating from plants pre-established *in vitro* were excised and introduced in tubes containing 15 mL of culture medium DSD1. The culture medium were added of 20 g L⁻¹ of sucrose, solidified with 6 g L⁻¹ of agar and the adjusted pH for 6.4, before the sterilization to 121°C and 1 atm for 20 minutes. Later to the inoculation, the tubes were transferred for growth room to 25±2°C, irradiance of 35 µmol.m⁻².s⁻² and photoperiod of 16 hours, staying in these conditions for 70 days. The experimental design used was DIC, being used 4 repetitions with 12 plants per treatment. They were appraised numbers of leaves, length of the aerial part, weigh of the fresh matter of the aerial part and of callus. Better results in the micropropagation of 'VR043-43' and 'R110' were obtained in the DSD1 without the addition of adenine sulphate and with 1.0 mg L⁻¹ of BAP. For the grapevine rootstock 'Kobber', better results were obtained in the absence and/or with low glicine concentrations and same concentration of inositol or superior to recommended in the culture medium DSD1. The selection of plants with tolerance to Al it is crucial to the accomplishment of an efficient agriculture in Brazilian acid soils. Therefore, it was aimed at to evaluate 8 grapevine rootstocks in nutrition solution, when submitted at 4 levels of aluminum, with the purpose of selecting the most tolerant genotype to the aluminum. Rootstock with 30cm length were maintained by 30 days in cold camera. After that period were moisturized with water + AIB for 24 hours in the concentration of 2000 mg L⁻¹, being placed later to take root in vermiculite + sands (1:1) for 60 days and to proceed transferred for the vases with 3.5L of volume where the nutrition solution was contained. After 40 days of cultivation were appraised the lengths of the aerial part, dry weight of the aerial part, length and dry weight of the radicular system and dry weight of the rootstocks. The experimental design used was DIC with 5 repetitions. Larger length of the aerial part was obtained by the genotype 'IAC 766' in the absence of aluminum, and for the genotype

* Guidance Committee: Dr. Moacir Pasqual - UFLA (Adviser); Dr. Geraldo Magela de Almeida Cançado - EPAMIG/Caldas (Co-adviser).

'420 A' with the 40 mg L⁻¹. Larger dry weight of the aerial part was obtained and weigh dry of the stake of 'IAC 572' with 40 mg L⁻¹. Larger length of the radicular system was obtained by the genotype 'Gravesac' in the concentration of 10 mg L⁻¹. With relationship to the dry weight of the radicular system the '1045 P' was shown little sensitive in the 10 mg L⁻¹. The cvs. 'IAC 572', 'IAC 766' and '1103P' they presented growth of the similar radicular system in the absence or presence of the aluminum, the one that does suppose a good resistance to the toxicity of this element. In the fourth experiment the tolerance was evaluated Al in 6 genotype of grapevine rootstock. The plants grew in nutrition solution in the absence and with 250 and 500 µM of Al, in pH 4.2. They were appraised in all the genotype the fenotipical index of growth of the roots, weight of the fresh and dry matter of the roots, area of the radicular system, hematoxylin and Al's content. The grapevine rootstock that showed high tolerance for most of the indexes appraised fenotipical were 'Kobber', 'Gravesac', 'Paulsen 1103' and 'IAC 766' while, the most sensitive to Al were 'R110' and 'IAC 572'. Beyond of those parameters the organic acids exudation was evaluated by the radicular system of 'Kobber' and 'R110' cultivated *in vitro* in the absence and presence of aluminum. The citrate was the only organic acid whose answer was related to the stress caused by Al. The exudation rate in 'Kobber' was higher than in 'R110', indicating a possible paper of this acid in the acquisition of tolerance to Al in grapevine.

Key words: tissue culture, *Vitis* spp., toxicity, radicular system.

ARTIGO 1

SULFATO DE ADENINA E BAP NO CRESCIMENTO *in vitro* DE PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA

**Fabíola Villa¹, Moacir Pasqual¹, Filipe Almendagna Rodrigues¹,
Aline das Graças Souza¹, Ximena Maira de Souza Vilela¹.**

¹Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA),
Lavras, MG. Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000.

E-mail: fvilla2003@libero.it, mpasqual@ufla.br

Preparado de acordo com as normas da Revista Ceres

RESUMO

Na viticultura, as técnicas de micropropagação tornam-se imprescindíveis para a obtenção em larga escala de material de boa qualidade fitossanitária. Objetivou-se com o trabalho estudar a multiplicação *in vitro* de dois porta-enxertos de videira, por meio da utilização de sulfato de adenina, associado ao BAP. Segmentos nodais do porta-enxerto de videira 'VR043-43' (*Vitis vinifera* x *V. rotundifolia*) e de 'R110' (*Vitis berlandieri* x *V. rupestris*), com cerca de 2 cm de comprimento, oriundos de brotações pré-estabelecidos *in vitro* foram excisados e introduzidos em tubos de ensaio contendo 15 mL do meio de cultura DSD1. O experimento constituiu-se de dois porta-enxertos de videira conduzidos em diferentes concentrações de sulfato de adenina (0; 20; 40; 60 e 80 mg L⁻¹) e de BAP (0; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹), em fatorial 5x3, adicionadas ao meio de cultivo. Os meios foram acrescidos de 20 g L⁻¹ de sacarose, solidificados com 6 g l⁻¹ de ágar e o pH ajustado para 6,4, antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento a 25±2°C, irradiância de 35 µmol.m⁻².s⁻² e fotoperíodo de 16 horas diárias, permanecendo nestas condições por 70 dias. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, utilizando-se quatro repetições com doze brotações por tratamento. Foram avaliados números de folhas, comprimento da parte aérea, peso da matéria fresca da parte aérea e de calos. Melhores resultados na micropropagação de 'VR043-43' e 'R110' foram obtidos em meio DSD1 sem a adição de sulfato de adenina e com 1,0 mg L⁻¹ de BAP.

Palavras-chave: micropropagação, *Vitis* spp., fitormônio.

ABSTRACT

In the viticulture, the micropropagation techniques become indispensable for the obtaining in large scale material of good quality fitossanitary. The present work had as objective studies the multiplication *in vitro* of two grapevine rootstock, using adenine sulphate, associated to BAP. Nodal segments of grapevine rootstock 'VR043-43' (*Vitis vinifera* x *V. rotundifolia*) and 'R110' (*Vitis berlandieri* x *V. rupestris*), with 2 cm length, originating from buds established *in vitro* were excised and introduced in tubes containing 15 mL of culture medium DSD1. The experiment constituted of plants and different concentrations of adenine sulphate (0; 20; 40; 60 and 80 mg L⁻¹) and concentrations of BAP (0; 0.5 and 1.0 mg L⁻¹), in all possible combinations, added to the culture medium. The means were added of 20 g L⁻¹ of sucrose, solidified with 6 g L⁻¹ of agar and the adjusted pH for 6.4, before the sterilization to 121°C and 1 atm for 20 minutes. After the inoculation, the tubes were transferred for growth room to 25±2°C, irradiance of 35 µmol.m⁻².s⁻² and photoperiod of 16 hours daily, staying in these conditions per 70 days. The experiment was arranged in a completely randomized design, being used four repetitions with twelve buds per treatment. They were appraised numbers of leaves, length of the aerial part, weigh of the fresh matter of the aerial part and callus. Better results in the micropropagation of 'VR043-43' and 'R110' were obtained in the culture medium DSD1 without the addition of adenine sulphate and with 1.0 mg L⁻¹ of BAP.

Key words: micropropagation, *Vitis* spp., fitormone.

1 INTRODUÇÃO

A vitivinicultura brasileira, embora recente, tem avançado tanto nos produtos elaborados como na produção de uvas para consumo in natura. Em 2004, foram produzidas 1.283.203 t de uvas, segundo o IBGE. Em 2005, a produção de uvas foi 2,89% inferior ao ano anterior, sendo produzidas 1.246.071 t. Em 2004, 48,72% da uva produzida no Brasil foi destinada à elaboração de vinhos, sucos, destilados e outros derivados. Em 2005, face à redução da quantidade de uvas produzidas no Rio Grande do Sul, este percentual foi reduzido para 44,19% (IBGE, 2005).

Na viticultura, as técnicas de micropropagação tornam-se imprescindíveis para a obtenção em larga escala de material vegetativo de boa qualidade fitossanitária (Biasi, 2003; Biasi et al., 1998). Diversos trabalhos têm apontado as técnicas de micropropagação como alternativa para a rápida propagação de cultivares da espécie *Vitis rotundifolia* e, especialmente, híbridos de *Vitis* e *Muscadinia* (Wetzstein & Myers, 1994).

As citocininas são derivadas da base nitrogenada adenina, sendo que seus efeitos fisiológicos na planta estão relacionados com a divisão, alongamento, diferenciação celular, retardamento da senescência, dominância apical, germinação e quebra de dormência de sementes (Crocomo & Cabral, 1988). A multiplicação de videiras *in vitro*, com a utilização de citocininas, foi reportada por diversos autores, contudo, suas concentrações e tipos, para a melhor proliferação de brotações, variou entre os diferentes genótipos estudados (Dzazio et al., 2002).

A adenina na forma de sulfato de adenina é muito utilizada em cultura de tecidos, sendo que seu efeito pode ser comparado ao de uma citocinina fraca ou ainda haver uma interação com as próprias citocininas no meio (Caldas et al., 1998). O sulfato de adenina foi usado em meio de multiplicação de mamoeiro

por Saha et al. (2004). Também foi utilizado para aumentar a taxa de multiplicação *in vitro* de bananeira (Menegucci et al., 1993). Segundo George & Sherrington (1984), o sulfato de adenina parece estimular a proliferação de ramos, principalmente em combinações com citocininas.

Guerra & Nodari (2006) relataram que a adenina, ou sulfato de adenina, estimula o crescimento de brotações *in vitro*. É muito utilizada em cultura de tecidos e seu efeito pode ser comparado ao de uma citocinina fraca ou, ainda haver uma interação com as próprias citocininas do meio (Caldas et al., 1998). Efeitos estimulatórios da adenina foram observadas na formação de gemas em explantes de câmbio de plantas de ulmeiro (*Ulmus campestris*, Jacquot, 1951) e no enraizamento de embriões somáticos de *Citrus sinensis* (Kochba et al., 1974).

Objetivou-se com o trabalho estudar a multiplicação *in vitro* de dois porta-enxertos de videira, por meio da utilização de diferentes níveis de sulfato de adenina, associados à diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Material vegetal

Segmentos nodais do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’ (*Vitis vinifera* x *V. rotundifolia*) e de ‘R110’ (*Vitis berlandieri* x *V. rupestris*), com cerca de 2 cm de comprimento, oriundos de brotações pré-estabelecidas *in vitro* foram excisados e introduzidos em tubos de ensaio contendo 15 mL do meio de cultura DSD1 (Silva & Doazan, 1995). Os meios de cultivo foram

acrescidos de 20 g L⁻¹ de sacarose, solidificados com 6 g L⁻¹ de ágar e o pH ajustado para 6,4, antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos.

Descrição dos tratamentos

O experimento consistiu dos porta-enxertos de videira ('R100' e VR043-43') e de cinco diferentes concentrações de sulfato de adenina (0; 20; 40; 60 e 80 mg L⁻¹) e três de BAP (0; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹), em todas as combinações possíveis, adicionadas ao meio de cultura. Posteriormente à inoculação, os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento a 25 ± 2°C, irradiância de 35 μmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas diárias, permanecendo nestas condições por 70 dias.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial, utilizando-se quatro repetições com doze brotações por tratamento.

Avaliações

Após 70 dias de cultivo, foram avaliados números de folhas, comprimento da parte aérea, peso da matéria fresca da parte aérea e de calos. Os dados foram analisados através do software Sisvar (Ferreira, 2000), utilizando regressão polinomial para as variáveis.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando o teste F a 5% de probabilidade, observou-se interação significativa para número de folhas, comprimento da parte aérea e massa fresca de calos do porta-enxerto de videira 'R110' (Tabela 1). Para o porta-enxerto de

videira ‘VR043-43’ verificou-se interação significativa apenas para comprimento e massa fresca da parte aérea (Tabela 2).

Não foi observada interação significativa para número de folhas de ‘VR043-43’. Com incremento nas concentrações de sulfato de adenina no meio de cultura, houve decréscimo no número de folhas desse porta-enxerto. Na ausência dessa substância, maior número de folhas foi obtida (Figura 1A), embora sem interação significativa.

Tabela 1 Análise de variância para as características número de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca de calos (MFCA) do porta-enxerto de videira ‘R110’. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Fontes de variação	GL	Quadrados médios			
		NF	CPA	MFPA	MFCA
BAP	2	13,31*	101,829*	0,00474 ^{n.s.}	0,03358*
SA	4	46,38*	17,278*	0,00659 ^{n.s.}	0,02202*
BAP x SA	8	5,84*	28,229*	0,00444 ^{n.s.}	0,01519*
Resíduo	45	2,71	1,2344	0,00345	0,0036
CV (%)		25,44	22,87	5,68	38,51

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F; n.s. = não significativo.
SA = sulfato de adenina.

Tabela 2 Análise de variância para as características número de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca de calos (MFCA) do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Fontes de variação	GL	Quadrados médios			
		NF	CPA	MFPA	MFCA
BAP	2	118,49*	0,5954*	0,0062*	0,01319 ^{n.s.}
SA	4	11,069*	0,1469 ^{n.s.}	0,0039*	0,05032*
BAP x SA	8	5,671 ^{n.s.}	0,2330*	0,00187*	0,0027 ^{n.s.}
Resíduo	45	3,673	0,0637	0,0008	0,0076
CV (%)		26,10	13,53	3,75	11,15

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F; n.s. = não significativo.
SA = sulfato de adenina.

Para o regulador de crescimento BAP, maior número de folhas de ‘VR043-43’ foi observado com 1,0 mg L⁻¹ desse regulador (Figura 1B).

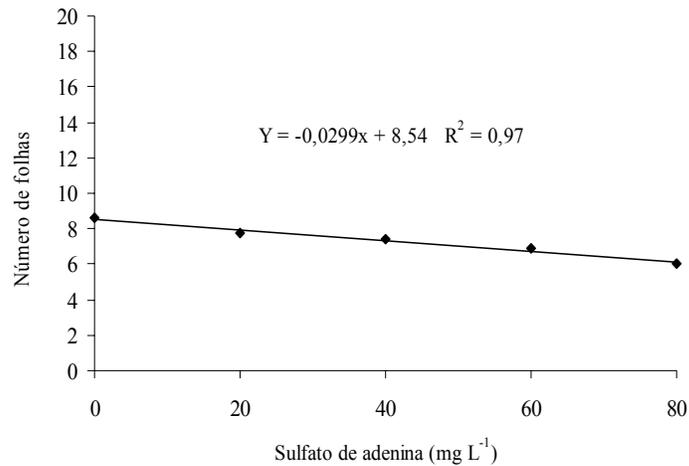


Figura 1A Número de folhas de plantas *in vitro* do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’, influenciado pelas diferentes concentrações de sulfato de adenina. UFLA, Lavras, MG, 2008.

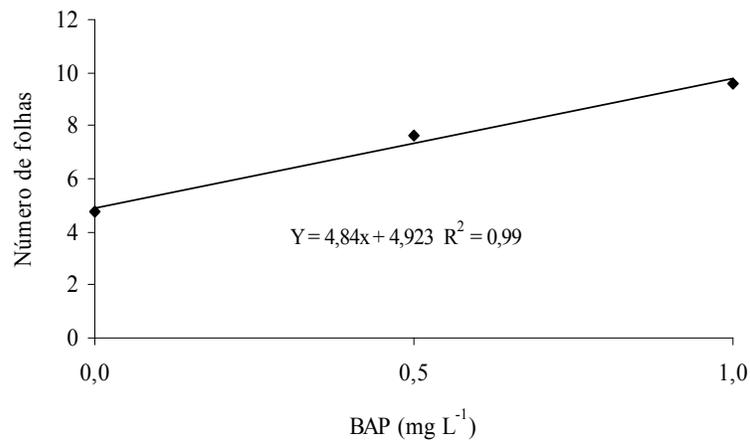


Figura 1B Número de folhas de plantas *in vitro* do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’, influenciado pelas diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Em relação ao porta-enxerto ‘R110’, verificou-se interação significativa para as variáveis estudadas. Pelo teste de variância, na ausência de sulfato de adenina e com a adição de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, resultados significativos foram obtidos. Com incrementos na concentração de sulfato de adenina, decréscimo de forma quadrática no número de folhas foi verificado nesse porta-enxerto (Figura 2). Esta diferença no número de folhas dos porta-enxertos estudados pode estar relacionada à diversidade genética que existe entre as espécies e até mesmo entre as cultivares (Loretti & Piasani, 1982).

