

CRESCIMENTO DA PLANTA E COLORAÇÃO DAS RAÍZES COM HEMATOXILINA COMO CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE CAFÉ QUANTO À TOLERÂNCIA À TOXIDEZ DE ALUMÍNIO⁽¹⁾

M. C. L. BRACCINI⁽²⁾, H. E. P. MARTINEZ⁽³⁾, E. A. M. SILVA⁽⁴⁾,
A. L. BRACCINI⁽⁵⁾ & C. A. SCAPIM⁽⁵⁾

RESUMO

A seleção de plantas tolerantes ao Al é uma alternativa para solos que apresentam Al em níveis tóxicos. Neste contexto, vinte e cinco genótipos de café foram estudados quanto à tolerância ao Al avaliada pela inibição no crescimento da parte aérea e das raízes e pelo teste de coloração das raízes com hematoxilina. Avaliou-se, também, a alocação do Al nas pontas das raízes. Após 35 e 75 dias de cultivo em solução nutritiva, na ausência ou presença de Al, foram avaliados o comprimento da raiz principal e, aos 80 dias, a produção de biomassa seca da parte aérea e das raízes. Os resultados expressos em percentagem de inibição causada pelo Al foram analisados pela técnica multivariada, e os genótipos foram separados em classes: tolerante, intermediária e sensível. O teste de coloração com hematoxilina foi realizado após 80 dias de cultivo em solução nutritiva, e os genótipos foram avaliados de acordo com a intensidade de coloração da ponta da raiz. Apenas três genótipos foram tolerantes ao Al e seis foram sensíveis, enquanto a maioria deles pertenceu à classe de tolerância intermediária. O teste de coloração com hematoxilina não permitiu a adequada diferenciação dos genótipos quanto à tolerância ao alumínio. Em cortes transversais das pontas das raízes do genótipo mais tolerante, observou-se a localização do alumínio apenas nas células epidérmicas, enquanto, no genótipo de tolerância intermediária, o Al localizou-se nas células epidérmicas e em várias camadas de células do córtex.

Termos de indexação: *Coffea arabica* L., *C. canephora* Pierre, seleção, estresse, solos ácidos.

⁽¹⁾ Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor, apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Realizado com auxílio do CNPq e da FAPEMIG. Recebido para publicação em janeiro de 1999 e aprovado em janeiro de 2000.

⁽²⁾ Estudante de Doutorado do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, CEP 36571-000 Viçosa (MG). Bolsista do CNPq. E-mail: albraccini@uol.com.br

⁽³⁾ Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia - UFV. Bolsista do CNPq.

⁽⁴⁾ Professor Titular do Departamento de Biologia Vegetal - UFV. Bolsista do CNPq.

⁽⁵⁾ Professor Adjunto do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Av. Colombo, 5.790. CEP 87020-900 Maringá (PR). Bolsista do CNPq.

SUMMARY: *PLANT GROWTH AND ROOT HEMATOXYLIN STAINING TO EVALUATE ALUMINUM TOXICITY TOLERANCE OF COFFEE GENOTYPES*

The screening of plants for aluminum tolerance is an alternative to soils with toxic levels of this element. Twenty five coffee genotypes were evaluated for aluminum tolerance in relation to inhibition of shoot and root growth and by the hematoxylin staining test. The aluminum accumulation in root tissues was also evaluated. After 35 and 75 days of plant growth in nutrient solution with and without aluminum, the length of the main root was evaluated. After 80 days of exposure to Al, the dry biomass of shoot and roots was also evaluated. The inhibition percentage promoted by aluminum was analyzed by the multivariate technique and the genotypes were classified as tolerant, intermediate and susceptible. The hematoxylin staining test was conducted after 80 days of plant development in nutrient solution and the genotypes were evaluated by the intensity of root tip staining. The results indicated that only three genotypes were classified as Al tolerant, and six were susceptible, while most of the genotypes were in the intermediate class. The hematoxylin staining test was not suitable for assessment of Al tolerance. The Al accumulation in the most tolerant genotype was only observed in the epidermal cells, while in the genotypes classified as intermediate, there was Al accumulation in the epidermal cells and in several layers of the cortex cells.

Index terms: Coffea arabica L., C. canephora Pierre, screening technique, stress, acid soils.

INTRODUÇÃO

A presença de Al em níveis tóxicos nas camadas subsuperficiais pode limitar o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular das plantas, tornando-as menos tolerantes às condições de déficit hídrico.

O problema toxidez de Al e deficiência de Ca no subsolo pode ser contornado ou reduzido de várias formas, seja pelo movimento do Ca aplicado na camada arável (Chaves et al., 1988; Guimarães, 1992), seja pelo uso de cultivares tolerantes (Taylor, 1991). Em muitos solos, a calagem aplicada na superfície causa pouca movimentação de Ca e elevação do pH para neutralizar o Al no subsolo (Chaves et al., 1988). Recomendam-se, como alternativas, a correção superficial do solo, como usualmente é feita, e a utilização de variedades com capacidade de emitir raízes em subsolos com Al em níveis tóxicos (Taylor, 1991; Foy, 1997).

