

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**HERANÇA GENÉTICA E MAPEAMENTO MOLECULAR DA TOLERÂNCIA
À TOXICIDADE DO ALUMÍNIO EM AVEIA (*Avena sativa* L.)**

**Paulo Henrique de Oliveira
Engenheiro Agrônomo M.Sc. (UFSM)**

**Tese apresentada como um dos
requisitos à obtenção do Grau de
Doutor em Fitotecnia
Área de Concentração Plantas de Lavoura**

**Porto Alegre (RS), Brasil
Setembro de 2002**

Ofereço aos meus pais Angela e Murilo. Não tenho palavras para agradecer tudo que vocês fizeram por mim, simplesmente obrigado.

Dedico à minha companheira Marlize, pelo apoio e incentivo em todos os momentos, te amo.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho só pode ser realizado graças ao apoio e amizade de muitas pessoas. A todos aqueles que contribuíram para esta caminhada ficam externados os meus agradecimentos:

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por tudo;

Ao professor Luiz Carlos Federizzi pela orientação, ensinamentos e apoio durante a realização do Curso e preparação da tese;

À Professora Sandra C. K. Milach, pela co-orientação, amizade, incentivos e seu exemplo como pesquisadora;

Aos meus irmãos, Preta, Mano, Cláudia, Silvia e Lu, meus sobrinhos, Murilo, Iury, Hugo, Iann, Mateus, Talles, Lorenzo e Marina, as minhas cunhadas Vivian e Enilda, cunhados Leandro, Divair e Paulo, seu Jaci e Maria do Carmo, pelos momentos tão bons que passamos juntos os quais tornaram mais amenos os momentos mais difíceis;

Aos amigos de sempre Cassol e Júlia, Braida e Ana, Luiz e Hieda, Michelangelo e Cristina e Eurides e Mônica pela amizade e companheirismo;

Ao Cristiano, bolsista que se tornou um grande amigo, pelo companheirismo e dedicação. Simplesmente OBRIGADO “Nabinho”;

Ao Joaquim, Giovani e André pela amizade e colaboração na realização dos experimentos;

À Marta, Emerson e Paulo pela amizade e ajuda na parte molecular, mesmo quando estavam trabalhando em seus projetos não negaram auxílio a este sempre apressado colega;

À Carol pela orientação inicial nos trabalhos em tanques;

Aos colegas de laboratório e curso Carol, Cândida Cabral, Caren, Marta, Luis Marcelo, Roberto, Cândida Raquel, Paulo Roberto, Vinícius, Ana Cristina, Cláudia Lange, Ana Locatelli, Claudia Silva, Sérgio e Fábio, pela amizade e o convívio tornando mais agradável à realização do trabalho;

Aos amigos do futebol, Gilber, Michelangelo, Parzianello, Rambo, Cassol, Edson, Cícero, Miguel entre outros, pela amizade e momentos de descontração;

Aos colegas do CEFET, pela substituição nas disciplinas e compreensão nos momentos em que não pude estar contribuindo com o Curso;

Aos demais professores do Departamento pela amizade e ensinamentos transmitidos durante o Curso;

A CAPES pela bolsa.

HERANÇA GENÉTICA E MAPEAMENTO MOLECULAR DA TOLERÂNCIA À TOXICIDADE DO ALUMÍNIO EM AVEIA (*Avena sativa* L.)¹

Autor: Paulo Henrique de Oliveira

Orientador: Luiz Carlos Federizzi

Co-orientadora: Sandra Cristina Kothe Milach

RESUMO

A toxicidade do alumínio é um fator limitante para a obtenção de maior produtividade na cultura da aveia (*Avena sativa* L.). O desenvolvimento de genótipos tolerantes a altos níveis de toxidez ao alumínio é uma alternativa mais barata e viável para o cultivo em solos com subsolo ácidos. Os objetivos deste estudo foram avaliar genótipos de aveia quanto à reação ao alumínio tóxico em três soluções nutritivas, bem como, determinar a ação gênica, o número de genes, a herdabilidade do caráter e identificar marcadores moleculares associados a tolerância ao alumínio tóxico em genótipos de aveia. Oito genótipos foram avaliados em soluções nutritivas quanto à tolerância ao alumínio tóxico. A utilização de solução nutritiva foi eficiente para a discriminação dos genótipos de aveia quanto à tolerância ao alumínio. Os genótipos apresentaram variabilidade, sendo classificados como tolerantes, intermediários e sensíveis. A ação gênica aditiva foi a de maior importância, tanto na análise de média de gerações de oito cruzamentos, quanto na análise de um dialélico parcial envolvendo quatro genótipos. Em oito cruzamentos para determinação do número de genes envolvidos no caráter, através da análise do recrescimento da raiz principal de plantas em solução nutritiva, a segregação foi de apenas um gene com alelos múltiplos, sendo dois para tolerância (A_1 e A_2) e um para sensibilidade (a). A herdabilidade da característica foi alta, evidenciando que este caráter pode ser selecionado em programas de melhoramento, nas gerações iniciais. Na análise por microssatélites e AFLP, considerando as condições avaliadas, não foram identificados marcadores moleculares associados ao caráter.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, (102p.) Setembro, 2002.