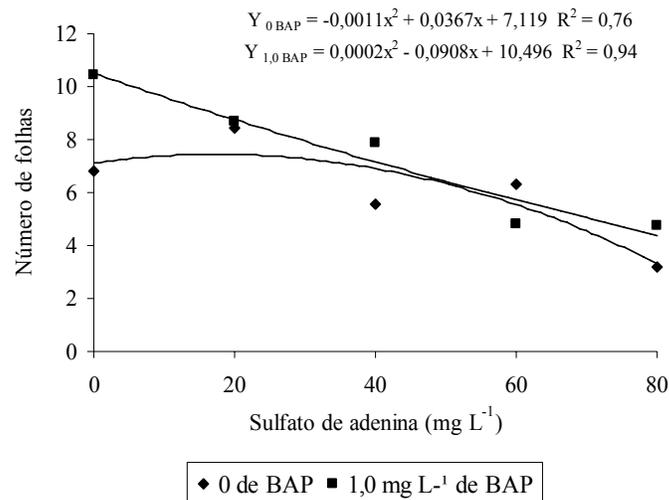


Figura 2 Número de folhas de plantas *in vitro* do porta-enxerto de videira ‘R110’, influenciado por concentrações de BAP e sulfato de adenina. UFLA, Lavras, MG, 2008.

A interação entre BAP e sulfato de adenina mostrou-se significativa para o comprimento da parte aérea dos dois porta-enxertos estudados. Para ‘R110’ e ‘VR043-43’ as concentrações de 0 e $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e 0 mg L^{-1} de BAP foram significativas, respectivamente (Figuras 3A e 3B). Com aumento nas concentrações de sulfato de adenina no meio e ausência de BAP, verificou-se

decréscimo no comprimento de brotos para os dois porta-enxertos, corroborando Machado et al. (2007), que verificou na manutenção dos subcultivos do porta-enxerto ‘VR043-43’, que a adição de BAP não era necessária para a multiplicação dos explantes.

O maior crescimento dos explantes na ausência de BAP pode ser atribuído ao efeito desse fitoregulador na morfogênese *in vitro*, pois o mesmo aumenta a taxa de multiplicação dos explantes, porém reduz o crescimento das brotações (Peixoto & Pasqual, 1996).

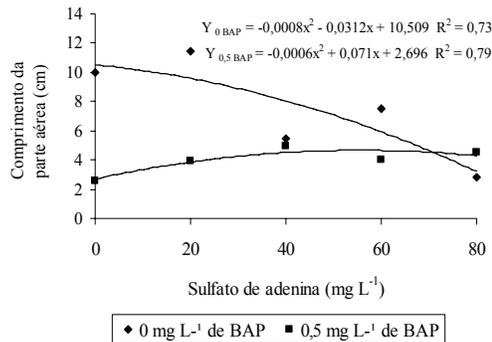


Figura 3A. Comprimento da parte aérea de plantas *in vitro* do porta-enxerto de videira ‘R110’, influenciado por concentrações de sulfato de adenina e BAP. UFLA, Lavras, MG, 2008.

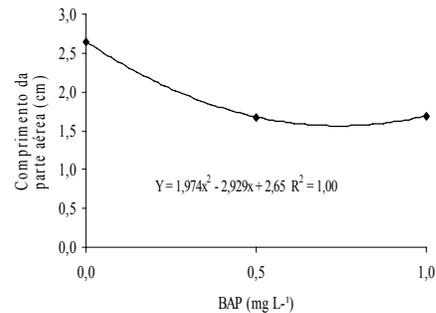


Figura 3B. Comprimento da parte aérea de plantas *in vitro* do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’, influenciado por concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Maiores comprimentos da parte aérea foram observados na ausência de BAP e de sulfato e o aumento nas concentrações de sulfato de adenina teve um efeito inibitório para essa variável estudada. Vários autores afirmaram que o BAP não é responsável pelo alongamento de brotos (Taiz & Zeiger, 1991).

Em trabalhos *in vitro* com ‘VR043-43’, Machado et al. (2006) afirmaram que a citocinina BAP teve efeito negativo na altura das brotações, sendo mais evidente nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg L⁻¹. Na ausência de BAP,

nos quatro subcultivos, a altura em média das brotações foi maior que nas concentrações de 5,0 e 10 μm . A produção de brotações pouco alongadas com a adição de BAP no meio de cultura, também foi observada com as cultivares de videira Thompson Seedless, Sonaka e Tas-e-Ganesh, sendo necessária uma fase de alongamento (Mhatre et al., 2000).

A Tabela 2 mostra que houve interação significativa para massa fresca da parte aérea do porta-enxerto ‘VR043-43’. A ausência e 80 mg L^{-1} de sulfato de adenina associadas à 1,0 mg L^{-1} de BAP mostraram-se eficaz para essa variável estudada (Figura 4). Melhores resultados foram observados na ausência de sulfato de adenina no meio de cultura.

Resultados satisfatórios da adição de sulfato de adenina ao meio de cultivo, melhorando a multiplicação em algumas espécies, são relatados por autores como Schmildt et al. (2007), que recomenda a utilização de 30 mg L^{-1} de sulfato no meio de multiplicação para mamoeiro (*Carica papaya* L.).

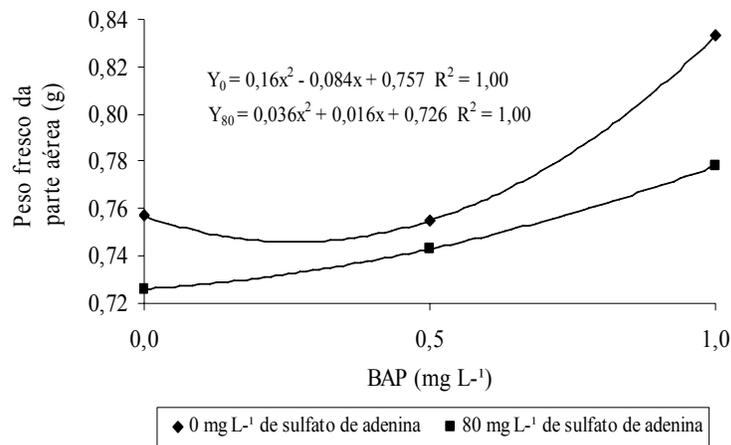


Figura 4. Massa fresca da parte aérea de plantas *in vitro* do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’, influenciado por concentrações de BAP e sulfato de adenina. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Para o porta-enxerto ‘VR043-43’ verificou-se significância na massa fresca de calos apenas para o sulfato de adenina. Com aumento nas concentrações de sulfato obteve-se um decréscimo de forma quadrática na massa fresca de calos desse porta-enxerto (Figura 5A). Houve interação significativa para peso fresco de calos de ‘R110’. Resultados significativos foram observados com a adição de 1,0 mg L⁻¹ de BAP (Figura 5B). Incrementos nas concentrações de sulfato de adenina, acarretaram em decréscimo de forma quadrática na massa fresca de calos desse porta-enxerto.

A formação de calos não é desejada na micropropagação da videira. Provavelmente o meio de cultivo acrescido de 1,0 mg L⁻¹ de BAP e baixas concentrações de sulfato de adenina não sejam adequados para multiplicação *in vitro* de explantes de videira estudados. Em contrapartida, no meio com adição de altas concentrações de sulfato houve menor formação de calos na base dos explantes e conseqüentemente, melhor desempenho dessas brotações e melhor enraizamento *in vitro*.

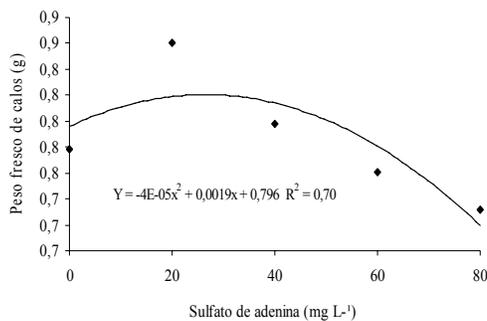


Figura 5A. Massa fresca de calos de plantas *in vitro* do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’, influenciado pelas diferentes concentrações de sulfato de adenina. UFLA, Lavras, MG, 2008.

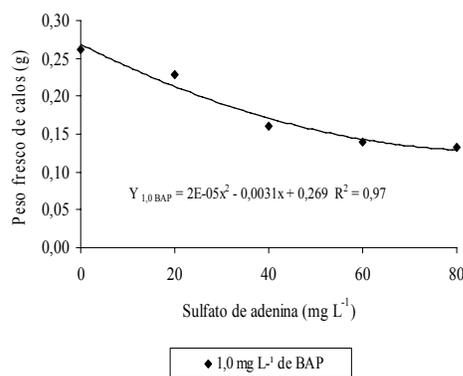


Figura 5B. Massa fresca de calos de plantas *in vitro* do porta-enxerto de videira ‘R110’, influenciado por concentrações de sulfato de adenina e 1,0 mg L⁻¹ de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Devido à falta de informações sobre a influência do sulfato de adenina e sua utilização como fitormônio em frutíferas *in vitro*, torna-se necessário à realização de trabalhos futuros, a fim de elucidar sua real função na estrutura da planta. Na literatura pouco se encontra sobre dados referentes às variedades de videira cultivadas no Brasil. Por isso, torna-se necessário o aprofundamento das pesquisas *in vitro* e os principais efeitos que influenciam o desenvolvimento dessas plantas, como por exemplo, luminosidade, meios de cultivo, genótipos e fitormônios.

4 CONCLUSÃO

Melhores resultados na micropropagação dos porta-enxertos de videira ‘R110’ e ‘VR043-43’ foram obtidos em meio de cultivo sem a adição de sulfato de adenina e com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIASI, L. A. Micropropagação de videiras. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 320-350.

BIASI, L. A.; PASSOS, I. R. S.; POMMER, C. V. Micropropagação do porta-enxerto de videira Jales. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 10, p. 1587-1594, 1998.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/ CNPH, 1998. v. 1, p. 87-132.

CROCOMO, O. J.; CABRAL, J. B. **A biotecnologia no melhoramento de plantas tropicais**. Brasília: Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, 1988. 39p.

DZAZIO, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F. Micropropagação do porta-enxerto de videira '420-A'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 759-764, 2002.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar. 2000. p. 255-258.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 1984. 709p.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Apostila de biotecnologia**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2006. 41 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produtos Agrícolas**. Disponível em: <www.ibge.com.br>. Acesso em: 10 jan. 2008.

JACQUIOT, C. Action du meso-inositol et de l'adenine sur la formation de bourgeons par le tissu cambial d'*Ulmus campestris* cultivé *in vitro*. **Comptes Rendus Academie des Sciences**, Paris, v. 233, p. 815-817, 1951.

KOCHBA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C. H.; KOCHBA, M. Stimulation of rooting of *Citrus* embryoids by gibberellic acid and adenine sulphate. **Annals of Botany**, London, v. 38, n. 157, p. 795-802, 1974.

LORETTI, F.; PIASANI, P. L. Physiological and technical factors affecting rooting in woody species. **International Horticulturae**, v. 1, p. 294-309, 1982.

MACHADO, M. P.; BIASI, L. A.; RITTER, M.; RIBAS, L. L. F.; KOEHLER, H. S. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de videira 'VR043-43' (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 648-655, 2006.

MACHADO, M. P.; BIASI, L. A.; RITTER, M.; RIBAS, L. L. F.; KOEHLER, H. S.; ZANETTE, F. Meios de cultura na micropropagação do porta-enxerto de videira "VR043-43" (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 277-280, 2007.

MHATRE, M.; SALUNKHE, C. K.; RAO, P. S. Micropropagation of *Vitis vinifera* L: towards an improved protocol. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 84, p. 357-363, 2000.

MENEGUCCI, J. L. P.; PINTO, J. E. B. P.; SILVA, C. R. R. Avaliação de um novo regulador de crescimento na micropropagação de cultivares de bananeira (*Musa* sp. AAB). **Ciência e Prática**, Lavras, v. 7, n. 4, p. 318-321, 1993.

PEIXOTO, P. H. P.; PASQUAL, M. Influência da origem dos explantes na multiplicação e no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de videira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, n. 3, p. 293-300, 1996.

SAHA, M.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. *In vitro* culture studies in four dioecious varieties of *Carica papaya* L. using axillary buds from field-grown plants. **Journal of Cell & Tissue Research**, Rajkot, v. 4, n. 2, p. 211-214, 2004.

SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T. Sulfato de adenina na multiplicação *in vitro* de mamoeiro 'Tainung 01'. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 2, p. 141-147, 2007.

SILVA, A. L.; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de Vigne *in vitro*. **Journal International Science of Vigne et Vin**, Bourdeaux, v. 29, p. 1-9, 1995.

TAIZ, L. ; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood City : The Benjamin Cummings, 1991. 559 p.

WETZSTEIN, H. Y.; MYERS, S. C. Vegetative and yield component characteristics of micropropagated muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.). **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 69, n. 4, p. 747-753, 1994.

ARTIGO 2

GLICINA E INOSITOL NO CULTIVO *in vitro* DE PORTA-ENXERTO DE VIDEIRA

**Fabíola Villa¹, Moacir Pasqual¹, Ângelo Albérico Alvarenga²,
Filipe Almendagna Rodrigues¹, Aline das Graças Souza¹,
Ximena Maira de Souza Vilela¹.**

¹Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA),
Lavras, MG. Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000.

E-mail: fvilla2003@libero.it, mpasqual@ufla.br

²EPAMIG, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. Caixa Postal
3037, CEP: 37200-000.

Preparado de acordo com as normas da Revista Ciência e Agrotecnologia

RESUMO

A micropropagação de porta-enxerto de videira é utilizada, entre outros fatores, na obtenção de plantas livres de vírus, em curto espaço de tempo e na preservação de germoplasma. Com o objetivo de aprimorar técnicas de cultivo *in vitro* de videira, testaram-se diferentes concentrações de glicina e inositol, adicionadas ao meio de cultura. Para o porta-enxerto de videira 'Kobber', o meio foi constituído de sais DSD1, acrescido de 20 g L⁻¹ de sacarose e 7 g L⁻¹ de ágar, e o pH ajustado para 6,4, antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos. O experimento com videira consistiu-se de 4 diferentes concentrações de glicina (0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹), 4 de inositol (0; 10; 20 e 40 mg L⁻¹) e suas combinações. Segmentos nodais, oriundos de plântulas preestabelecidas *in vitro* foram excisados e introduzidos em tubos de ensaio contendo 15 mL dos meios de cultivo. Posteriormente, os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento a 25 ± 2°C, irradiância de 32 µmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, utilizando-se de doze plântulas por tratamento. Após 70 dias de cultivo *in vitro*, para o porta-enxerto de videira, melhores resultados foram obtidos na ausência e/ou com baixas concentrações de glicina e concentração de inositol igual à recomendada no meio de cultura DSD1.

Palavras-chave: *Vitis* spp., vitamina, aminoácido, MS, DSD1.

ABSTRACT

The micropropagation of rootstocks is used, among other factors, to obtaining plants virus-free, in short time and in the germoplasm preservation. Aiming to improve the *in vitro* cultivation techniques of grapevine, different glycine and inositol concentrations in the culture medium were tested. To rooststock grapevine 'Kobber', the culture medium was constituted of DSD1, added of 20 g L⁻¹ sucrose and 7 g L⁻¹ agar, and the pH adjusted to 6.4 before the sterilization of 121°C and 1 atm for 20 minutes. The work with grapevine composed of 4 different concentrations of glycine (0; 1.0; 2.0 and 4.0 mg L⁻¹), 4 concentrations of inositol (0; 10; 20 and 40 mg L⁻¹), and its combinations. Nodal segments from *in vitro* plants was excised and introduced into test tubes containing 15 mL of culture medium. After that, the culture tubes were transferred in a growth room to 25 ± 2°C, irradiance of 32 mol m⁻².s⁻¹ and photoperiod of 16 hours. The experiments were settled in a completely randomized design, using twelve explants per treatment. After 70 days of *in vitro* cultivation, better results for the grapevine rootstock were obtained in the absence and/or with low glycine concentrations and the same inositol concentration as recommended in the DSD1 culture medium.

Key-words: *Vitis* spp., vitamin, aminoacid, MS, DSD1.

1 INTRODUÇÃO

A videira é uma fruteira propagada normalmente por via vegetativa. A utilização da micropropagação apresenta vantagens em relação a métodos tradicionais de propagação vegetativa, dentre os quais se destacam a rapidez do processo e a possibilidade de obtenção e manutenção de plantas matrizes livres de vírus (Chalfun et al., 1998; Peixoto & Pasqual, 1996).