Na caracterização de genótipos tolerantes a Al, existem diferentes procedimentos de "screening" que podem ser divididos em quatro categorias: (a) avaliações, em solução nutritiva, do crescimento da parte aérea e do sistema radicular, na presença e na ausência de Al (Wallace et al., 1982; Cambraia et al., 1991); (b) cultivo em solo com diferentes saturações por Al (Foy, 1997); (c) testes de coloração que avaliam o acúmulo de Al na extremidade das raízes, como hematoxilina, pyrocatechol e nitrato de prata (Massot et al., 1991; Rincón & Gonzales, 1992; Braccini et al., 1996), e (d) cultura de tecidos e células (Mix, 1990).

Estudos realizados em solução nutritiva apresentam uma série de vantagens, por permitirem comparar grande número de genótipos em menor espaço de tempo e controlar fatores associados à toxidez, como pH e composição da solução. Além disso, possibilitam a utilização das plantas após a avaliação dos efeitos tóxicos do Al, que é um ponto extremamente importante no caso de cultura perene, como o café, que apresenta taxa de crescimento muito lenta.

A técnica de coloração com hematoxilina tem sido usada para selecionar cultivares de trigo tolerantes ao Al (Polle et al., 1978; Wallace et al., 1982). O método é simples e se baseia na propriedade da hematoxilina de apresentar coloração violeta, quando complexada com Al, permitindo detectar o acúmulo de Al nos tecidos radiculares.

Para as diferentes técnicas de seleção existem, na literatura, vários critérios para avaliar a tolerância. Os mais fáceis são baseados em observações visuais da evolução de necrose na parte aérea e no sistema radicular (Nuernberg et al., 1990). São, também, muito utilizadas as medidas de produção de biomassa seca da parte aérea e das raízes, comprimento total ou comprimento da raiz principal, volume e número de raízes, redução relativa na elongação radicular, capacidade de recuperação das plantas após a remoção do estresse de Al e índice de tolerância [(crescimento com Al/crescimento sem Al) * 100] (Wallace et al., 1982; Cambraia et al., 1991). Entretanto, não existe consenso entre os pesquisadores para propor condições experimentais e critérios para avaliar a

sensibilidade ao Al. Nuernberg et al. (1990) verificaram que na classificação de cultivares de trevo vermelho quanto à tolerância ao Al, a combinação de duas ou mais variáveis, especialmente aquelas envolvendo parte aérea e raízes, apresenta resultados mais consistentes.

Braccini et al. (1998) avaliaram a contribuição relativa de diferentes características de crescimento, por meio da técnica multivariada de análise de componentes principais, para discriminar nove genótipos de café quanto à tolerância ao alumínio, cultivados em solução nutritiva. As características radiculares - redução do peso de matéria seca de raiz e do comprimento da raiz principal e aumento do número de raízes secundárias - foram as que mais contribuíram para discriminação dos genótipos. As características de menor importância foram: peso de matéria seca total, área foliar, peso de matéria seca da parte aérea e altura de planta.

O objetivo deste trabalho foi selecionar genótipos de café quanto à tolerância ao alumínio, em decorrência da inibição no crescimento das plantas e da coloração das raízes com hematoxilina, bem como avaliar a alocação do alumínio em cortes de extremidade de raízes.

MATERIAL E MÉTODOS

Inibição no crescimento da parte aérea e das raízes e na elongação radicular

Sementes de vinte e cinco genótipos de café, sem o pergaminho, foram colocadas para germinar em rolos de papel-toalha à temperatura de 30°C. Após 40 dias, as plântulas foram transferidas para casa de vegetação. Após a seleção, quanto à uniformidade de tamanho, as plântulas foram fixadas em placas de isopor, revestidas com papel alumínio, e colocadas em bandejas com 13 litros de solução nutritiva. Utilizou-se a solução de Hoagland & Arnon (1950) diluída a 1/4 e modificada quanto à concentração de P (0,025 mmol L⁻¹). O alumínio foi fornecido nas concentrações de 0 e 0,296 mmol L⁻¹, como AlCl₃. A concentração de fósforo e o pH da solução nutritiva foram mantidos baixos para minimizar a precipitação com alumínio. O pH das soluções foi ajustado diariamente com HCl 0,1 mol L⁻¹ ou NaOH 0,1 mol L⁻¹ para 4,2, permitindo variações de pH entre 4,0 e 4,4, durante o período experimental de 80 dias. As soluções foram mantidas sob arejamento constante e as trocas foram realizadas a cada 30 dias.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com quatro repetições, num esquema fatorial com 50 tratamentos, constituídos pela combinação de 25 genótipos (Quadro 1) e dois níveis de alumínio. A parcela experimental foi constituída de três plantas.

Avaliou-se o comprimento da raiz principal aos 35 e 75 dias, para calcular sua taxa de crescimento e a redução relativa na elongação radicular (REDREL), neste intervalo de tempo, determinada da seguinte forma: $\{[1 - (\text{incremento com Al} / \text{incremento sem Al})] \times 100\}$. Aos 80 dias, foram colhidas a parte aérea e as raízes. Após a secagem em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 70°C por 72 h, foi avaliada a produção de biomassa seca da parte aérea e das raízes.

Para identificar os genótipos quanto à tolerância ao Al, os percentuais de redução no crescimento da parte aérea e das raízes $\{\%RC = [1 - (\text{crescimento com Al} / \text{crescimento sem Al})] \times 100\}$ e na elongação radicular (REDREL) foram analisados pela técnica multivariada baseada na função discriminante, proposta por Anderson (1958). Esta técnica é usada para separar grupos de observações distintos e alocar nova observação em grupo previamente definido. Funções lineares são calculadas para os dados de grupos com o propósito de classificar novo indivíduo em um dos grupos. Esta análise pressupõe uma otimização da classificação quando se considera, simultaneamente, um conjunto de variáveis tomadas em cada genótipo.