Um dos objetivos da micropropagação é a maximização da multiplicação de gemas. Muita atenção para sua obtenção tem sido dada à manipulação de substâncias de crescimento no meio de cultura (Lee & Ko, 1984). Vários meios de cultura têm sido testados e um meio específico é identificado pela composição de sais minerais, enquanto as vitaminas, os reguladores vegetais e outros suplementos orgânicos variam em concentração.

A suplementação de um meio de cultura pode ser realizada pela inclusão de uma proteína hidrolisada. Qualquer efeito benéfico pode ser avaliado pela substituição desta proteína por uma mistura de aminoácidos. Os aminoácidos têm importância na amplificação das respostas morfogênicas, proporcionando maior crescimento e facilitando a diferenciação no sentido da regeneração (Pasqual, 2001).

O crescimento e a morfogenia de plântulas micropropagadas podem ser melhorados com a adição de vitaminas ao meio de cultura. As exigências das células vegetais em vitaminas estão associadas ao tipo de cultura e à espécie (George, 1993). Gonzáles et al. (2000) observaram melhor estabelecimento *in vitro* de mirtilo cv. Berkeley a partir de segmentos nodais, utilizando meio WPM acrescido de vitaminas do MS. Em quatro genótipos de videira estudados verificou-se melhores resultados em meio modificado, com a diminuição de sais e vitaminas do meio de cultivo MS (Zlenko et al., 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes concentrações de glicina e inositol, no cultivo *in vitro* do porta-enxerto de videira 'Kobber 5BB'.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Material vegetal

Segmentos nodais do porta-enxerto de videira (*Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*, cv. Kobber 5BB), com 2 cm de comprimento, oriundos de plântulas preestabelecidas *in vitro* foram excisados e introduzidos em tubo de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura DSD1 (Silva & Doazan, 1995). O meio de cultivo foi acrescido de 20 g L⁻¹ de sacarose e 7 g L⁻¹ de ágar, e o pH foi ajustado para 6,4, antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm por 20 minutos. Posteriormente, os tubos de ensaio contendo os explantes foram transferidos para sala de crescimento, onde as condições de cultivo foram mantidas a 25 ± 2°C, irradiância de 32 μ.mol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas.

Descrição dos tratamentos

O experimento consistiu de diferentes concentrações de glicina (0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹) e de inositol (0, 10, 20 e 40 mg L⁻¹), retiradas do meio MS, em todas as combinações possíveis.

Avaliações

Ao final de 70 dias de cultivo *in vitro*, foram avaliados número de folhas, massa fresca da parte aérea, comprimento da parte aérea, comprimento da maior raiz, número de raízes e massa fresca de calos para a frutífera estudada.

Delineamento experimental

Os dados foram analisados através do software Sisvar (Ferreira, 2000), utilizando regressão polinomial para concentrações de glicina e inositol. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), fatorial 4x4, com quatro repetições constituídas de três explantes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada interação significativa para glicina e inositol separadamente em relação ao número de folhas do porta-enxerto de videira (Figuras 1 e 2). Esses resultados divergem daqueles verificados para número de folhas de amoreira-preta. Para o porta-enxerto de videira, pode-se observar que a quantidade de folhas aumenta gradativamente até o ponto de máxima (11,69) para 1,0 mg L⁻¹ de glicina e diminui até o ponto de máxima (12,54) para 10 mg L⁻¹ de inositol.

Na Figura 1 observa-se que o aumento gradativo nas concentrações de inositol (retiradas do meio de cultivo MS) reduziu a emissão de novas folhas, corroborando assim Silva (2003), Silva et al. (2005), que estudando o crescimento *in vitro* de um híbrido de orquídea, verificou uma redução no número de folhas emitidas em meio Knudson, com o aumento das concentrações de vitaminas do meio MS.

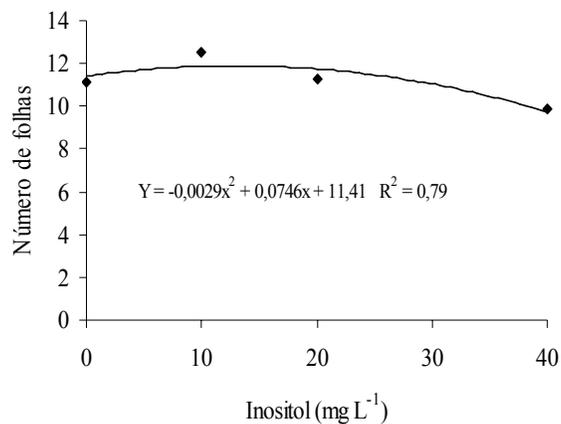


Figura 1. Número de folhas do porta-enxerto de videira ‘Kobber 5BB’, cultivado em diferentes concentrações de inositol. UFLA, Lavras, MG, 2008.

O inositol influencia como catalisador metabólico, o crescimento de órgãos, confirmando sua função de estimular o crescimento geral da plântula (George, 1993). Pode-se inferir que o inositol retirado do meio MS adicionado ao meio de cultura DSD1 não é necessário para promover o aumento do número de folhas do porta-enxerto de videira, ‘Kobber 5BB’.

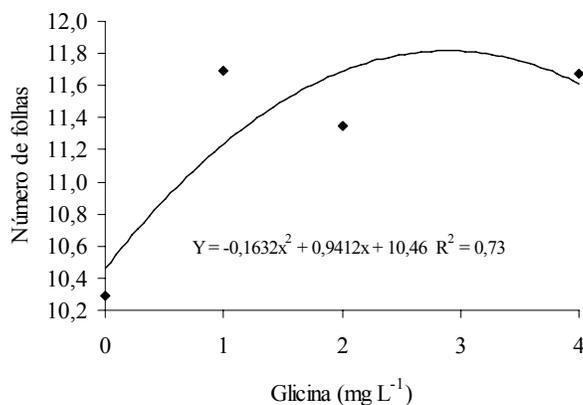


Figura 2. Número de folhas do porta-enxerto de videira ‘Kobber 5BB’, cultivado em diferentes concentrações de glicina. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Gonzáles et al. (2000) observaram melhor estabelecimento *in vitro* de mirtilo cv. Berkeley, a partir de segmentos nodais, utilizando meio WPM acrescido de vitaminas do MS. Em 4 genótipos de videira estudados verificou-se melhores resultados em meio modificado, com a diminuição de sais e vitaminas do meio de cultivo MS (Zlenko et al., 1995).

Concentrações superiores a 20 mg L⁻¹ de inositol promoveram o crescimento do explante, função principal das vitaminas, conforme trabalho de George, 1993.

Na Figura 3, pode-se verificar a interação significativa para o peso da matéria fresca da parte aérea da espécie estudada. Maior peso da matéria fresca da parte aérea do porta-enxerto de videira foi verificado com 20 mg L⁻¹ de inositol, sem a adição de glicina. Evidencia-se assim que, para promover peso da matéria fresca da videira estudada, a glicina do meio MS é inibitória e o inositol é benéfico.

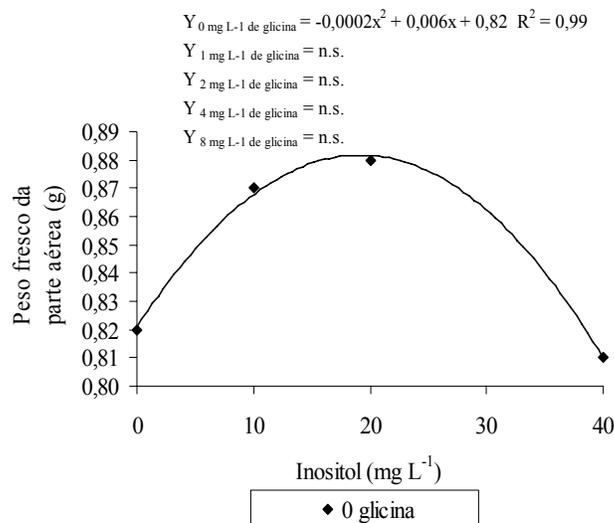


Figura 3. Peso da matéria fresca da parte aérea do porta-enxerto de videira 'Kobber 5BB', cultivado em diferentes concentrações de glicina e inositol. UFLA, Lavras, MG, 2008.

As concentrações de 10 a 40 mg L⁻¹ de inositol e 2 mg L⁻¹ de glicina adicionadas no meio DSD1 influenciaram positivamente de forma linear o comprimento do porta-enxerto de videira (Figura 4). O crescimento geral das plântulas é estimulado pelas vitaminas do meio de cultivo MS, influenciando assim como catalisadores metabólicos (George, 1993).

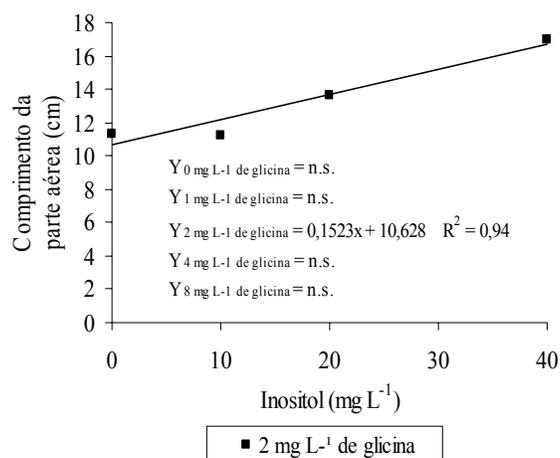


Figura 4. Comprimento da parte aérea do porta-enxerto de videira ‘Kobber 5BB’, cultivado em diferentes concentrações de glicina e inositol. UFLA, Lavras, MG, 2008.

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se inferir que não é necessário a utilização da glicina para obtenção de raízes nas plântulas. O número de raízes do porta-enxerto de videira ‘Kobber 5BB’ não foi significativo para as concentrações de inositol e glicina utilizadas.

Num substrato com deficiência de nutrientes, como é o caso do meio de cultura DSD1, aumentar o comprimento das raízes é uma maneira da plântula buscar os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, mesmo que isto implique em gasto de reservas.

As concentrações de inositol do meio MS influenciaram de maneira positiva o crescimento dessas raízes, até o ponto de máxima (3,83 cm de comprimento e 23,6 mg L⁻¹ de inositol), evidenciando-se que, para promover o crescimento médio do sistema radicular de ‘Kobber 5BB’, o inositol adicionado ao meio de cultivo DSD1 é benéfico (Figura 5).

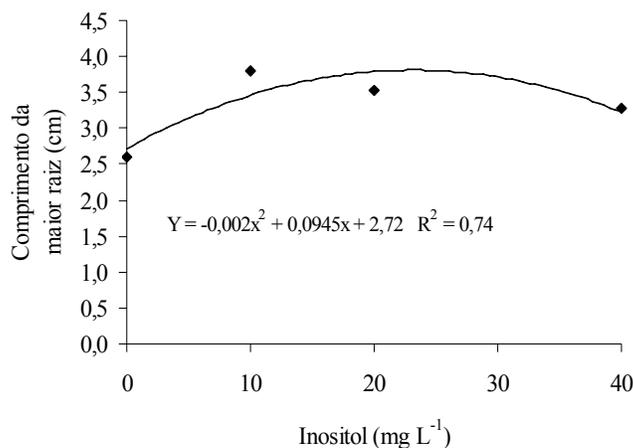


Figura 5. Comprimento da maior raiz do porta-enxerto de videira ‘Kobber 5BB’, cultivado em diferentes concentrações de inositol. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Pode-se observar na Figura 6 uma interação significativa para peso fresco de calos do porta-enxerto estudado, sendo que, verificou-se que o inositol incrementou linearmente o peso da matéria fresca calos com aumento de suas concentrações, na presença de 2,0 mg L⁻¹ de glicina.

A formação de calos não é desejada nesse estudo, pois pode favorecer o surgimento de variação no genótipo. Provavelmente a glicina e o inositol do meio MS não sejam adequados para a micropropagação do porta-enxerto de videira ‘Kobber 5BB’, pois proporcionou calos mesmo na ausência de ambos.

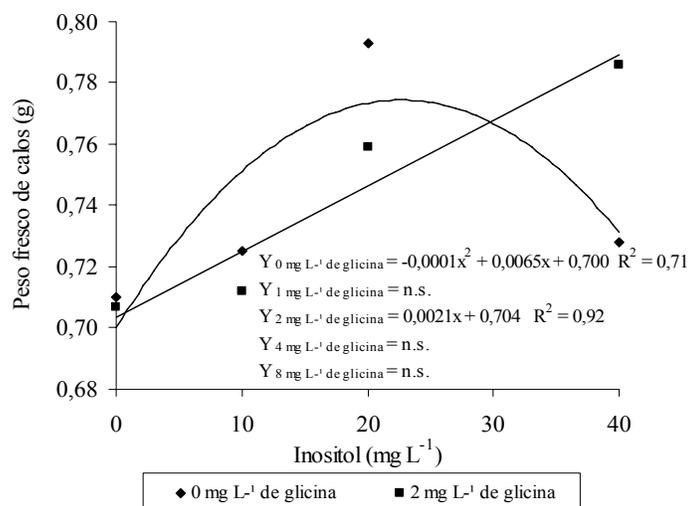


Figura 7B. Peso fresco de calos do porta-enxerto de videira ‘Kobber 5BB’, cultivado em diferentes concentrações de glicina e inositol. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Kintzios et al. (2000, 2001) observaram em um estudo com folhas de rosa (*Rosa hybrida*) e de *Capsicum annuum* que, na presença de 100 mg L⁻¹ de inositol um maior crescimento de calos foi obtido. Esses verificaram também que a glicina a 0,1 mg L⁻¹ foi a menos favorável para o mesmo crescimento e proliferação de embriões somáticos de *C. annuum*.

4 CONCLUSÃO

Para o ‘Kobber 5BB’, melhores resultados são obtidos na ausência e/ou com baixas concentrações de glicina e concentração de inositol igual à recomendada no meio de cultura DSD1 (10 mg L⁻¹).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHALFUN, N. N. J.; PASQUAL, M.; HOFFMANN, A. **Fruticultura comercial**: frutíferas de clima temperado. Lavras: UFLA/FAEPE, 1998. v. 7, 304p.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar. 2000. p. 255-258.

GEORGE, E.F. (Ed.). **Plant propagation by tissue culture. Part 1** – The Technology. 2.ed. Edington: Exegetics, 1993. 574p.

GONZALES, M. V.; LOPEZ, M.; VALDES, A. E.; ORDAS, R. J. Micropropagation of three berry fruit species using nodal segments from field-grown plants. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 137, p. 73-78, 2000.

KINTZIOS, S.; DROSSOPOULOS, J. B.; LYMPEROPOULOS, C. Effect of vitamins and inorganic micronutrients on callus growth and somatic embryogenesis from young mature leaves of rose (*Rosa hybrida*). **Journal Plant of Nutrition**, v. 23, n. 10, p. 1407-1420, 2000.

KINTZIOS, S.; DROSSOPOULOS, J. B.; LYMPEROPOULOS, C. Effect of vitamins and inorganic micronutrients on callus growth and somatic embryogenesis from leaves of chilli pepper. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 27, p. 55-62, 2001.

LEE, H. J.; KO, K. C. Effects of culture media and plant hormones on shoot tip culture of Fuji apple cultivar (*Malus domestica*). **Seoul National University Journal of Agricultural Sciences**, Seoul, v. 9, n. 1, p. 67-77, 1984.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais**: tecnologia e aplicações: meios de cultura. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74p.

PEIXOTO, P. H. P.; PASQUAL, M. Influência da origem dos explantes na multiplicação e no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de videira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, n. 3, p. 293-300, 1996.

SILVA, A. L.; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de Vigne *in vitro*. **Journal International of Science des Vigne et du Vin**, v. 29, p. 1-9, 1995.

SILVA, E. F. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassiocattleya Pastoral* x *Laeliocattleya Amber Glow***. 2003. 62p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, E. F.; PASQUAL, M.; PAIVA, P. D. O.; SANTANA, J. R. F.; PEREIRA, A.B. Polpa de banana e vitaminas do meio MS no cultivo *in vitro* de orquídea. **Plant Cell Culture Micropropagation**, Lavras, v. 1, n. 1, p. 8-12, 2005.

ZLENKO, V. A.; TROSHIN, L. P.; KOTIKOV, I. V. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine. **Vitis**, v. 34, n. 2, p. 125-126, 1995.

ARTIGO 3

SELEÇÃO FENOTÍPICA DE PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA PARA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO, CULTIVADOS EM SOLUÇÃO NUTRITIVA

Fabíola Villa¹; Ângelo Albérico Alvarenga²;
Moacir Pasqual; Geraldo Magela de Almeida Cançado⁴;
Franscinely Aparecida de Assis³; Gleice Aparecida de Assis¹

¹Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA),
Lavras, MG. Caixa Postal: 3037, CEP: 37200-000.

²Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epmig), Lavras, MG.
Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000.

³Departamento de Entomologia (DEN), Universidade Federal de Lavras
(UFLA), Lavras, MG. Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000.

⁴Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Empresa de Pesquisa Agropecuária de
Minas Gerais (EPAMIG), Caldas, MG. Caixa Postal 33, CEP: 37800-000.

Preparado de acordo com as normas da Revista Ciência e Técnica Vitivinícola

RESUMO

O Brasil tem 20% do seu território ocupado com solo de cerrado no qual a elevada acidez e a toxicidade pelo alumínio dificultam a sua utilização para cultivo. Objetivaram-se, com a realização deste trabalho, avaliar oito porta-enxertos de videira quando submetidos a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva, com a finalidade de selecionar os genótipos mais tolerantes ao alumínio. As estacas dos porta-enxertos de videira, com comprimento de 30cm, foram mantidas por 30 dias em câmara fria. Após esse período, foram hidratadas com água + AIB, por 24 horas na concentração de 2000 mg L⁻¹, sendo colocadas posteriormente para enraizar em vermiculita + areia (1:1), durante 60 dias e, a seguir, transferidas para os vasos com volume de 3,5 L, nos quais estava a solução nutritiva. As estacas dos genótipos: 'Gravesac', 'IAC766', '420A', 'IAC572', 'RR101-14', 'Kobber 5BB', '1045P' e '1103P' foram submetidas aos seguintes tratamentos de alumínio (0, 10, 20 e 40 mg L⁻¹ de Al). Após 40 dias de cultivo, foram avaliados comprimento da parte aérea, peso seco da parte aérea, comprimento do sistema radicular, peso seco do sistema radicular e peso seco da estaca. O delineamento experimental utilizado foi o DIC, em esquema fatorial 8x4 com 5 repetições, perfazendo um total de 160 parcelas experimentais. Maior comprimento da parte aérea é obtido pelo genótipo 'IAC766', na ausência de alumínio e pelo genótipo '420A', com a dosagem de 40 mg L⁻¹. Maior comprimento do sistema radicular é obtido pelo genótipo Gravesac, na dosagem de 10 mg L⁻¹. Quanto ao peso da matéria seca do sistema radicular, o '1045P' mostra-se pouco sensível na dosagem de 10 mg L⁻¹. As cultivares IAC572, IAC766 e 1103P apresentam crescimento do sistema radicular semelhante na ausência ou na presença do alumínio, o que faz supor uma boa resistência à toxicidade deste elemento.

Palavras-chave: *Vitis* spp., toxicidade, sistema radicular.

ABSTRACT

Brazil presents 20% of this territory occupied with savannah soil, that due to your high acidity and toxicity for the aluminum hinder your use for cultivation. It was aimed at with this work to evaluate eight grapevine rootstock when submitted at different levels of aluminum in nutrition solution, with the purpose of selecting the most tolerant genotype to the aluminum. The grapevine rootstock with 30cm length were maintained by 30 days in cold camera. After this period they were moisturized with water + AIB for 24 hours in the concentration of 2000 mg L⁻¹, being placed later to take root in vermiculite + sands (1:1) for 60 days and to proceed transferred for the vases with 3.5L of volume where the nutrition solution was contained. The genotype 'Gravesac', 'IAC766', '420A', 'IAC572', 'RR101-14', 'Kobber 5BB', '1045 P' and '1103P' were submitted to the following treatments of aluminum (0, 10, 20 and 40 mg L⁻¹ Al). After 40 days of cultivation were appraised the lengths of the aerial part, dry weight of the aerial part, length of the radicular system, dry weight of the radicular system and dry weight of the rootstock. The experimental designed was DIC in factorial 8x4 with 5 repetitions with 160 experimental portions. The largest length of the aerial part is obtained by the genotype 'IAC766' in the absence of aluminum, and for the genotype '420A' with the 40 mg L⁻¹. Larger dry weight of the aerial part and weigh dry of the rootstock 'IAC572' is obtained with 40 mg L⁻¹. The largest length of the radicular system was obtained by the 'Gravesac' with 10 mg L⁻¹. With relationship to the dry weight of the radicular system of the '1045 P' shown a little sensitive in the concentration of 10 mg L⁻¹. The cvs. 'IAC572', 'IAC766' and '1103P' presente a similar growth of the radicular system in the absence or presence of aluminum, the one that does suppose a good resistance to the toxicity of this element.

Key-words: *Vitis* spp., toxicity, radicular system.

1 INTRODUÇÃO

A videira (*Vitis* spp.) está entre as frutíferas mais cultivadas no mundo. No Brasil, a produção concentra-se nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste. Os estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Pernambuco, Paraná, Bahia, Santa Catarina e Minas Gerais são os principais produtores (Camargo, 1998).

O uso de porta-enxertos na viticultura é comum há mais de cem anos, porém, as características a serem selecionadas dependem das condições intrínsecas de cada local ou região, em adição à resistência à filoxera (Sousa, 1996). Nos últimos anos, o Brasil tem se destacado no desenvolvimento de novos porta-enxertos, mais adaptados às suas condições de clima e solo. Neste segmento, foram criados e introduzidos novos porta-enxertos, visando atender a condições como seca, calor, resistência à fitotoxicidade ao alumínio e acidez do solo, colocando o país em condição de destaque, no que se refere à viticultura.

O território brasileiro apresenta 20% de sua área ocupada com solos de cerrado que, apesar de possuírem boas propriedades físicas, como profundidade e relevo plano, deixam a desejar no aspecto químico, por serem ácidos, sendo sujeito à toxicidade do alumínio. Hamel et al. (1998) estimam que 78,4% das terras cultivadas sejam compostas de solos ácidos, impossibilitando a exploração viável da maioria das culturas.

A toxidez de alumínio (Al) é um fator importante e limitante da produção agrícola em solos tropicais e subtropicais do mundo (Adams & Pearson, 1967), sendo particularmente severa em pH abaixo de 5,0. Para cada espécie, o pH crítico das concentrações tóxicas depende de vários fatores do solo, como os minerais argilosos predominantes, o nível de matéria orgânica e as concentrações de outros cátions, ânions e sais totais (Fageria, 1999), sendo o fator mais importante para o controle do Al^{+3} solúvel e trocável dos solos (Costa, 1995). Os principais sintomas de toxicidade pelo alumínio ocorrem no

sistema radicular, gerando redução da divisão celular, diminuindo o alongamento radicular, deixando as raízes curtas, grossas, quebradiças e com cor amarronzada, interferindo na absorção, no transporte e na utilização dos nutrientes (Foy, 1974).

Uma alternativa para contornar o problema de toxidez é a neutralização, pelo menos em parte, do Al trocável da solução do solo pela aplicação de calcário. O uso de genótipos mais tolerantes a altos níveis de Al^{+3} pode ser uma solução complementar à calagem. Numerosos estudos têm sido realizados com a utilização de solução nutritiva e amplamente relatados, com o intuito de determinar a tolerância de espécies ou de variedades ao Al. Dantas et al. (2001), estudando 18 somaclones e 3 porta-enxertos de macieira mantidos em solução nutritiva com Al, concluíram que algumas plantas mostraram-se bem sensíveis, outras moderadamente tolerantes e ainda, outras, tolerantes às concentrações de Al empregadas.

Porém, para frutíferas de clima temperado, especialmente a videira, os dados ainda são muito insípidos. No Brasil, em experimentos com porta-enxertos de videira em solo, realizados por Fráguas (1999), concluiu-se que ‘R99’, ‘Rupestris du Lot’, ‘Kobber 5BB’ e a produtora ‘Isabel’ (que já foi usada como porta-enxerto) foram os mais sensíveis ao Al e o ‘1103P’, ‘RR101-14’ e ‘196-17Cl’ foram os mais tolerantes. Alvarenga (2001), realizando experimento em casa de vegetação, verificou que os porta-enxertos ‘IAC572’ e ‘Gravesac’ foram os mais tolerantes ao Al e o ‘Kobber 5BB’ foi o mais sensível. Tecchio et al. (2005) avaliaram diversas variáveis fisiológicas em dois porta-enxertos de videira cultivados em solução nutritiva com a adição de alumínio.

Várias metodologias vêm sendo desenvolvidas pelos programas de melhoramento genético, na tentativa de identificar ou obter constituições genéticas tolerantes a este íon metálico. A avaliação em campo para reação ao alumínio tóxico é a mais utilizada pelos melhoristas, porém, pode ser detectada

também por meio de diferentes parâmetros em testes de casa de vegetação e laboratório, empregando-se soluções nutritivas (Sánchez-Chacón et al., 2000; Silva et al., 2004; Malavolta, 2006; Finatto et al., 2007).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar as respostas de oito porta-enxertos de videira quando submetidos a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva, com a finalidade de selecionar os genótipos mais tolerantes à toxidez desse elemento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Local de montagem do experimento

O experimento foi realizado em 2005, na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), localizada no campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

Material vegetal

As estacas lenhosas de 1 ano foram coletadas a partir de plantas matrizes adultas, em perfeitas condições de vigor e sanidade, sendo conservadas com adequado teor de umidade, embaladas em câmara fria ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) para a quebra de dormência até o momento do plantio (30 dias). Dos porta-enxertos empregados, sete ('IAC766', '420A', 'IAC572', 'RR101-14', 'Kobber 5BB', '1045P' e '1103P') foram trazidos da Epamig de Caldas, MG. Apenas o 'Gravesac' foi oriundo da Embrapa Uva e Vinho de Bento Gonçalves, RS.

No dia anterior ao plantio, as estacas foram preparadas com um tamanho de 30cm, por meio de um corte reto na base e outro em bisel na parte superior, distante 2 cm da última gema. Estas estacas foram colocadas com a base na água por 24 horas, com a finalidade de promover sua reidratação.

Tratamento das estacas

Após o período de quebra de dormência, as estacas foram hidratadas em água + ácido indolbutírico (AIB), por 24 horas, na concentração de 2.000 mg L^{-1} , para que essa auxina pudesse estimular o enraizamento. Após este tratamento, foram enraizadas em casa de vegetação, em substrato a base de vermiculita + areia lavada grossa (1:1). Após 60 dias os genótipos foram transferidos para os vasos com solução nutritiva. A irrigação dos vasos + estacas foi feita diariamente e manualmente. Procurou-se manter a umidade dentro da melhor condição para o desenvolvimento das plantas.

O controle das ervas daninhas, durante a fase de enraizamento (areia + vermiculita) foi feito manualmente, sempre que necessário, enquanto o controle das doenças fúngicas foi preventivo, utilizando-se o Mancozeb. Não foi observada a ocorrência de pragas. As demais adubações foram realizadas conforme indicado para a cultura (Comissão ..., 1999).

Plantio das estacas

Os vasos com capacidade de 3,5 L de volume foram pintados externamente com tinta à base de alumínio para que adquirissem coloração opaca, com o objetivo de aumentar a reflexão da luz solar e diminuir o aquecimento da solução nutritiva no interior dos vasos (Figura 1).

Em seguida, as oito estacas foram colocadas nos vasos com a solução nutritiva, contendo apenas 1/3 da concentração padrão (Tabela 1). As estacas foram mantidas na posição vertical, tendo como suporte o isopor (Figura 2).



Figura 1. Detalhe do plantio das estacas de videira em vasos com capacidade de 3,5 L, pintados com tinta à base de alumínio. UFLA, Lavras, MG. 2008.



Figura 2. Detalhe do plantio vertical das estacas de videira em vasos, tendo como suporte o isopor. UFLA, Lavras, MG. 2008.

Solução nutritiva

A solução nutritiva utilizada foi a de Furlani & Furlani (1998), modificada por Santos (1998), conforme Tabela 1.

Tabela 1. Composição da solução nutritiva de acordo com Furlani & Furlani (1998), FCAV/UNESP, Botucatu, SP, 2003.

Macronutrientes (mg L ⁻¹)						
NNO ⁻³	NNH ⁺⁴	P	K	Ca	Mg	S
147,9	18,0	1,0	86,1	140,0	21,0	17,6
Micronutrientes (mg L ⁻¹)						
Fe	B	Cu	Mn	Zn	Mo	Cl
5,0	0,5	0,02	0,5	0,05	0,001	19,5

Após dez dias do plantio das estacas, a solução foi trocada por outra com 1/2 da força e, depois de mais 10 dias, foi realizada a última troca com 100% de força. Somente após a última troca de solução foram adicionados os devidos tratamentos de alumínio (Tabela 2).

Tabela 2. Tratamentos referentes às doses de alumínio aplicadas aos porta-enxertos de videira cultivados em solução nutritiva. Epamig, UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	Alumínio (mg L ⁻¹)	mL da solução
1	0	0,00
2	10	0,33
3	20	0,66
4	40	1,33

Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 8x4, combinando os porta-enxertos e os níveis de alumínio, com 5 repetições, num total de 160 parcelas experimentais. O software empregado para a avaliação dos dados experimentais foi o Sisvar (Ferreira, 2000), utilizando-se regressão polinomial para as variáveis qualitativas.

Avaliações

Após 40 dias de cultivo, foram avaliados o comprimento e o peso da matéria seca da parte aérea, comprimento e peso da matéria seca do sistema radicular. O comprimento do sistema radicular foi avaliado por meio da metodologia proposta por Tennant (1975).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, verificou-se, pelo teste F, a 5% de probabilidade, interação significativa para todas as variáveis estudadas (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância para comprimento da parte aérea (CPA), peso da matéria seca da parte aérea (PMSPA), comprimento do sistema radicular (CSR), peso da matéria seca do sistema radicular (PMSSR) e peso da matéria seca da estaca (PMSE). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Fontes de variação	GL	Quadrados médios				
		CPA	PSPA	CSR	PSSR	PSE
Conc. de Al	3	864,18*	17,21*	223900,12	23,62*	15,67*
Genótipos	7	6948,74*	239,24*	1172881,82*	14,49*	43,84*
Al x Gen.	21	1012,98*	11,64*	535079,09*	7,92*	5,47*
Erro	128	163,80	3,51	140888,61	3,12	3,01
CV (%)		36,25	39,84	33,35	47,08	32,56

Conc. = concentrações; Al = alumínio; Gen. = genótipos

*Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Comprimento da parte aérea

Visualmente, verificou-se a presença de internódios mais curtos e folhas menores, em todos os porta-enxertos de videira estudados (Figura 3). De acordo com Marschner (1986), o Al pode afetar diretamente a absorção do P através de

formação de complexo que se precipita na forma de fosfato de alumínio na superfície da raiz, podendo afetar também o desenvolvimento da parte aérea.



Figura 3. Detalhe dos internódios curtos e folhas menores em porta-enxerto de videira '1045P', cultivado em solução nutritiva, na presença de concentrações de Al (mg L^{-1}). UFLA, Lavras, MG. 2008.

A análise estatística entre os porta-enxertos de videira detectou diferenças entre a tolerância dos mesmos ao estresse provocado pelo alumínio, tendo somente os porta-enxertos 'IAC766' e '420A' demonstrado ser menos sensíveis aos efeitos do alumínio, apresentando, em média, 92,5 cm e 63,3 cm de altura, quando submetidos às dosagens de 0 e 40 mg L^{-1} , respectivamente. Entretanto, as cultivares 1045P, Gravesac, IAC572, Kobber, 1103P e RR101-14 mostraram-se indiferentes em relação à presença ou à ausência de alumínio na solução nutritiva em relação ao comprimento da parte aérea (Figura 4).

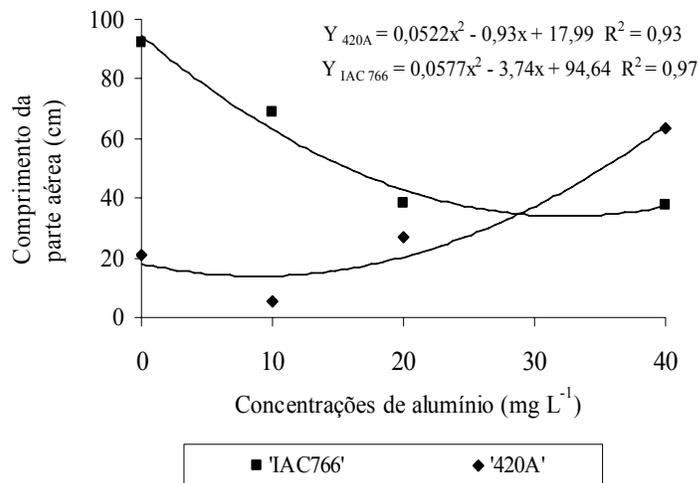


Figura 4. Comprimento da parte aérea em porta-enxertos de videira, com diferentes concentrações de Al. Epamig, UFLA, Lavras, MG, 2008.