Para obtenção das funções discriminantes, é necessário o conhecimento prévio dos genótipos que pertencem a cada um dos grupos em que se pretende alocar os materiais genéticos de comportamento desconhecido. Tomando como referência experimento preliminar, o genótipo UFV 2955 foi utilizado como padrão representativo de tolerância, os genótipos UFV 2145 e 2164, como padrão de tolerância intermediária, e UFV 2877 e 3880, como padrão de sensibilidade.

Pelo critério de classificação de Anderson (1958), determinado genótipo é considerado tolerante, se o resultado da função discriminante $D_t(x)$ for maior que $D_i(x)$ ou $D_s(x)$; de tolerância intermediária, se $D_i(x)$ for maior que $D_t(x)$ ou $D_s(x)$, e sensível, em caso contrário. Na análise discriminante, utilizou-se o programa GENES I – Análise de modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético (Cruz, 1997).

Teste de coloração das raízes com hematoxilina e alocação do alumínio nos tecidos radiculares

As plântulas foram mantidas em solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), diluída a 1/4 a pH 6,0, por um período de 80 dias, na ausência de alumínio. Em seguida, foram transferidas para solução nutritiva, pH 4,2, na presença 0,296 mmol L⁻¹ de Al, por um período de 20 h. Nesta solução, Fe foi omitido, para evitar interferência no processo de coloração, e a concentração de P foi reduzida a 0,025 mmol L⁻¹, para evitar precipitação com alumínio.

O acúmulo de alumínio nas pontas das raízes foi avaliado pela coloração com hematoxilina, segundo método proposto por Polle et al. (1978), modificado quanto à concentração de hematoxilina. A solução

Quadro 1. Identificação e origem dos genótipos de café utilizados no experimento

Identificação	Origem do material	Variedade/híbrido
UFV 2144	IAC H 2077-2-5-44	Catuai Vermelho
UFV 2145	IAC H 2077-2-5-81	Catuai Vermelho
UFV 2147	IAC H 2077-2-5-99	Catuai Vermelho
UFV 2237	IAC H 2077-2-5-15	Catuai Vermelho
UFV 2149	IAC H 2077-2-12-91	Catuai Amarelo
UFV 2150	IAC LCMP 376-4-32	Mundo Novo
UFV 2163	IAC LCP 388-17-16	Mundo Novo
UFV 2164	IAC LCMP 515-3	Mundo Novo
UFV 1340	UFV 386-19 ⁽¹⁾	Catimor
UFV 1603	UFV 395-141 ⁽¹⁾	Catimor
UFV 2877	2 IV EP21.2	Catimor
UFV 2859	124 EP 20.1	Catimor
UFV 3869	202 EP 20.1	Catimor
UFV 3880	232 T15 PN	Catimor
UFV 3092	IAC 2942	Icatu Vermelho
UFV 2953	IAC 4040	Icatu Vermelho
UFV 2954	IAC 4042	Icatu Vermelho
UFV 2955	IAC 4045	Icatu Vermelho
UFV 2956	IAC 4782	Icatu Vermelho
H 418-3	UFV 2143-235 x UFV 443-01	Catuai Amarelo x Híbrido de Timor
H 418-6	UFV 2143-235 x UFV 443-01	Catuai Amarelo x Híbrido de Timor
H 464-5	UFV 2190-100 x UFV 440-22	Mundo Novo x Híbrido de Timor
H 484-2	UFV 2164-193 x UFV 443-03	Mundo Novo x Híbrido de Timor
UFV 534	CIFC 19/1	Caturra Vermelho
UFV 514	<i>Coffea canephora</i>	Guarini

⁽¹⁾ Geração F₃ de CIFC HW26/5 (CIFC 19/1 – Caturra Vermelho x CIFC 832/1 – Híbrido de Timor).

corante foi preparada, dissolvendo-se 1 g de hematoxilina, 0,1 g de NaIO₃ e uma gota de NaOH 0,1 mol L⁻¹ em um litro de água destilada.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com três repetições e vinte e cinco tratamentos (genótipos). Cada bandeja com 30 L de solução nutritiva constituiu um bloco, com três plantas por parcela. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5%, utilizando o programa SAEG – Sistema para análise estatística e genéticas (Euclides, 1983).

Após o período de exposição ao Al, as plantas foram transferidas para bandejas que continham água desionizada e mantidas sob arejamento constante, por 30 min. Em seguida, foram submetidas à solução de hematoxilina, por 15 min, em quantidade suficiente para cobrir as raízes, lavadas em água corrente por cerca de um minuto e, novamente, mantidas em água desionizada, por 30-60 min, para remover o excesso de coloração. A ponta da raiz principal (1,5 cm) foi avaliada por meio de uma escala de notas que variou de 1 (menor acúmulo de Al) a 6 (maior acúmulo de Al) (Figura 1), conforme a intensidade e localização da região colorida,

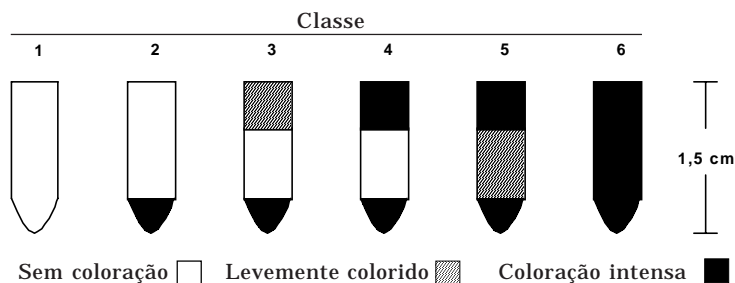


Figura 1. Avaliação do acúmulo de alumínio em raízes de plantas por meio do teste de coloração pela hematoxilina.

segundo critério adotado por Fonseca Jr. (1982). As classes três e quatro apresentaram zonas de exclusão em virtude do acúmulo de Al na região basal nos genótipos mais tolerantes, enquanto os genótipos sensíveis apresentaram maior acúmulo de Al na região meristemática. As raízes foram examinadas por meio de microscópio estereoscópio Olympus modelo SZH, com aumento de 10 vezes.

Para avaliar a alocação do Al nos tecidos radiculares, as plantas foram transferidas para solução nutritiva na presença de Al por 20 h. Após este período, foram submetidas à coloração com hematoxilina, por 30 min, e, posteriormente, mantidas em água desionizada por 10 min. Em seguida, foram realizados cortes transversais das pontas das raízes (0,5 cm), examinados em microscópio Zeiss modelo Docuval e, posteriormente, fotografados.

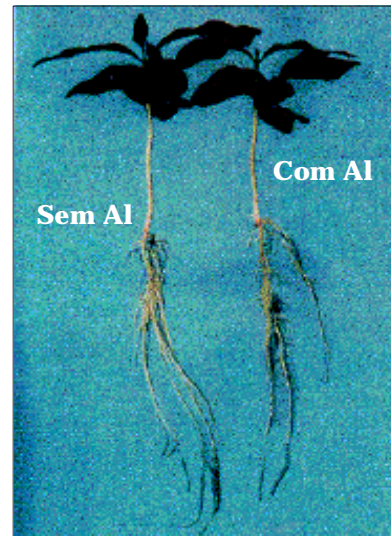
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Enquanto na ausência de Al as raízes eram longas e finas e de coloração mais clara, na presença de Al apresentaram sintomas típicos de toxidez: engrossamento, amarelecimento e encurtamento das raízes (Figura 2). Os sintomas de toxidez de Al observados neste trabalho concordam com os relatados por Pavan & Bingham (1982), Londoño & Valencia-Aristizábal (1983) e Rodrigues (1997).

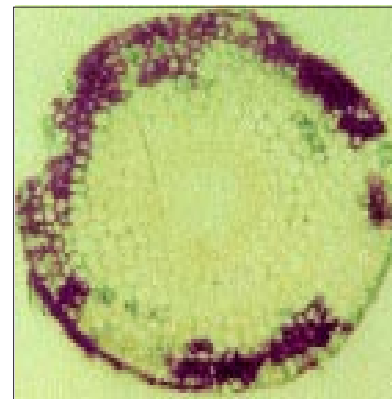
Os efeitos tóxicos do Al no crescimento das plantas são atribuídos à sua influência sobre vários processos bioquímicos e fisiológicos (Marschner, 1995), sendo o crescimento radicular o principal indicador da sensibilidade das plantas à toxidez (Cambráia et al., 1991). O Al reduziu a produção de biomassa seca da parte aérea (BPA) e das raízes (BRA - Quadro 2), bem como a alongação radicular (Quadro 3). Em alguns casos, ocorreu pequeno aumento na produção de biomassa seca da parte aérea das raízes, como constatado para os genótipos de Icatu, UFV 2955 e 2956.

A alongação radicular foi mais afetada do que a produção de biomassa seca da parte aérea e das raízes, apresentando redução de até 62% no caso do Guarini. A taxa de crescimento da raiz principal na ausência de Al foi, em média, de 0,24 cm dia⁻¹, enquanto na presença de Al reduziu-se para 0,16 cm dia⁻¹, representando redução média na alongação radicular de 34%. Macedo et al. (1997) também constataram que, na presença de Al, o comprimento das raízes de quatro genótipos de arroz foi mais afetado do que a produção de biomassa seca das raízes.

Nuernberg et al. (1990) ressaltaram a importância de utilizar simultaneamente duas ou mais características, especialmente relativas à parte aérea e raízes, para detectar diferenças na tolerância.



(a)



(b)

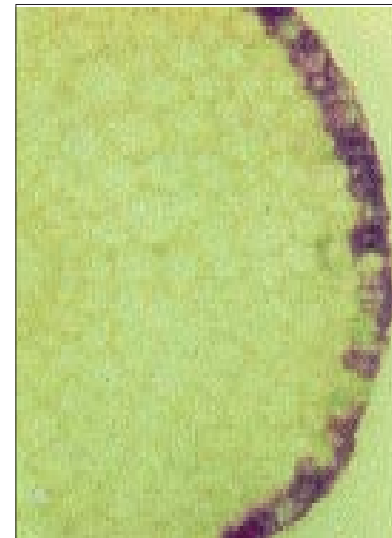


Figura 2. Desenvolvimento do sistema radicular do Robusta (UFV 514) na ausência e na presença de alumínio, em solução nutritiva, e cortes transversais da ponta de raízes de genótipos de café, após 20 h de exposição ao alumínio, na concentração de 0,296 mmol L⁻¹, e coloridas com hemotoxilina. (a) tolerância intermediária (Icatu, IC 4042) e (b) tolerante (Icatu, IC 4045).