Fráguas et al. (1989), comparando os genótipos SO4, RR101-14, 420A, 161-49Cl e Kobber 5BB em relação à presença de alumínio no solo, verificaram maior crescimento em altura de 'Kobber 5BB'. Porém, em outro estudo, Fráguas (1999), comparando treze porta-enxertos de videira, verificou que existia uma superioridade do genótipo 'RR101-14' em relação à 'Kobber 5BB', imprimindo maior altura da planta, quando submetida à presença de alumínio no solo.

Veloso et al. (1995), trabalhando com pimenteiras do reino (*Piper nigrum*), verificaram que a relação parte aérea/raiz não foi afetada pela adição de Al na solução, mostrando, com isso, que o efeito do alumínio foi homogêneo na planta inteira. Em contrapartida, Helyar (1978) afirma que as doses crescentes de alumínio causam um declínio exponencial na produção da parte aérea. Quando se usam espécies mais tolerantes, nota-se um estímulo na produção em baixas doses de alumínio, mas o declínio volta a aparecer em altas doses.

Peso da matéria seca da parte aérea

Observou-se efeito positivo do alumínio para o genótipo 1045P até a dosagem de 20 mg L⁻¹. O '420A' mostrou crescimento contínuo, atingindo, na dose de 40 mg L⁻¹, 6,51g de peso da matéria seca. Já o porta-enxerto 'IAC572' apresentou o maior peso da matéria seca da parte aérea. Porém, seu comportamento não foi constante, como pode ser verificado na Figura 5.

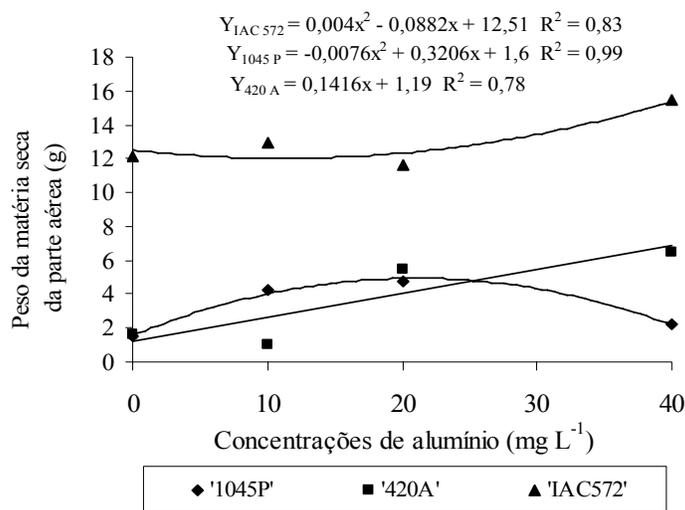


Figura 5. Peso da matéria seca da parte aérea em porta-enxertos de videira, com diferentes concentrações de Al. Epamig, UFLA, Lavras, MG, 2008.

Resultados semelhantes foram observados por Alvarenga (2001) que, estudando cinco diferentes porta-enxertos de videira, verificou um maior peso da matéria seca da parte aérea do genótipo IAC572.

Comprimento do sistema radicular

Segundo Cambraia et al. (1991), o alumínio afeta, principalmente, o sistema radicular das plantas cultivadas. O genótipo Gravesac, mesmo apresentando interação significativa com as concentrações de alumínio, expressou comportamento decrescente do sistema radicular a partir de

10 mg L⁻¹, demonstrando ser sensível às maiores dosagens do alumínio em solução nutritiva (Figura 6).

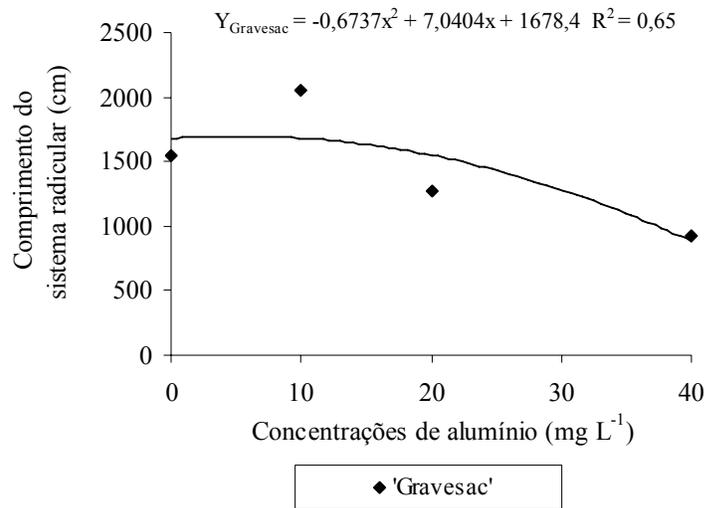


Figura 6. Comprimento do sistema radicular de porta-enxertos de videira, com diferentes concentrações de Al. Epamig, UFLA, Lavras, MG, 2008.

Outro sintoma da toxicidade de Al detectado no sistema radicular foi o aumento do número de raízes laterais. É provável que o efeito tóxico do Al na destruição das células meristemáticas da raiz principal altere a produção de hormônios que controlam o crescimento da parte apical (Foy, 1974). Segundo Rengel (1992), o Al promove a redução da síntese e do transporte de citocininas nos meristemas da raiz, alterando a direção do movimento acrópeto em vez do basípeto e aumentando os níveis de ácido abscísico. A perda da dominância apical manifestou-se pela proliferação de raízes laterais dos porta-enxertos aqui estudados. Resultados similares foram também observados em porta-enxertos somaclonais de macieira cultivados em solução nutritiva, na presença de diferentes níveis de Al (Dantas et al., 2001).

O Al acumula-se, preferencialmente, no sistema radicular das plantas, translocando-se em pequenas quantidades para a parte aérea. Esse fato justifica o efeito notável desse íon sobre o sistema radicular, constatado, principalmente, no porta-enxerto 'Gravesac'. Massot et al. (1992) consideram que um dos principais efeitos do Al é a inibição do crescimento das raízes, que se tornam curtas e grossas. Essa característica, por sinal, serve como o melhor indicador para se avaliar a tolerância ao Al, em solução nutritiva, entre cultivares de diversas espécies.

Peso da matéria seca do sistema radicular

O genótipo '1045P' demonstrou ser menos sensível ao alumínio, quando comparado com os demais genótipos, apresentando comportamento de forma quadrática. Os melhores resultados foram obtidos com a dosagem de 10 mg L^{-1} , quando obtiveram-se 5,68 g (Figura 7).

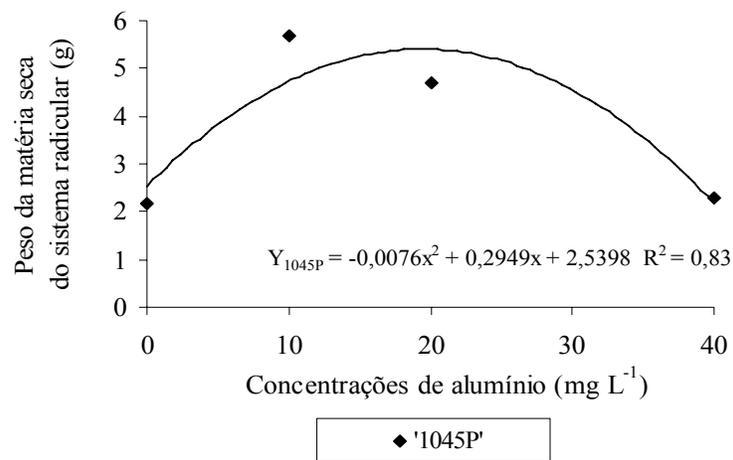


Figura 7. Peso da matéria seca do sistema radicular em porta-enxertos de videira, com diferentes concentrações de Al. Epamig, UFLA, Lavras, MG, 2008.

Segundo Nascimento et al. (1997), raízes de plantas que apresentam danos quando expostas ao Al não mantêm a capacidade de assimilação dos nutrientes necessários para a produção de matéria seca, como verificado para o porta-enxerto '1045P'.

Veloso et al. (1995), trabalhando com pimenteiras do reino (*Piper nigrum*), verificaram que a relação parte aérea/raiz não foi afetada pela adição de Al na solução, mostrando, com isso, que o efeito do alumínio foi homogêneo na planta inteira. Em contrapartida, Helyar (1978) afirma que o aumento das doses de Al causam um declínio exponencial na produção da parte aérea. Quando se usam espécies mais tolerantes, nota-se um estímulo na produção em baixas doses de Al, mas o declínio volta a aparecer em altas doses.

Embora a presença do Al no tecido vegetal cause danos fisiológicos e bioquímicos por vezes irreversíveis e intrinsecamente relacionados ao crescimento de plantas (Pegtel, 1986), os resultados obtidos na matéria seca das estacas de 'IAC572' sugerem que o efeito do Al sobre ela pode estar relacionado à própria absorção dos nutrientes.

4 CONCLUSÕES

Maior comprimento da parte aérea é obtido pelo genótipo 'IAC766', na ausência de alumínio e pelo genótipo '420A', com a dosagem de 40 mg L⁻¹.

Maior comprimento do sistema radicular é obtido pelo genótipo Gravesac, na dosagem de 10 mg L⁻¹. Quanto ao peso da matéria seca do sistema radicular, o '1045P' mostra-se pouco sensível na dosagem de 10 mg L⁻¹.

As cultivares IAC572, IAC766 e 1103P apresentam crescimento do sistema radicular semelhante na ausência ou na presença do alumínio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, A. A. **Avaliação de cultivares porta-enxertos e produtoras de videira (*Vitis* spp.) em condições de solos ácidos e alumínio.** 2001. 153p. Tese (Doutorado em Agronomia. Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ADAMS, F.; PEARSON, R. W. Crop response to lime in the Southern United States and Puerto Rico. In: PEARSON, R. W.; ADAMS, F. Soil acidity and liming. Madison: American Society of Agronomy, 1967. p. 161-206.
- CAMARGO, U. A. Cultivares para a viticultura tropical no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 194, p. 15-19, 1998.
- CAMBRAIA, J.; SILVA, M. A.; CANO, M. A. O.; SANTANA, R. Método simples para avaliação de cultivares de sorgo quanto à tolerância ao alumínio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3, n. 2, p. 87-96, 1991.
- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação.** Viçosa, MG: 1999. 359p.
- COSTA, M. C. R. **Comparação de seis cultivares de milho submetidos a níveis de alumínio em solução nutritiva.** 1995. 165 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- DANTAS, A. C. M.; FORTES, G. L. R.; SILVA, J. B.; NEZI, A. N.; RODRIGUES, A. C. Tolerância ao alumínio em porta-enxertos somaclonais de macieira cultivados em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 4, p. 615-623, 2001.
- FAGERIA, N. K. Adubação e calagem. In: VIERIA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANT'ANA, E. P. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**, Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA-CNPAP, 1999. p. 329-353.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar. 2000. p. 255-258.

FINATTO, T.; SILVA, J. A. G.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; VALÉRIO, I. P.; REIS, C. E. S.; RIBEIRO, G.; SILVEIRA, G.; FONSECA, D. A. R. Reação da tolerância de genótipos de aveia branca a concentração de alumínio em solução nutritiva. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 19, n. 1, p. 7-15, 2007.

FOY, C. D. Effects of aluminum on plant growth. In: CARSON, E. W. (Ed.). **The plant roof and its environment**. Charlottesville: University of Virginia, 1974. p. 601-642.

FRÁGUAS, J. C. Tolerância de porta-enxerto de videira ao alumínio do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 7, p. 1193-1200, 1999.

FRÁGUAS, J. C.; AMARAL, F. A. L.; BRAGA, J. M.; CARDOSO, A. A. Tolerância de porta-enxertos de videira (*Vitis* spp.) à saturação de alumínio. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 36, n. 203, p. 13-26, 1989.

FURLANI, A. M. C.; FURLANI, P. R. Composição e pH de soluções nutritivas para estudos fisiológicos e seleção de plantas em condições adversas. **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo**, Campinas, n. 121, p. 21-26, 1998.

HAMEL, F., BRETON, C., HOUDE, M. Isolation and characterization of wheat aluminum-regulated genes: possible involvement of aluminum as a pathogenesis response elicitor. **Planta**, Heidelberg, v. 205, p. 531-38, 1998.

HELYAR, K. R. Effects of aluminum and manganese toxicity on legume growth. In: ANDREW, C. S.; KAMPRATH, E. J. (Ed.) Mineral nutrition of legumes in tropical and subtropical soils. Melbourne: CSIRO, 1978. p. 207-231.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo. Ceres. 2006. 638 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic, 1986. 674p.

MASSOT, N.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÒ, J. Differential response of three bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars to aluminum. **Acta Botanica Neerlandica**, Stuttgart, v. 41, p. 293-298, 1992.

NASCIMENTO, C. W. A.; SOUZA, JR. J. O.; MARTINEZ, H. E. P.; TEIXEIRA, P. R. G.; FONTES, P. C. R. Absorção de P e Al em cafeeiro (*Coffea arabica*) cultivado em solução nutritiva com sistema radicular parcialmente submetido à doses de alumínio. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 44, n. 253, p. 331-338, 1997.

PEGTEL, D. M. Responses of plants to Al, Mn and Fe, with particular reference to *Succisa pratenses* Moench. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 43, p. 43-55, 1986.

RENGEL, Z. Role of calcium in aluminium toxicity. **New Phytologist**, Cambridge, v. 121, p.499-513, 1992.

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

SANTOS, C. H. **Influência de diferentes níveis de alumínio no desenvolvimento de dois porta-enxertos cítricos em cultivo hidropônico**. 1998. 134p. Dissertação (Mestrado em Horticultura) - Universidade Estadual Paulista, Unesp, Botucatu, SP.

SILVA, J. A. G.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; SILVA, S. A.; MARCHIORO, V. S.; LORENCETTI, C.; BENIN, G.; SCHIMDT, D. A. M.; HARTWIG, I. Trigos dihaplóides com potencial para tolerância a toxicidade ao alumínio e a sensibilidade ao ácido giberélico em cultivo hidropônico. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 37-41, 2004.

SOUSA, J. S. I. **Uvas para o Brasil**. Piracicaba: FEALQ, 1996.

TECCHIO, M. A.; PIRES, E. J. P.; FILHO, H. G.; BRIZOLA, R. M. O.; VIEIRA, C. R. Y.; TERRA, M. M. Avaliação de variáveis fisiológicas em porta-enxertos de videira cultivados em solução nutritiva com a adição de alumínio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 274-283, 2005.

TENNANT, D. A teste of modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 63, n. 3, p. 995-1001, 1975.

VELOSO, C. A. C.; MURAOKA, T.; MALAVOLTA, E.; CARVALHO, J. G.
Efeitos do alumínio em pimenteiras do reino (*Piper nigrum* L.) cultivadas em
solução nutritiva. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 368-375, 1995.

ARTIGO 4

AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO, EM PORTA-ENXERTOS DE VIDEIRA

Fabíola Villa¹; Moacir Pasqual¹; Geraldo Magela de Almeida Cançado²;
Ângelo Albérico Alvarenga³; Luzia Yuriko Miyata¹; Eduardo Purgatto⁴

¹Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA),
Lavras, MG. Caixa Postal: 3037, CEP: 37200-000.

²Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Empresa de Pesquisa Agropecuária de
Minas Gerais (EPAMIG), Caldas, MG. Caixa Postal 33, CEP: 37780-000.

³Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Lavras, MG.
Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000.

⁴Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Alimentos e Nutrição
Experimental, Universidade de São Paulo (USP). CEP: 05508-000.