Quadro 2. Produção de biomassa seca da parte aérea (BPA) e das raízes (BRA) e respectivos percentuais de variação de genótipos de café, em ausência e presença de alumínio em solução nutritiva

Genótipo	BPA			BRA		
	-Al	+Al	Variação	- Al	+Al	Variação
	mg		%	mg		%
UFV 2144	90,83	62,58	-31,1	25,83	20,42	-21,0
UFV 2145	112,25	77,83	-30,7	32,83	23,33	-28,9
UFV 2147	110,58	90,18	-18,4	40,75	29,17	-28,4
UFV 2237	86,00	63,67	-26,0	30,58	20,05	-34,4
UFV 2149	101,08	87,25	-13,7	32,25	25,75	-20,2
UFV 2150	100,67	68,17	-32,3	31,92	19,00	-40,5
UFV 2163	84,75	64,17	-24,3	24,08	18,00	-25,3
UFV 2164	123,42	86,33	-30,0	34,67	24,83	-28,4
UFV 1340	124,00	73,67	-40,6	34,54	17,42	-49,6
UFV 1603	75,33	61,82	-17,9	19,92	15,64	-21,5
UFV 2877	87,92	53,36	-39,3	27,50	13,00	-52,7
UFV 2859	67,75	49,92	-26,3	18,92	12,50	-33,9
UFV 3869	132,33	97,58	-26,3	36,83	25,75	-30,1
UFV 3880	91,08	63,50	-40,2	27,42	17,00	-37,0
UFV 3092	90,25	74,67	-17,3	23,42	19,17	-18,1
UFV 2953	67,42	56,08	-16,8	18,50	11,67	-36,9
UFV 2954	77,00	57,00	-26,0	17,25	11,70	-32,4
UFV 2955	68,75	73,25	+6,55	16,67	18,92	+13,5
UFV 2956	61,08	61,75	+1,1	14,17	14,58	+2,9
H 418-3	82,50	69,67	-15,6	19,67	15,00	-23,7
H 418-6	82,58	68,58	-16,9	23,75	18,42	-22,5
H 464-5	91,67	61,75	-32,6	23,50	12,50	-46,3
H 484-2	80,36	57,25	-28,8	18,91	15,17	-19,8
UFV 534	123,17	79,83	-35,2	39,25	24,17	-38,4
UFV 514	138,33	94,58	-31,6	40,25	27,58	-31,5
Média	94,04	70,51	-24,4	26,78	19,07	-28,2

De acordo com Cambraia et al. (1991) e Macedo et al. (1997), os valores relativos são os melhores critérios para estimar a tolerância mesmo para amplitudes pequenas.

Foram obtidos para os genótipos tolerantes, sensíveis e de tolerância intermediária, representados por $D_t(x)$, $D_s(x)$ e $D_i(x)$, respectivamente, as seguintes funções discriminantes:

$$D_t(x) = -6,4285 + 0,2415 \text{ BPA} - 0,3587 \text{ BRA} + 0,3386 \text{ REDREL}$$

$$D_i(x) = -4,7654 + 0,3995 \text{ BPA} - 0,3385 \text{ BRA} + 0,1855 \text{ REDREL}$$

$$D_s(x) = -9,6231 + 0,3413 \text{ BPA} - 0,3556 \text{ BRA} + 0,3793 \text{ REDREL}$$

A classificação dos genótipos quanto à tolerância ao Al com as respectivas estimativas das funções discriminantes é apresentada no quadro 4. Verifica-se que os genótipos considerados previamente como

tolerante (UFV 2955), sensíveis (UFV 2877 e 3880) ou de tolerância intermediária (UFV 2145 e 2164) mantiveram suas posições com a análise discriminante. Desta forma, a taxa de erro aparente, que mede o número de classificação errada, foi nula. Portanto, as funções estimadas têm consistência estatística e as inferências a respeito dos genótipos desconhecidos são válidas.

O padrão de comparação da classe tolerante foi o UFV 2955. Este genótipo apresentou pequena redução na elongação radicular e aumento na produção de biomassa seca da parte aérea e das raízes, na presença de Al. Desta forma, apenas três genótipos foram classificados como tolerantes, sendo dois Icatu e um híbrido (Mundo Novo x Híbrido de Timor), enquanto seis foram classificados como sensíveis, sendo três Catimor, um Icatu, um híbrido (Mundo Novo x Híbrido de Timor) e um Guarini (Quadro 4). O Icatu é originário de cruzamento interespecífico

Quadro 3. Comprimento da raiz principal aos 35 e 75 dias, taxa de crescimento de raiz (TCR) e redução relativa na elongação radicular (REDREL) de genótipos de café, em ausência e presença de alumínio em solução nutritiva

Genótipo	Sem Al			Com Al			REDREL
	35 dias	75 dias	TCR	35 dias	75 dias	TCR	
	cm	cm	cm/dia	cm	cm	cm/dia	%
UFV 2144	5,15	14,71	0,24	4,11	11,14	0,18	26,4
UFV 2145	5,51	14,57	0,23	5,17	11,91	0,17	25,6
UFV 2147	6,59	19,20	0,32	4,21	13,55	0,23	25,9
UFV 2237	5,08	14,56	0,24	3,67	10,05	0,16	32,7
UFV 2149	5,54	16,03	0,26	4,54	12,40	0,20	25,1
UFV 2150	4,69	15,49	0,27	7,54	15,03	0,19	30,6
UFV 2163	4,82	15,09	0,26	3,71	11,45	0,19	24,6
UFV 2164	7,33	19,33	0,30	2,99	11,72	0,22	27,2
UFV 1340	5,33	15,75	0,26	5,58	12,58	0,18	32,8
UFV 1603	6,67	16,05	0,23	3,94	11,31	0,18	21,4
UFV 2877	4,19	11,66	0,19	3,89	7,49	0,09	51,8
UFV 2859	4,95	16,10	0,28	3,37	9,03	0,14	49,2
UFV 3869	4,77	19,09	0,36	4,36	14,06	0,24	32,3
UFV 3880	5,61	19,01	0,34	3,61	10,22	0,17	50,7
UFV 3092	5,53	12,85	0,18	4,52	10,50	0,15	18,3
UFV 2953	5,37	12,11	0,17	5,04	7,74	0,07	59,9
UFV 2954	5,80	12,38	0,16	4,64	9,02	0,11	33,4
UFV 2955	8,50	16,05	0,19	6,61	12,51	0,15	21,8
UFV 2956	7,24	15,25	0,20	5,00	11,29	0,16	21,5
H 418-3	6,57	15,37	0,22	4,27	9,77	0,14	37,5
H 418-6	5,30	13,18	0,20	4,61	10,99	0,16	19,0
H 464-5	5,43	15,49	0,25	4,97	9,00	0,10	59,9
H 484-2	4,94	12,90	0,20	4,21	10,36	0,15	22,7
UFV 534	4,27	15,38	0,28	3,83	10,80	0,17	37,3
UFV 514	8,05	14,55	0,16	4,96	7,42	0,06	62,1
Média	5,73	15,26		4,53	10,85		34,0

entre Robusta e Bourbon Vermelho, o Catimor de cruzamento entre Caturra e Híbrido Timor, enquanto Híbrido de Timor é originário de hibridação espontânea entre *C. canephora* e *C. arabica*. Portanto, tanto os genótipos sensíveis quanto os tolerantes possuem como ancestrais a espécie *Coffea canephora*. Possivelmente, a maior sensibilidade ao Al se deve à contribuição do *C. canephora*, uma vez que o Guarini também foi sensível ao Al.

Passo & Ruiz (1995) avaliaram a tolerância diferencial dos cafeeiros Conilon e Catuaí aos baixos índices de pH e aos teores elevados de Al em solução nutritiva. Em pH 4,0 e na presença de Al, após 170 dias do transplante, o Conilon apresentou redução na produção de biomassa seca da parte aérea e das raízes de 80% e 75%, respectivamente, enquanto o Catuaí mostrou redução de 67% na parte aérea e 58% nas raízes. Esses resultados reforçam a idéia de que a maior sensibilidade apresentada pelos

genótipos de Catimor, Icatu e híbrido (Mundo Novo x Híbrido de Timor) deve-se à presença do *C. canephora* na origem desses materiais.

Dezesseis genótipos apresentaram tolerância intermediária, dentre eles cinco Catuaí, três Mundo Novo, três Catimor, dois Icatu, um Caturra e dois híbridos (Catuaí x Híbrido de Timor; Mundo Novo x Híbrido de Timor) (Quadro 4).

Bragança et al. (1987) avaliaram o comportamento de dois cultivares de café, um Catimor e um Catuaí Amarelo, sob níveis crescentes de Al trocável no solo, durante seis meses. Os dois cultivares não apresentaram tolerância ao Al e foram afetados de modo semelhante, apresentando redução na produção de biomassa seca de folhas, caule e raízes, altura de plantas, diâmetro de caule e área foliar. Na presença de 2,0 cmol_c dm⁻³ de Al³⁺, a redução na produção de biomassa seca das raízes foi de 47%, para o Catimor, e de 80%, para o Catuaí. Dos seis genótipos de Catimor,

Quadro 4. Classificação dos genótipos de café quanto à tolerância ao alumínio, com as respectivas estimativas das funções discriminantes, considerando o percentual de variação na produção de biomassa seca da parte aérea e das raízes e redução relativa na elongação radicular

Genótipo	Dt(x)	Di(x)	Ds(x)	Classificação
UFV 2144	2,5044	5,4617	3,5551	Intermediária
UFV 2145	-0,7321	2,4400	0,2660	Intermediária
UFV 2147	-3,3883	-2,2064	-3,5982	Intermediária
UFV 2237	-1,4343	0,0211	-0,5953	Intermediária
UFV 2149	-1,8650	-1,4722	-2,6113	Intermediária
UFV 2150	-2,7712	0,1188	-1,3707	Intermediária
UFV 2163	-1,2944	0,9503	-0,9850	Intermediária
UFV 2164	-0,1199	2,6920	0,8820	Intermediária
UFV 1340	-3,3036	0,7531	-0,9581	Intermediária
UFV 1603	-2,5488	-0,8979	-3,0140	Intermediária
UFV 2877	1,6920	2,6981	4,6921	Sensível
UFV 2859	4,4335	3,4012	5,9756	Sensível
UFV 3869	0,0442	1,5245	0,8772	Intermediária
UFV 3880	7,1609	8,1710	10,1604	Sensível
UFV 3092	-2,5701	-0,6148	-3,2398	Intermediária
UFV 2953	4,6795	0,5655	5,7166	Sensível
UFV 2954	-0,4500	0,8565	0,4118	Intermediária
UFV 2955	4,2339	1,2422	1,2345	Tolerante
UFV 2956	1,6343	-0,2235	-0,8038	Tolerante
H 418-3	1,5149	0,3727	1,4728	Tolerante
H 418-6	-3,9437	-2,0627	-4,6019	Intermediária
H 464-5	5,1361	3,7132	7,7822	Sensível
H 484-2	1,1171	4,2434	1,7809	Intermediária
UFV 534	0,9014	3,1948	2,8546	Intermediária
UFV 514	10,9674	8,7457	13,5578	Sensível

avaliados no presente trabalho, três foram considerados sensíveis e três apresentaram tolerância intermediária.