Preparado de acordo com as normas do Journal of Plant Nutrition

RESUMO

A toxicidade do alumínio (Al) é um sério problema na agricultura mundial. Em pH ácido, o Al se torna solúvel e as formas ionizadas, tal como o Al^{3+} , que afetam o crescimento do sistema radicular e o desenvolvimento das plantas. No Brasil, a ocupação de solos ácidos com elevadas concentrações de Al pela agricultura aumentou nas últimas décadas. Por isso, a seleção de cultivares de plantas tolerantes ao Al é crucial para a elevada eficiência da agricultura nestes solos. Neste trabalho, foi avaliada a tolerância ao Al em seis genótipos de porta-enxertos de videira comumente utilizados no Brasil. As plantas foram cultivadas em solução nutritiva na ausência e com 250 e 500 μM de Al, em pH 4,2. Foram avaliados, para todos os genótipos, o índice fenotípico de crescimento das raízes, o peso da matéria fresca e seca das raízes, a área do sistema radicular, a hematoxilina e o conteúdo de Al. Os porta-enxertos de videira que mostraram alta tolerância para Al, na maioria dos índices fenotípicos avaliados, foram 'Kobber', 'Gravesac', 'Paulsen 1103' e 'IAC 766', enquanto que os mais sensíveis ao Al foram o 'R110' e 'IAC 572'. Além desses parâmetros, foi avaliada a exsudação de ácidos orgânicos pelo sistema radicular de 'Kobber' e 'R110', cultivados *in vitro* na ausência e na presença de alumínio. É possível discriminar genótipos tolerantes ao Al de porta-enxerto de videira, utilizando como índice fenotípico o crescimento relativo da raiz. Genótipos de porta-enxertos de videira com maior tolerância ao Al apresentam maior área radicular, peso de matéria fresca e matéria seca. A coloração de ápices radiculares de porta-enxertos de videira pode ser utilizada como um índice fenotípico eficiente e não destrutivo para selecionar genótipos tolerantes ao Al. O citrato é o único ácido orgânico cuja resposta é relacionada ao estresse causado pelo Al. A taxa de exsudação em 'Kobber' é mais alta que em 'R110', indicando um possível papel deste ácido na aquisição de tolerância em videira.

Palavras chaves: *Vitis* spp., estresse abiótico, toxicidade, ácidos orgânicos, exsudação.

ABSTRACT

Aluminum (Al) toxicity is a serious problem in agriculture worldwide. In low pH Al is converted to the soluble and toxic forms, such as Al^{3+} , that stops the root growth and affects the plant development. In Brazil the occupation of acidic soils with elevated concentration of Al by agriculture has increased in the last decades. Therefore, the selection of plant cultivars with improved Al tolerance has become crucial to the achievement of efficient agriculture in these soils. In this work we have evaluated the Al tolerance in six genotypes of grapevine rootstocks usually cultivated in Brazil. The grapevine plantlets were grown in nutrient solution in absence and presence of 250 and 500 μM of Al at pH 4.2. The phenotypic indexes of root growth, fresh and dry root weight, root area, hematoxylin staining profile, and Al content were evaluated to all genotypes. The grapevine rootstocks genotypes that demonstrated highest Al tolerance for most of the phenotypic indexes evaluated were 'Kobber', 'Gravesac', 'Paulsen 1103', and 'IAC 766' while 'R110' and 'IAC 572' were sensitive to Al. Besides that we have evaluated the organic acid exudation profiling in roots of 'Kobber' and 'R110' cultivated *in vitro* in absence and presence of Al. Its possible discriminated tolerant genotype of rootstock to Al, using as phenotypical index the relative growth of the root. Genotype of grapevine rootstock with larger tolerance to Al present larger weight of fresh matter and matter evaporates. The coloration of grapevine rootstock root can be used as an phenotypical index efficient and not destructive to select tolerant genotype to Al. The citrate is the only organic acid whose answer is related to the stress caused by Al. The exudation rate in 'Kobber' is higher than 'R110', indicating a possible paper of this acid in the acquisition of tolerance in grapevine.

Keywords: *Vitis* spp., abiotic stress, toxicity, organic acid, exudation.

1 INTRODUÇÃO

Solos ácidos são encontrados em grandes áreas de clima tropical e em menor escala em regiões de clima temperado e representam séria limitação para a agricultura praticada nestas regiões. Por exemplo, na América Latina, esses solos compreendem aproximadamente um bilhão de hectares (Howeler 1991). No Cerrado, uma região com 2 milhões de km², localizada no Brasil, a maioria das terras é ácida e imprópria para agricultura (Lopes 1984). Em terras com pH neutro ou ligeiramente ácido, o alumínio (Al) é encontrado, principalmente, na forma de óxidos ou silicatos que são inertes e atóxicos para raízes de plantas. Porém, para valores de pH < 5,0, formas tóxicas de alumínio (Al) são liberadas na solução do solo em níveis que danificam o crescimento radicular, afetando, assim, o desenvolvimento da planta (Foy et al., 1978; Kochian, 1995).

Raízes expostas ao Al tóxico tendem a ficar curtas, grossas e subdesenvolvidas, reduzindo a absorção de nutrientes e aumentando a suscetibilidade à seca (Bona et al. 1991; Llugany et al. 1994; Sasaki et al. 1996). Embora o Al solúvel possa ser removido temporariamente do solo pelo processo de calagem, esta prática, por si só, é pouco eficiente e tem se tornado pouco viável economicamente, principalmente para culturas perenes que possuem sistema radicular profundo.

Vários métodos para avaliar a tolerância ao Al em plantas foram desenvolvidos, contribuindo para a elucidação de processos fisiológicos e genéticos envolvidos com esta característica (Cançado et al. 1999; Zhang et al. 1994; Moustakas et al. 1993; Ruiz-Torres & Carver 1992). Entre esses métodos está a avaliação do crescimento radicular em soluções nutritivas, que indica a magnitude do estresse provocado pelo Al nas raízes de plantas, permitindo que estudos preliminares para a avaliação da tolerância sejam realizados em um grande número de genótipos, utilizando-se pouca área e poucos recursos.

Conseqüentemente, esta abordagem melhora a eficiência da avaliação posterior de genótipos no campo, devido à avaliação compreender apenas genótipos promissores selecionados previamente (Ruiz-Torres & Carver 1992; Magnavaca et al. 1987).

O comprimento de raiz tem sido freqüentemente utilizado como um índice fenotípico satisfatório para a tolerância ao Al em plantas cultivadas quando testado em solução nutritiva (Cançado et al. 1999; Cançado et al. 2002). No entanto, não deve ser utilizado como o único critério de seleção, visto que há interações importantes no solo e no ambiente (Foy & Peterson 1994; Moustakas et al. 1993). Outro índice interessante é a hematoxilina. Este corante, além de ser empregado como corante em estudos de citogenética, também é utilizado como método não destrutivo na identificação de genótipos tolerantes e sensíveis ao Al (Fráguas, 1999; Cançado et al. 1999; Polle et al. 1978; Carver et al. 1988; Rincón & Gonzales 1992; Delhaize et al., 1993; Wagatsuma et al. 1995). Também tem a propriedade de se complexar com o Al, gerando uma tonalidade azul-púrpura no tecido da raiz exposta ao Al, de forma que a penetração e a retenção deste íon nas raízes podem ser visualmente avaliadas e quantificadas (Polle et al. 1978; Delhaize et al. 1993).

Por isso, a intensidade e o padrão de coloração de ápices radiculares cultivados em solução nutritiva na presença do Al podem ser parâmetros eficientes na identificação da tolerância e da sensibilidade ao Al (Ruiz-Torres & Carver 1992) porque genótipos suscetíveis tendem a acumular maiores quantias de Al nos tecidos das suas raízes (Polle et al. 1978; Carver et al. 1988). Um aspecto importante desta técnica é que a reação entre a hematoxilina e o Al é específica, de forma que outros fatores interferentes, tais como a presença de ferro, mostram um efeito mínimo. Em plântulas de trigo, esta técnica permitiu a discriminação de genótipos tolerantes e sensíveis dessa espécie, após um tempo

muito curto de exposição ao Al, bem antes do aparecimento de diferenças detectáveis no comprimento radicular (Delhaize et al., 1993).

Embora vários mecanismos de tolerância ao Al fossem propostos e estudados durante os últimos 30 anos, as evidências experimentais indicam que mecanismos de resistência relacionados à quelação do Al na superfície radicular seriam os de ocorrência mais comum nas mais diversas espécies vegetais. Isto se deve à exsudação dos ácidos orgânicos da raiz que resulta na exclusão do Al ao entrar na raiz. A exsudação de ácidos di e tricarboxílicos, como o cítrico, málico e ou oxálico na superfície da raiz (e nos espaços apoplásticos da raiz), em resposta ao estresse do Al, imobiliza o Al^{3+} em forma estável e complexos não tóxicos (Kochian et al. 2004; Kochian et al. 2005). Porém, outros mecanismos também foram avaliados, como liberação do estresse oxidativo (Cançado et al., 1998; Cançado et al., 2005).

Existe extensa variabilidade genética para a tolerância ao Al em plantas, tanto entre como dentro de espécies (Kochian 1995). Dessa forma, a seleção de genótipos tolerantes ao Al pode ser utilizada para se reduzir o estresse provocado pelo Al. Tendo como premissa a existência de variabilidade genética para a tolerância ao Al em genótipos de porta-enxerto de videira, objetivou-se avaliar os índices fenotípicos para mensurar a tolerância/susceptibilidade ao Al em seis variedades de porta-enxerto. Em adição, também foi avaliada a relação entre a exsudação de ácidos orgânicos pelo sistema radicular e a tolerância ao Al.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Local da montagem dos experimentos

O cultivo da porta-enxertos de videira em solução nutritiva foi realizado em ambiente de casa de vegetação, localizada no Núcleo Tecnológico Epamig

Uva e Vinho, cidade de Caldas, MG. A avaliação de matéria fresca, matéria seca e coloração por hematoxilina foi realizada no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, localizado no referido Núcleo de Pesquisa. O cultivo das plântulas de porta-enxerto de videira *in vitro* foi realizado no Departamento de Agricultura na Universidade Federal de Lavras (UFLA) e as análises de determinação de ácidos orgânicos por eletroforese capilar (HPLC), no Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, na Universidade de São Paulo (USP).

Genótipos e condições de crescimento das plantas

Foram testados seis porta-enxertos de videira, cuja denominação e origem são dadas a seguir (Sousa, 1996; Alvarenga, 2001):

1) ‘Gravesac’ [híbrido de 161-49 (*Vitis riparia* x *V. berlandieri*) x 3309 C (*V. riparia* x *V. rupestris*)];

2) ‘IAC766’ ou ‘Campinas’ (‘106-6’ x *Vitis caribea*);

3) ‘IAC572’ ou ‘Jales’ [(*Vitis tiliaefolia* x *V. riparia* x *V. rupestris* (‘101-14 Mgt’)];

4) ‘Kobber 5 BB’ (*Vitis berlandieri* x *V. riparia*);

5) ‘Paulsen 1103’ (*Vitis rupestris* x *V. berlandieri*);

6) ‘R110’ (*Vitis berlandieri* x *V. rupestris*).

Cultivo das estacas em solução nutritiva

Os materiais propagativos foram obtidos no banco de germoplasma e no matrizeiro de videira, localizados no Núcleo Tecnológico Epamig Uva e Vinho, em Caldas, MG. As estacas herbáceas dos porta-enxertos foram preparadas com comprimento de 30 cm. As mesmas foram hidratadas por 24 horas e, logo depois, imersas em solução de fungicida Captan[®], na concentração de 3 g L⁻¹, durante 30 segundos. Logo após, foram plantadas em leito de areia no interior de estufa com controle de temperatura e umidade. Após o desenvolvimento das

raízes (cerca de 30 dias após o plantio), as estacas que apresentarem enraizamento uniforme e sadio foram selecionadas e transferidas para caixas plásticas opacas, contendo 25 L de solução nutritiva.

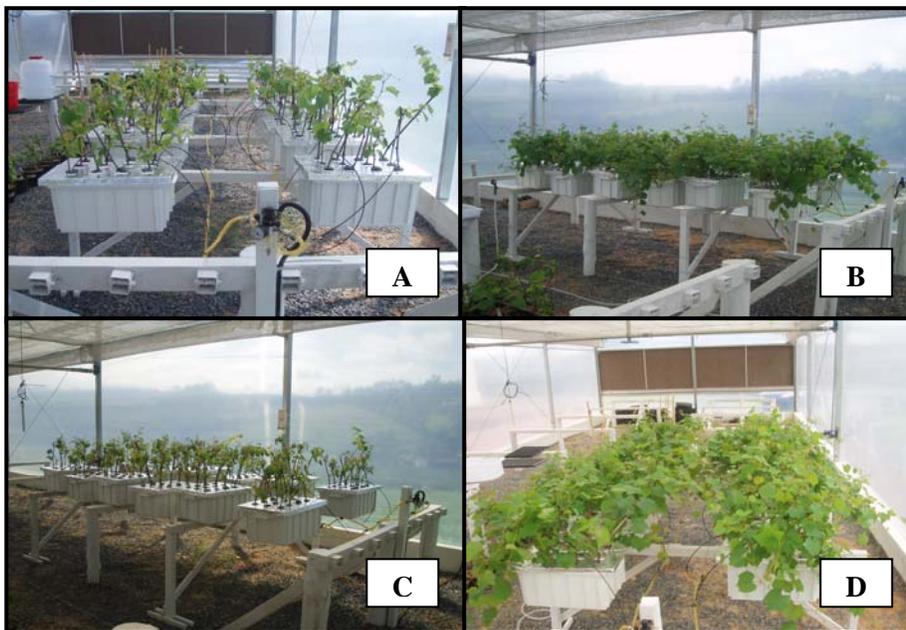
Solução nutritiva

A solução nutritiva empregada no estudo baseou-se na concentração de nutrientes em solução, segundo Pouget (1984) com a seguinte composição (mg L^{-1}): 100 de NH_4NO_3 ; 1,0 de KNO_3 ; 150 de $\text{MgSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$; 50 de KH_2PO_4 ; 200 de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 1,2 de $\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 1,0 de H_3BO_3 ; 1,0 de $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,025 de $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,025 de $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 1,0 de KI ; 1,0 de $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 27,5 de $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 37,5 de Na_2EDTA e, pH 5,5.

A solução foi aerada continuamente, com auxílio de um compressor de ar e as plantas foram cultivadas por 14 dias, antes da aplicação dos tratamentos com alumínio, para a adaptação e o desenvolvimento das raízes.

Tratamento de alumínio

Após a fase de adaptação, o comprimento inicial de raízes pré-selecionadas e identificadas com anilhas coloridas foi medido (tempo zero) e a solução nutritiva foi substituída por uma solução nutritiva de composição similar à anterior, com o tratamento correspondente: controle (ausência de Al); 250 μM de AlCl_3 e 500 μM de AlCl_3 . O pH das soluções nutritivas foi monitorado diariamente, ajustado para 4,2 e a solução foi aerada continuamente. Cada planta cultivada por caixa constituía uma unidade experimental. O experimento foi montado com 4 repetições por tratamento (Figuras 1A, B, C e D).



Figuras 1A, B, C e D. Porta-enxertos de videira em caixas contendo solução nutritiva, mantidos em casa de vegetação. Epamig, Caldas, MG. 2007.

O volume de solução nos potes foi mantido constante com adição de água destilada, sempre que verificada redução no volume original. As concentrações de Al, aos quais as estacas foram submetidas, estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2. Concentrações de Al na solução nutritiva. EPAMIG, Caldas, MG. 2007.

Níveis de Al	μM de Al
I	0 (controle)
II	250
III	500

Avaliação do crescimento da raiz

A fim de avaliar o crescimento de raiz, duas raízes por planta foram etiquetadas com anéis (anilhas) de plástico de cores diferentes. O comprimento dessas raízes (Figuras 2 e 3) foi medido em intervalos de 24 horas, durante 4 dias, após o tempo zero. O comprimento final da raiz foi calculado subtraindo-se o comprimento do crescimento da raiz registrado no tempo zero do comprimento do crescimento da raiz registrado nos tempos de 24, 48, 72 e 96 horas (Cançado et al. 1999). A taxa de crescimento relativo foi calculada com a porcentagem do comprimento de crescimento da raiz cultivada na presença do Al (250 e 500 μM), em relação ao comprimento do crescimento da raiz em solução controle (Cançado et al. 2005).



Figuras 2 e 3. Detalhe das raízes dos porta-enxertos de videira em caixas contendo solução nutritiva, mantidos em casa de vegetação. Caldas, MG, 2007.

Avaliação do peso da matéria fresca e seca das raízes

As raízes foram lavadas em água e secas suavemente em papel-toalha. Posteriormente, o peso fresco foi determinado para cada amostra em balança com precisão de 1 mg. Após a coleta do peso de matéria fresca, as amostras de raiz foram mantidas em estufa, a 50°C, até que o peso constante fosse alcançado e, então, o peso seco foi determinado em balança de precisão de 1 mg.

Avaliação das concentrações de alumínio

Depois que as amostras de raízes foram secas e pesadas, foram pulverizadas e digeridas em solução de ácido nítrico-perclórico. Desse extrato mineral foi determinada a quantidade de Al, como descrito por Wang & Wood (1973).