O teste de coloração com hematoxilina possibilitou separar pelo teste Scott-Knott apenas o genótipo que acumulou mais Al, o Icatu 4042 (Grupo I) dos demais (Grupo II). Ele apresentou maior intensidade de coloração nas pontas das raízes, recebendo nota 6, enquanto os outros apresentaram, em média, nota 2,24, uma vez que pertenceram às classes 2 e 3. As plantas foram expostas ao Al, na concentração de 0,296 mmol L⁻¹, durante 20 h. Esta condição não permitiu adequada diferenciação dos genótipos. Desta forma, para a melhor utilização deste método, torna-se necessário estabelecer anteriormente a concentração, bem como o tempo de exposição ao Al.

A coloração com hematoxilina, isoladamente, não é considerada adequada para seleção de genótipos de café tolerantes ao Al, porque o resultado obtido depende dos mecanismos de tolerância envolvidos. Por exemplo, um genótipo que acumule muito Al e apresente mecanismo de tolerância relacionado com a detoxificação do Al após sua absorção poderá ser considerado sensível pelo teste. Por outro lado, Polle

et al. (1978), Wallace et al. (1982) e Scott et al. (1992) utilizaram o teste de coloração com hematoxilina para selecionar genótipos de trigo quanto à tolerância ao Al. Esses pesquisadores concluíram que é um teste simples e rápido para separar grande número de populações e que se correlacionou bem com os resultados obtidos em solução nutritiva. Todavia, tal comportamento não parece ser verdadeiro para cultivares de feijão (Massot et al., 1991) e para genótipos de café.

Cultivares de trigo tolerantes ao Al possuem menor capacidade de troca de cátions das raízes e tendem a acumular menos Al (Polle et al., 1978). Desta forma, o teste de coloração com hematoxilina poderia indicar maior ou menor tolerância ao Al. Por outro lado, em feijão, Massot et al. (1991) verificaram que a maior tolerância ao Al foi relacionada com alta concentração de Al nas raízes. Este acúmulo de Al nas variedades tolerantes pode ser explicado pela maior capacidade de precipitar o Al como polímeros, excluindo o Al da membrana plasmática (Taylor, 1991; Kochian, 1995).

Em raízes de café expostas ao Al durante 20 h, observou-se que, no genótipo mais tolerante (Figura 2b), o Al localizou-se apenas nas células

epidérmicas, enquanto, no genótipo de tolerância intermediária (Figura 2a), observou-se sua presença nas células epidérmicas e em várias camadas de células do córtex. Nenhuma coloração foi observada nas raízes das plantas-controle (sem Al), seccionadas e examinadas ao microscópio. Rincón & Gonzales (1992) verificaram que a sensibilidade diferencial de cultivares de trigo pode ocorrer em virtude da alocação de Al na região meristemática. O cultivar sensível apresenta maior intensidade de coloração na região apical, enquanto o cultivar tolerante mostra alocação de Al na região basal. Observaram, também, que o Al localizou-se principalmente na parede celular, nos espaços intercelulares e no núcleo das células do córtex e da epiderme.

A menor formação do complexo Al-hematoxilina, no caso do genótipo tolerante UFV 2955, pode estar relacionada com mudanças químicas ocorridas nas pontas das raízes, tais como: alterações no pH próximo às raízes ou síntese de quelatos que podem interferir na formação do complexo Al-hematoxilina (Massot et al., 1991; Kochian, 1995). A localização do Al nos tecidos radiculares, avaliada por meio de cortes transversais na ponta da raiz colorida, associada com outras características, como redução no crescimento radicular, permite inferir estar a maior tolerância apresentada pelo Icatu (UFV 2955) relacionada com algum mecanismo de exclusão.

CONCLUSÕES

1. De acordo com a variação percentual na produção de biomassa seca de parte aérea e raízes, e a redução relativa na elongação radicular, vinte e cinco genótipos de café foram agrupados em três classes de tolerância ao Al. Dezesesseis apresentaram tolerância intermediária, seis foram classificados como sensíveis e apenas três foram tolerantes ao Al na concentração de 0,296 mmol L⁻¹.

2. O teste de coloração com hematoxilina não se caracterizou como um método de discriminação promissor para selecionar genótipos de café quanto à tolerância ao Al.

3. Em genótipo com tolerância intermediária, que apresentou maior intensidade de coloração com hematoxilina, o Al localizou-se nas células epidérmicas e em várias camadas de células do córtex. Em genótipo mais tolerante, o Al localizou-se apenas nas células epidérmicas, evidenciando a existência de mecanismo de exclusão.

LITERATURA CITADA

- ANDERSON, T.W. An introduction to multivariate statistical analysis. New York, John Wiley, & Sons, 1958. 374p.
- BRACCINI, M.C.L.; BRACCINI, A.L.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R.G. & FONTES, P.C.R. Técnicas de avaliação da toxicidade do alumínio em plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas em solução nutritiva. R. Ceres, 43: 3-16, 1996.
- BRACCINI, M.C.L.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R.G.; SAMPAIO, N.F. & SILVA, E.A.M. Tolerância de genótipos de cafeeiro ao alumínio em solução nutritiva. I. crescimento e desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular. R. Bras. Ci. Solo, 22:435-442, 1998.
- BRAGANÇA, J.B.; PAULINO, A.J.; MATIELLO, J.B. & FABRIS, E.J. Efeito do alumínio trocável do solo sobre o crescimento inicial do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) catimor (Catimor 183) e catuaí. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 14., Campinas, 1987. Anais. Rio de Janeiro, COTEC/DIPRO/IBC, 1987. p. 295-297.
- CAMBRAIA, J.; SILVA, M.A.; CANO, M.A.O. & SANT'ANNA, R. Método simples para a avaliação de cultivares de sorgo quanto a tolerância ao alumínio. R. Bras. Fisiol. Veg., 3:87-95, 1991.
- CHAVES, J.C.D.; PAVAN, M.A. & MIYAZAWA, M. Redução da acidez subsuperficial em coluna de solo. Pesq. Agropec. Bras., 23:469-476, 1988.
- CRUZ, C.D. Programa GENES – aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1997. 442p.
- EUCLYDES, R.F. Sistema para análise estatística e genéticas (SAEG) – manual provisório. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1983. 74p.
- FONSECA Jr., N.S. Estudo da herança da tolerância ao alumínio em soja (*Glycine max* (L.) Merrill), pelo método da hematoxilina. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1982. 46p. (Tese de Mestrado)
- FOY, C.D. Tolerance of eastern gamagrass to excess of aluminum in acid soil and nutrient solution. J. Plant Nutr., 20:1119-1136, 1997.
- GUIMARÃES, P.T.G. O uso do gesso agrícola na cultura do cafeeiro. In: SEMINÁRIO SOBRE O USO DO GESSO NA AGRICULTURA, 2., Uberaba, 1992. Anais. São Paulo, Instituto Brasileiro do Fósforo, 1992. p.175-190.
- HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley, Cal. Agric. Exp. Station, 1950. 347p. (Cal. Agric. Exp. Station, Cir.)
- KOCHIAN, L.V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 46:237-260, 1995.
- LONDOÑO, M.E.A. & VALENCIA-ARISTIZÁBAL, G. Toxicidade de alumínio em plantas de café. Cenicafé, 34:61-97, 1983.
- MACEDO, J. Os solos da região dos cerrados. In: ALVAREZ V., V.H.; FONTES, L.E.F. & FONTES, M.P.F., eds. O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996. p.135-140.

- MACEDO, C.C.; KINET, J.M. & Van SINT JAN, V. Effects of duration and intensity of aluminum stress on growth parameters in four genotypes differing in aluminum sensitivity. *J. Plant Nutr.*, 20:181-193, 1997.
- MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. London, Academic Press, 1995. 889p.
- MASSOT, N.; POSCHENRIEDER, C. & BARCELÓ, J. Aluminum tolerance assessment in bush bean cultivars by root growth analysis and hematoxylin staining. *Suelo Planta*, 1:25-32, 1991.
- MIX, G. Application of in vitro techniques for screening plant genetic variability. In: EL BASSAM, N.; DAMBROTH, M. & LOUGHMAN, B.C., eds. Genetic of plant mineral nutrition. Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1990. p.339-343.
- NUERNBERG, N.J.; BISSANI, C.A.; CAMPBELL, T.A. & FOY, C.D. Screening pasture plants for aluminum tolerance. In: EL BASSAM, N.; DAMBROTH, M. & LOUGHMAN, B.C., eds. Genetic of plant mineral nutrition. Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1990. p.345-353.
- PASSO, R.R. & RUIZ, H.A. Tolerância dos cafeeiros conilon e catuaí à toxidez causada pelo alumínio e manganês. *R. Ceres*, 42:45-52, 1995.
- PAVAN, M.A. & BINGHAM, F.T. Toxicity of aluminum to coffee grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46:993-997, 1982.
- POLLE, E.; KONZAK, C.F. & KITTRICK, J.A. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedling roots. *Crop Sci.*, 18:823-827, 1978.
- RINCÓN, M. & GONZALES, R.A. Aluminum partitioning in intact roots of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Plant Physiol.*, 99:1021-1028, 1992.
- RODRIGUES, L.A. Crescimento e composição mineral na parte aérea e raízes de duas variedades de café em resposta à calagem na subsuperfície do solo. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1997. 89p. (Tese de Mestrado)
- SCOTT, B.J.; FISHER, J.A. & SPOHR, J. Tolerance of Australian wheat varieties to aluminum toxicity. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 23:509-526, 1992.
- TAYLOR, G.J. Current views of the aluminum stress response; the physiological basis of tolerance. *Cur. Top. Plant Biochem. Physiol.*, 10:57-93, 1991.
- WALLACE, S.U.; HENNING, S.J. & ANDERSON, I.C. Elongation, Al concentration, and hematoxylin staining of aluminum-treated wheat roots. *Iowa State J. Res.*, 57:97-106, 1982.