Coloração das raízes com hematoxilina

A técnica de coloração de raízes por hematoxilina utilizada neste trabalho foi descrita por Polle et al. (1978) e modificada por Cançado et al. (1999). Em torno de 5 ápices radiculares com cerca de 10 cm de comprimento foram excisados de cada amostra e enxaguadas com 100 mL de água destilada, durante 20 minutos. Após esta primeira lavagem, foram colocados em solução de hematoxilina (Sigma, Aldrich, EUA) e 0,1% de iodeto de potássio PA. As raízes foram agitadas nessa solução suavemente, durante 5 minutos e, posteriormente, lavadas 4 vezes em água destilada, durante 1 hora. Então, as raízes foram fotografadas (Figura 3).

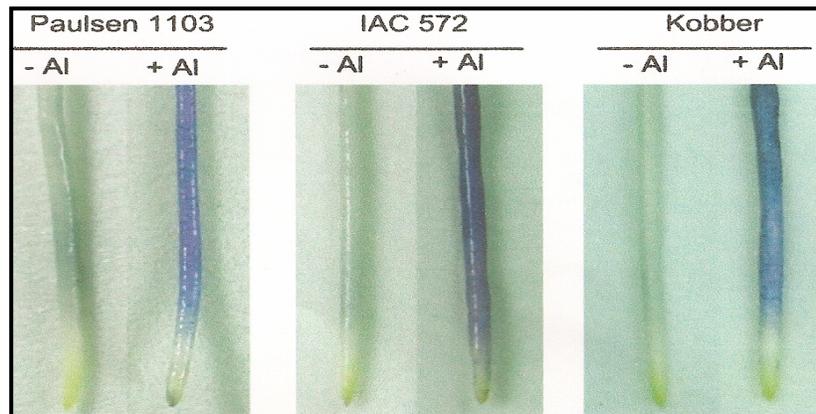


Figura 3. Técnica de coloração de raízes por hematoxilina, nos genótipo de videira Paulsen 1103, IAC 572 e Kobber. Epamig, Caldas, MG. 2007.

Cultura de porta-enxertos de videira *in vitro*

Os genótipos foram cultivados *in vitro*, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado na Universidade Federal de Lavras, MG. Segmentos nodais de 5 mm de comprimento, oriundos de brotações preestabelecidas *in vitro* foram inoculados em meio líquido DSD1 (Silva & Doazan 1995). Após o desenvolvimento das raízes, plântulas homogêneas foram escolhidas, transferidas para outros tubos de ensaio contendo meio líquido constituído por 500 μM de CaCl_2 , com pH 5,5 e cultivadas nesse novo meio por 48 horas para adaptação antes da substituição pela solução contendo os tratamentos com Al (Burkhardt 2001).

Subseqüentemente à adaptação ao meio de cultivo, as plântulas foram transferidas para novos tubos de ensaio contendo as soluções tratamento com adição ou não de AlCl_3 conforme a seguir: 0 (controle), 50 μM , 100 μM , 200 μM e 400 μM , permanecendo nessas condições por 24 e 48 horas. O pH do meio foi ajustado para 4,2 antes da autoclavagem. Após esse período, amostras de 10 mL do meio de cultivo contendo os exsudatos das raízes foram coletadas em tubos estéreis do tipo Falcon de 15 mL e imediatamente congelados a -20°C .

Avaliação da exsudação dos ácidos orgânicos

Exatamente 1 mL de cada amostra congelada foi liofilizado e concentrado em 100 μL para a realização da cromatografia líquida. Os extratos solúveis foram purificados em filtros de nitrocelulose de 0,45 μM (Milipore Corporation) e 30 μL de cada amostra foi analisada em aparelho HPLC (cromatografia líquida de alta performance, Hewlett-Packard, modelo 1100), equipado com uma pré-coluna SupelcoGuard C610H (50 mm x 4,6 mm) e uma coluna SupelcoGel C610H (300 mm x 7,8 mm), mantido a 30°C . A fase líquida consistiu de uma solução de 0,5% H_3PO_3 injetada com taxa de fluxo de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ e com tempo de corrida de 40 minutos. A absorbância do ácido

orgânico foi monitorada a 210 nm. Para a identificação e a quantificação dos ácidos orgânicos foram usados padrões puros de citrato, malato, tartárico (Sigma, Aldrich), succinato (Supelco) e trans-aconitato (Fluka).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação radicular

A variação no crescimento radicular dos seis genótipos estudados, em função das concentrações de alumínio testadas, encontra-se na Figura 4. Verificou-se menor crescimento radicular em 24, 48 e 72 horas de exposição das raízes em 500 µM de Al. Após 96 horas de exposição, a maior concentração de Al não afetou o crescimento das raízes do porta-enxerto 'Paulsen 1103'.

Segundo Carver & Ownby (1995), os efeitos do Al entre cultivares de dada espécie vegetal dependem da idade da planta, do tempo de exposição e da concentração de Al adicionado ao meio de crescimento, sendo ainda modificados por fatores, como composição, força iônica, pH e temperatura da solução.

A adição da menor dose de alumínio em solução reduziu o crescimento das raízes dos genótipos 'Gravesac' e 'IAC572' (Figuras 4 e 5). Isso reflete a grande sensibilidade desses porta-enxertos quanto à presença do alumínio em solução porque aumentos na adição do elemento em solução não reduziram o comprimento radicular. Esta sensibilidade está relacionada à produção de ácidos orgânicos da cultura, pois o metabolismo das raízes de videira não proporcionou aumentos na quantidade de ácidos orgânicos produzidos, que se manifesta em aumento do carbono solúvel em solução. Assim, a pequena quantidade de ácidos orgânicos exsudados pelas plantas foi pouco eficiente na complexação do alumínio na solução, prejudicando o desenvolvimento desses porta-enxertos.

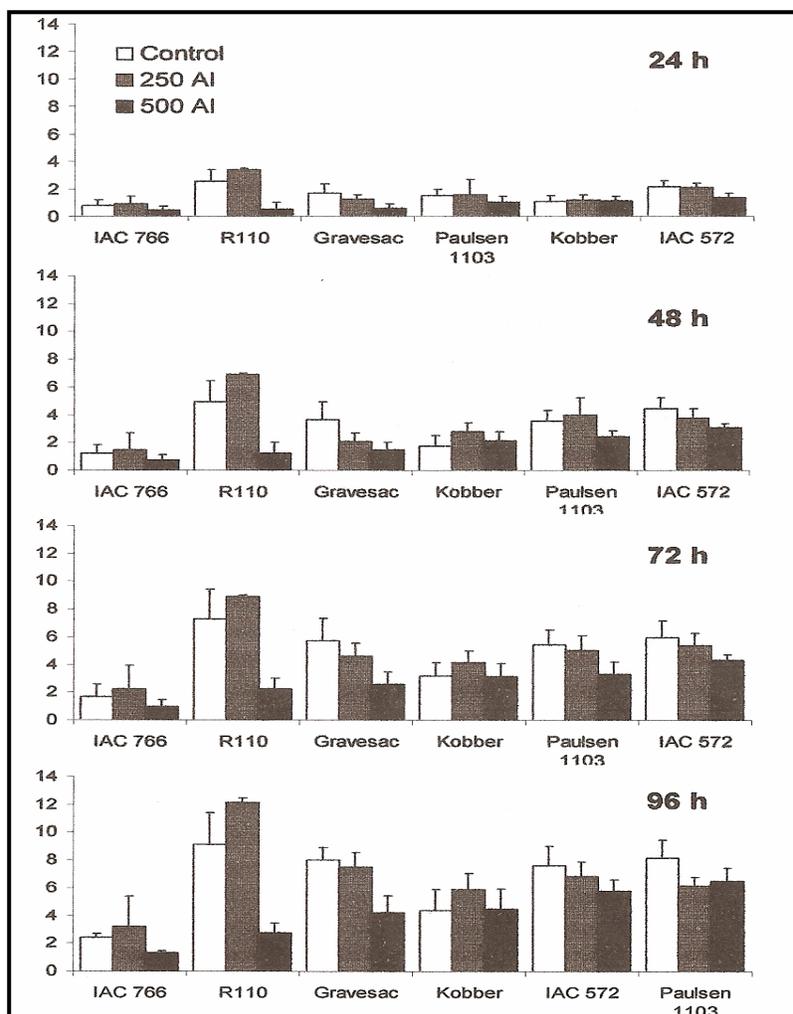


Figura 4. Comprimento do sistema radicular de seis porta-enxertos de videira, expostos a diferentes concentrações de alumínio. Epamig, UFLA, Lavras, MG. 2007.

As raízes de ‘Kobber’ e ‘R110’, por sua vez, não sofreram redução significativa no crescimento, mesmo nas maiores dosagens de alumínio adicionadas (Figuras 4 e 5), indicando relativa resistência à adição de alumínio em solução.

É importante mencionar que esta relativa resistência desses dois porta-enxertos à toxidez de alumínio se deve, provavelmente, ao aumento da exsudatos radiculares, que refletiu no aumento da quantidade de carbono orgânico solúvel na solução ao final do bioensaio. Além disso, a complexação de alumínio por ácidos orgânicos depende exclusivamente do tipo e da quantidade de grupos funcionais (OH- e ou COOH-) na cadeia carboxílica (Hue et al. 1986; Miyazawa et al. 1992; Dynes & Huang 1997).

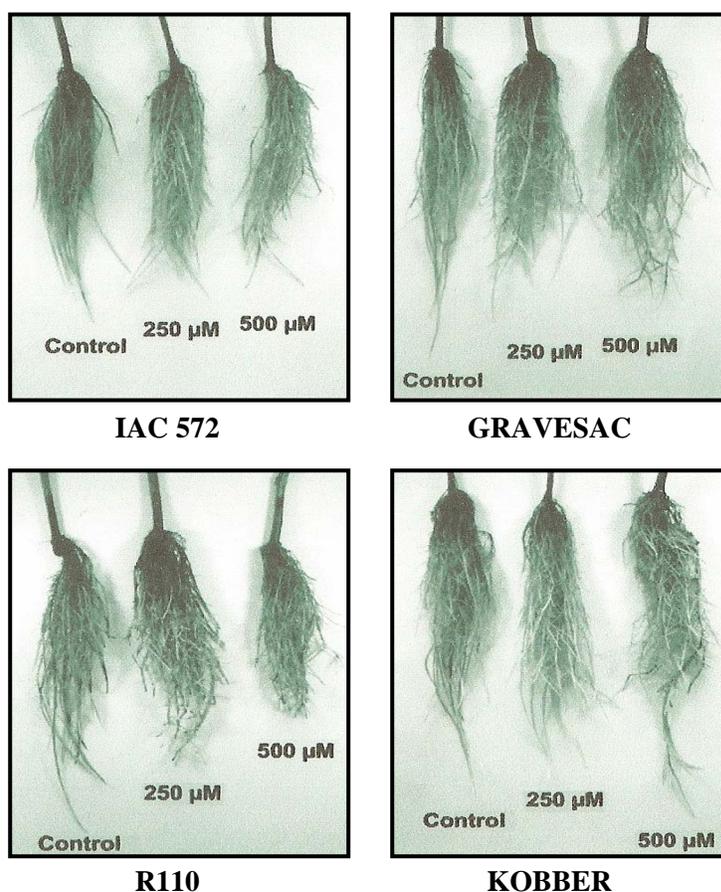


Figura 5. Detalhe do comprimento radicular dos porta-enxertos ‘IAC572’, ‘Kobber’, R110 e ‘Gravesac’, submetidos a diferentes concentrações de alumínio. Epamig, Caldas, MG. 2007.

Provavelmente, além da elevada quantidade de ácidos orgânicos produzidos nas condições de maior estresse (250 e 500 μM), o tipo de ácidos orgânicos de baixo peso molecular exsudados pelas plantas foi eficiente na complexação do alumínio na solução, proporcionando condições para que o desenvolvimento das raízes de videira não fosse mais reduzido.

Aumentos transitórios na taxa de crescimento radicular em doses subtóxicas de Al têm sido observados em diferentes espécies de plantas, como arroz, milho e algumas dicotiledôneas, sendo, geralmente, mais evidentes nas cultivares tolerantes que nas sensíveis.

Estímulo ao crescimento das raízes de várias espécies, na presença de baixas concentrações de Al, tem sido atribuído a alterações na distribuição de substâncias de crescimento e à prevenção da toxidez de cobre e manganês (Llugany et al. 1995). Trabalhos conduzidos por Kinraide et al. (1994) demonstraram que o cálcio pode desempenhar um papel específico no alívio da toxidez, devido à alta atividade de prótons, mas esse efeito pode também ser desempenhado por outros cátions, inclusive pelo Al. O íon Al^{3+} , por ser um cátion trivalente, pode reduzir a negatividade da superfície celular e, conseqüentemente, reduzir a atividade do H^+ na superfície da membrana celular. Entretanto, esse estímulo sobre o crescimento é um fenômeno dependente do tempo, podendo a toxidez se manifestar após determinado período de tratamento, o que pode ser observado na Figura 4.

Coloração das raízes com hematoxilina

O método de coloração de raízes tratadas com Al, descrito por Polle et al. (1978), baseia-se na propriedade colorimétrica da hematoxilina de formar uma cor azul-púrpura quando complexado com Al (Baker 1962), ou seja, na presença do Al^{3+} , as pontas das raízes tratadas com hematoxilina férrica apresentam a tonalidade característica da reação do Al^{3+} com o corante.

Na Figura 6, pode-se observar que os genótipos sensíveis de videira absorveram mais Al que os tolerantes e, conseqüentemente, as raízes foram mais coloridas pela hematoxilina, permitindo, assim, a classificação. Este método tem sido também bastante usado para avaliar diferenças na tolerância ao Al em soja (Spehar & Makita 1994). Maior coloração ocorreu nos porta-enxertos ‘IAC572’, ‘Gravesac’ e ‘R110’.

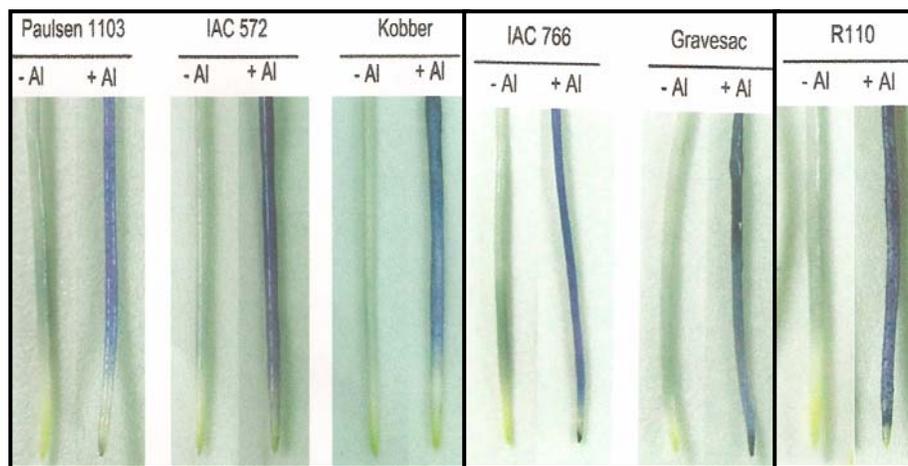
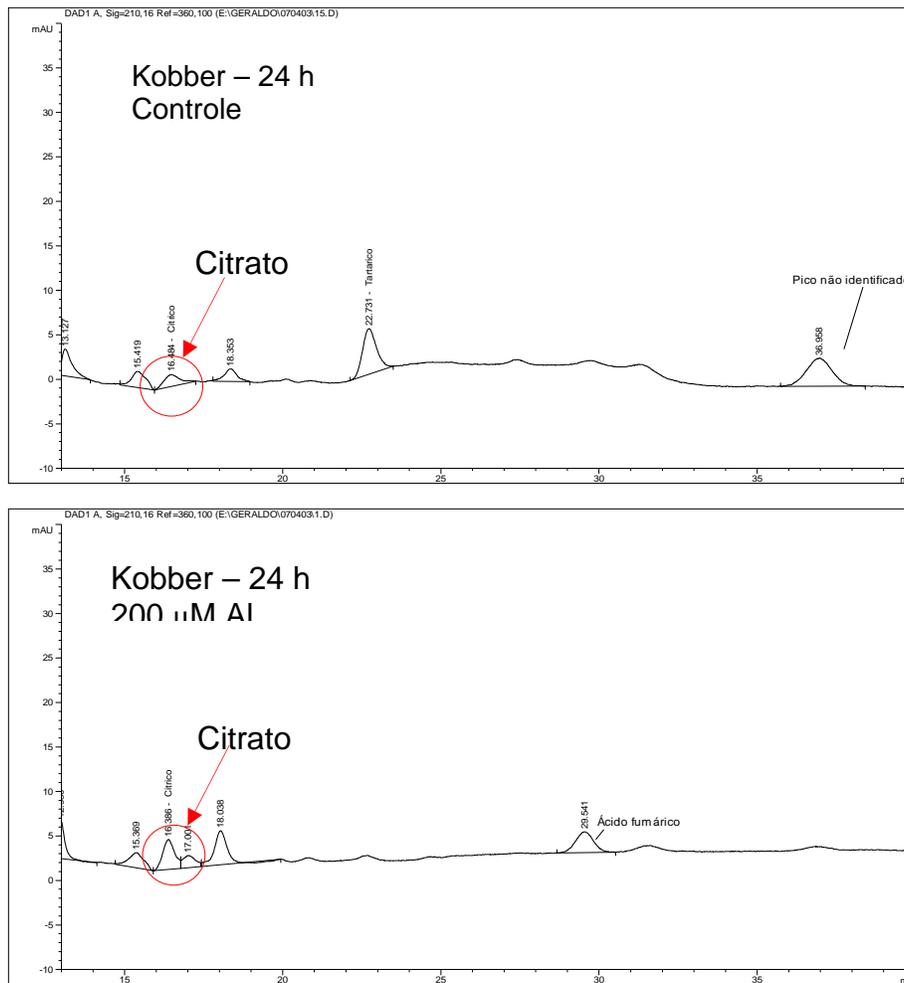


Figura 6. Detalhe da coloração das raízes coloridas pela hematoxilina, dos seis porta-enxertos de videira estudados. Epamig, Caldas, MG. 2007.

Os genótipos tolerantes ao Al possuem menor capacidade de troca catiônica e tendem a acumular menos Al em suas raízes do que genótipos de baixa tolerância. Esta característica permite que a acumulação de Al em plantas possa ser visualmente perceptível pelo método que utiliza a hematoxilina. Quando as raízes são tratadas com soluções contendo Al e, posteriormente, coradas em uma solução aquosa contendo a hematoxilina, ocorre um tingimento gradual do tecido radicular, em função da menor tolerância das plantas ao Al (Polle et al. 1978).

Avaliação da exsudação dos ácidos orgânicos

Os cromatogramas (Figuras 7 e 8) mostraram picos de boa resolução para o ácido cítrico, nos porta-enxertos ‘Kobber’ e ‘R110’, na presença de 200 μM de Al. Os picos referentes aos ácidos succínico, fumárico e tartárico também foram visualizados para essa concentração de Al.



Figuras 7 e 8. Cromatograma da exsudação dos ácidos orgânicos dos porta-enxertos de videira ‘Kobber’ e ‘R110’, na concentração de 200 μM de Al. UFLA, Lavras, MG. 2008.

Os ácidos orgânicos avaliados em 'Kobber' e 'R110' foram identificados nos seguintes tempos de corrida: ácido fumárico (35 minutos), ácido cítrico (20 minutos), ácido tartárico (40 minutos) e ácido succínico (45 minutos). A cromatografia líquida de alta eficiência tem sido usada frequentemente para a determinação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, coletados em solução nutritiva ou extraídos do solo. Entretanto, acredita-se que possa haver uma interferência de compostos orgânicos e inorgânicos, quando é usada a faixa de detecção próxima de 210 nm, o que prejudica a definição dos picos (Blake et al. 1987). Ácidos, como o láctico, o propiônico e o butírico, são suficientemente bem separados utilizando-se HPLC; já outros, como cítrico, málico e oxálico, não têm picos tão bem definidos (Szmigielska et al. 1997). Esses autores observaram o tempo necessário para a definição dos picos, a calibração do aparelho e a separação dos ácidos dificultam a utilização do HPLC para análises de rotina.

Pelos resultados obtidos, evidencia-se, nas raízes dos porta-enxertos estudados, a presença dos ácidos succínico, fumárico e tartárico. Esses ácidos têm sido identificados em muitas plantas, como alfafa, nabo, tremoço, soja e feijão (Silva et al. 2002). Eles não são tão bons complexantes e são identificados como de fraca desintoxicação (Hue et al. 1986). O succínico foi outro ácido do ciclo de Krebs identificado.

As concentrações de ácido cítrico, considerando um dos componentes mais importantes envolvidos nos processos de liberação de fósforo (P), zinco (Zn) e neutralização do Al, foram maiores no porta-enxerto 'Kobber'.

Gardner & Parbery (1983) encontraram altas concentrações de ácido cítrico em solução obtida de exsudados de raízes de tremoço (*Lupinus albus* L.) submetidas a condições de deficiência de P. Os demais ácidos identificados foram encontrados em concentrações muito baixas nos porta-enxertos estudados. Embora tal fato possa ter ocorrido devido às deficiências no método de extração

ou a problemas de detecção apresentados pela técnica cromatográfica utilizada, o mais provável é que, realmente, a exsudação destes ácidos orgânicos não esteja relacionada com a presença ou a ausência do Al, o que já foi observado por outros autores. A significância dos ácidos orgânicos em exsudados radiculares, em geral, está relacionada ao efeito que os mesmos podem ter na disponibilidade de nutrientes para as plantas.

O ácido cítrico tem sido indicado como o mais ativo complexante e desintoxicante do Al (Bartlett & Riego 1972). A sua ocorrência em concentrações maiores e o maior desenvolvimento das raízes nas cultivares tolerantes de soja levam à conclusão de que ele esteja envolvido no processo de complexação e desintoxicação. As cultivares sensíveis apresentaram níveis menores de ácido cítrico e sistemas de raízes menos desenvolvidas e atrofiadas, sendo, portanto, mais danificadas pelos efeitos tóxico do alumínio. A possibilidade de o ácido cítrico estar envolvido na complexação do Al internamente, nas raízes, é real. A sua eficiência é maior do que a dos outros ácidos, em razão de ter os grupos funcionais de hidroxilas e carboxilas ligados a dois carbonos adjacentes, e essa posição favorece a formação de estruturas estáveis com ligações cíclicas com o Al (Huang & Violante 1986).

A tolerância dos porta-enxertos de videira ao Al pode ser maior, quanto maior for a exsudação de ácido cítrico produzida pelas cultivares tolerantes, conforme os resultados deste trabalho indicarem a variedade Kobber. Os resultados evidenciam que a presença de um mecanismo interno de complexação do Al que é ativado, principalmente, pelas diferenças de conteúdos de ácido cítrico e pela observação de que as raízes das cultivares tolerantes continuam a se desenvolver, ao contrário do que ocorre nas cultivares sensíveis. Na ausência de mecanismos de tolerância, essa ação tóxica do Al decorre do efeito inibidor no crescimento das raízes (expansão celular), que tem a plasticidade da parede celular afetada (Kochian 1995).

4 CONCLUSÕES

É possível discriminar genótipos tolerantes ao Al de porta-enxerto de videira, utilizando como índice fenotípico o crescimento relativo da raiz.

Genótipos de porta-enxertos de videira com maior tolerância ao Al apresentam maior peso de matéria fresca e matéria seca.

A coloração de ápices radiculares de porta-enxertos de videira pode ser utilizada como um índice fenotípico eficiente e não destrutivo para selecionar genótipos tolerantes ao Al.

O citrato é o único ácido orgânico cuja resposta é relacionada ao estresse causado pelo Al. A taxa de exsudação em 'Kobber' é mais alta que em 'R110', indicando um possível papel deste ácido na aquisição de tolerância em videira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, A. A. **Avaliação de cultivares porta-enxertos e produtoras de videira (*Vitis* spp.) em condições de solos ácidos e alumínio**. 2001. 153p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BAKER, J. R. Experiments on the action of mordants: 2. Aluminium-haematein. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v. 103, n. 4, p. 493-517, 1962.

BARTLETT, R. J.; RIEGO, D. C. Effect of chelation on the toxicity of aluminum. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 37, p. 419-423, 1972.

BLAKE, J. D.; CLARKE, M. L.; RICHARDS, G. N. Determination of organic acids in sugar cane process juice by high performance liquid chromatography: improved resolution using dual Aminex. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 398, p. 265-277, 1987.

BONA, L.; MATUZ, J.; PURNHAUSER, L. Aluminium tolerance of *Triticum aestivum* L. populations related to plant-induced pH changes of nutrient solution. In: WRIGHT, R. J.; BALIGAR, V. C.; MURRMANN, R. P. (Ed.). **Plant soil interactions at low pH**. Netherlands: Kluwer Academic, 1991. p. 1057-1062.

BURKHARDT, S. L. **Avaliação de porta-enxertos de videira *in vitro* em condições de estresse por alumínio.** 2001. 75 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

CANÇADO, G. M. A. ; DE ROSA, V. E.; FERNANDEZ, J. H.; MARON, LYZA, G.; JORGE, R. A.; MENOSSI, M. Glutathione S-transferase and aluminum toxicity in maize. **Functional Plant Biology**, v. 32, n. 11, p. 1045-1055, 2005.

CANÇADO, G. M. A.; CARNEIRO, N. P.; CARNEIRO, A. A.; PURCINO, A. A. C.; GUIMARÃES, C. T.; ALVES, V. M. C.; PARENTONI, S. N.; SOUZA, I. R. P.; PAIVA, E. Novas perspectivas para adaptação de culturas ao Cerrado: contribuição da biologia molecular na compreensão e solução dos efeitos tóxicos ao alumínio em plantas. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, n. 23, p. 56-61, 2002.

CANÇADO, G. M. A.; PAIVA, E.; LOPES, M. A. Genética e bioquímica da tolerância de plantas ao alumínio. In: SIQUEIRA, J. O. et al. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas.** Viçosa, MG: SBCS/Lavras: UFLA/DCS, 1999. p. 363-388.

CANÇADO, G. M. A.; PRATES, H. T.; PITTA, G. V. E.; ALVES, V. M. C.; SCHAFFERT, R. E.; LOPES, M. A. Root secretion of organic acids and its association with aluminum tolerance in maize. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife. **Resumos...** Recife, PE: 1998. p. 280.

CARVER, B. F.; INSKEEP, W. P.; WILSON, N. P.; WESTERMAN, R. L. Seedling tolerance to aluminum toxicity in hard red winter wheat germoplasma. **Crop Science**, Madison, v.28, p.463-467, 1988.

CARVER, B. F.; OWNBY, J. D. Acid soil tolerance in wheat. **Advances in Agronomy**, v. 54, p. 117-173, 1995.

DELHAIZE, E.; RYAN, P. R.; RANDALL, P. J. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.): II. aluminum-stimulated excretion of malic acid from root apices. **Plant Physiology**, Rockville, v. 103, n. 3, p. 695-702, 1993.

DYNES, J. J.; HUANG, P. M. Influence of organic acids on selenite sorption by poorly ordered aluminium hydroxides. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 61, p. 772-783, 1997.

FOY, C. D.; CHANEY, R. L.; WHITE, M. C. The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p. 511-566, 1978.

FOY, C. D.; PETERSON, C. J. Acid soil tolerances of wheat lines selected for high grain protein content. **Journal of Plant Nutrition**, v. 17, n. 2-3, p. 377-400, 1994.

FRÁGUAS, J. C. Tolerância de porta-enxertos de videira ao alumínio do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 7, p. 1193-1200, 1999.

GARDNER, W. K.; PARBERY, D. G. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. I. Some characteristics of the soil/root interface. **Plant and Soil**, The Hague, v. 68, p.19-32, 1983.

HOWELER, R. H. Identifying plants adaptable to low pH conditions. In: WRIGHT, R. J.; BALIGAR, V. C.; MURRMANN, R. P. (Ed.). **Plant-soil interactions at low pH**. Netherlands: Kluwer Academic, 1991. p. 885-904.

HUANG, J. W.; PELLET, D. M.; PAPERNIK, L. A.; KOCHIAN, L. V. Aluminum interactions with voltage-dependent calcium transport in plasma membrane vesicles isolated from roots of aluminum-sensitive and -resistant wheat cultivars. **Plant Physiology**, v. 110, n. 2, p. 561-569, 1996.

HUANG, P. M.; VIOLANTE, A. Influence of organic acids on crystallization and surface properties of precipitation products of aluminum. In: HUANG, P. M.; SCHNITZER, M. (Ed.). **Interactions of soil minerals with natural organic and microbes**. Madison: Soil Science of America, 1986. p. 159-221.

HUE, N. V.; CRADDOCK, G. R.; ADAMS, F. Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 5, p. 28-34, 1986.

KINRAIDE, T. B.; RYAN, P. R.; KOCHIAN, L. V. Al^{3+} - Ca^{2+} interactions in aluminum rhizotoxicity. II. Evaluating the Ca^{2+} -displacement hypothesis. **Planta**, Berlin, v. 192, p. 104-109, 1994.

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

KOCHIAN, L. V., HOEKENGA, O. A.; PIÑEROS, M. A. Annual Review of **Plant Physiology**, v. 55, p. 459-493, 2004.

KOCHIAN, L. V.; PIÑEROS, M. A.; HOEKENGA, O. A. The Physiology, Genetics and Molecular Biology of Plant Aluminum Resistance and Toxicity. **Plant and Soil**, v. 274, n. 175, p. 1-2, 2005.

LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Monitoring of aluminium inhibition of root elongation in four maize cultivars differing in tolerance to aluminium and proton toxicity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 93, p. 265-271, 1995.

LOPES, A.S. **Solos sob “cerrado”:** características, propriedades e manejo. Piracicaba, POTAFOS, 1984. 162p.

MAGNAVACA, R., GRAMINER, C. D., CLARK, R. B. Inheritance of aluminum tolerance in maize. In: GABEIMAN, H. W., LOUGNMAM, B. C. (eds.). **Genetic aspects of plant mineral nutrition**. Dordrecht : Netherlands: Martinus Nijhoff. 1987. p. 201-212.

MIYAZAWA, M.; CHIERICE, G. O.; PAVAN, M. A. Amenização da toxidez de alumínio às raízes do trigo pela complexação com ácidos orgânicos. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 16, p. 209-215, 1992.

MOUSTAKAS, M., OUZOUNIDOU, G., LANNOYE, R. Rapid screening for aluminum tolerance in cereals by use the chlorophyll fluorescence test. **Plant Breeding**, Berlin, v. 111, p. 343-346, 1993.

POLLE, E.; KONZAK, C. F.; KITTRICK, J. A. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedling roots. **Crop Science**, Madison, v. 18, n. 5, p. 823-827, 1978.

POUGET, R. Action de la concentration de la solution nutritive sur quelques caractéristiques physiologiques et technologiques chez *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Sauvignon. I. Vigueur, rendement, qualité du moût et du vin. **Agronomie**, v. 4, n. 5, p. 437-442, 1984.

RINCÓN, M.; GONZALES, R. A. Aluminum partitioning in intact roots of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, p. 1021-1028, 1992.

RUIZ-TORRES, N.; CARVER, B. F. Genetic expression of aluminum tolerance in hard red winter wheat. **Cereals Research Communication**, Ithaca, v. 20, p. 233-240, 1992.

SASAKI, M.; YAMAMOTO, Y.; MATSUMOTO, H. Lignin deposition induced by aluminium in wheat (*Triticum aestivum*) roots. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 96, n. 2, p. 193-198, 1996.

SILVA, A. L.; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliqué à des porte-greffes de Vigne *in vitro*. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, Bordeaux, v. 29, p. 1-9, 1995.

SILVA, F. A. M.; NOGUEIRA, F. D.; GUIMARÃES, P. T. G.; GODINHO, A.; MALTA, M. R. Determinação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular na rizosfera de cafeeiro por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, Edição Especial, p.1391-1395, 2002.

SOUSA, J. S. I. **Uvas para o Brasil**. Piracicaba: FEALQ, 1996.

SPEHAR, C. R.; MAKITA, M. Tolerância ao alumínio em plântulas de soja e sua utilização. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 1927-1932, 1994.

SZMIGIELSKA, A. M.; VAN REES, K. C. J.; CIESLINSKI, G.; HUANG, P. M. Low molecular weight dicarboxylic acids in rizosphere soil of Durum wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 44, p. 1036-1040, 1997.

WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; OBATA, H.; TAWARAYA, K.; KATOHDA, S. Plasma membrane of younger and outer cells is the primary specific site for aluminium toxicity in roots. **Plant and Soil**, v. 171, p. 105-112, 1995.

WANG, C.; WOOD, F. A. A modified aluminon reagent for determination of aluminum after HNO₃-H₂SO₄ digestion. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 53, p. 237-239, 1973.

ZHANG, G.; HODDINOTT, J.; TAYLOR, G. J. Characterization of 1,3-beta-D-glucan (callose) synthesis in roots of *Triticum aestivum* in response to aluminum toxicity. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, p. 229-234, 1994.