GENETIC INHERITANCE AND MOLECULAR MAPPING OF ALUMINUM TOXICITY TOLERANCE IN OAT (*Avena sativa* L.)²

Author: Paulo Henrique de Oliveira

Adviser: Luiz Carlos Federizzi

Co-adviser: Sandra Cristina Kothe Milach

ABSTRACT

The aluminum toxicity is a limiting factor to the obtaining of larger productivity in the oat crop (*Avena sativa* L.). The development of tolerant genotypes to the high level of aluminum in the soil is a cheaper and viable alternative to the crop into soils with acid underground. The objectives of this study were to evaluate oat genotypes in relation to the toxic aluminum reaction in three nutrient solutions as well as to determine the genetic action, the number of genes, heredity from the trait and to identify molecular markers associated to the toxic aluminum tolerance in oat genotypes. Eight genotypes were evaluated in nutrient solutions as for the tolerance to the toxic aluminum. The use of nutrient solutions was efficient to the discrimination of the oat genotypes as for the tolerance to the aluminum. The genotypes presented variability, being categorized as tolerant, intermediate and sensitive ones. The additive genetic action was that of greater importance, as in the analysis of the generation medium of eight crossings, as in the analysis of a partial diallelic involving four genotypes. In eight crossings for determining the number of genes involved in the trait, through the analysis of the main root regrowth of plants into nutrient solution, the segregation was of only one gene with multiple alleles, being two for the tolerance (A1 and A2) and one for the sensitivity (a). The trait heredity was high allowing the selection of the tolerant genotypes in early generations. Microsatellites and AFLP analysis, considering the evaluated conditions, were not able to identify molecular markers associated to the trait.

² Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (102p.) Setembro, 2002.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. A Cultura da Aveia	3
2.2. O Alumínio Tóxico no Solo.....	4
2.3. O Alumínio na Planta	5
2.4. Mecanismos de Tolerância ao Alumínio Tóxico	7
2.4.1. Mecanismos de exclusão	7
2.4.2. Formação de complexos orgânicos.....	9
2.4.3. Alterações do pH na rizosfera.....	10
2.4.4. Interação com alguns nutrientes.....	11
2.4.5. Adubação nitrogenada.....	12
2.4.6. Mecanismos de absorção e translocação de alumínio	13
2.5. Métodos para Determinação do Alumínio Tóxico.....	14
2.6. Variabilidade e Herança Genética da Tolerância ao Alumínio	19
2.7. O Uso de Marcadores Moleculares na Localização de Genes Associados a Tolerância ao Alumínio	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1. Obtenção das Populações Segregantes.....	30
3.2. Avaliação da Tolerância ao Alumínio	32
3.2.1. Preparo das sementes.....	33
3.2.2. Avaliação das soluções nutritivas.....	35
3.2.2.1. Solução proposta por Camargo & Oliveira.....	35
3.2.2.2. Solução proposta por Polle et al.	36
3.2.2.3. Solução proposta por Rhue & Grogan.....	36
3.2.2.4. Experimentos realizados.....	37
3.2.3. Análises genéticas.....	38
3.2.3.1. Distribuição de frequência	38
3.2.3.2. Média de gerações	39
3.2.3.3. Variâncias e herdabilidade.....	40
3.3. Localização de Genes Associados à Tolerância ao Alumínio Tóxico através de Marcadores Moleculares.....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1. Análise das Soluções Nutritivas	47
4.2. Análise Genética	60
4.2.1. Distribuição de frequência	60
4.2.2. Média de gerações	74

4.2.3	Variâncias e herdabilidade	77
4.3	Análise Molecular	82
5.	CONCLUSÕES.....	85
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
7.	APÊNDICES	96
8.	VITA.....	102

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Genealogia dos genótipos de aveia utilizados e a resposta à toxicidade do alumínio. UFRGS, 2002.....	30
TABELA 2. Populações obtidas a partir de cruzamentos entre oito genótipos de aveia na forma de dialélico parcial. UFRGS, 2002.....	31
TABELA 3. Retrocruzamentos realizados na estação experimental agrônômica de Eldorado do Sul e telado, nos anos de 1999 e 2000. UFRGS, 2002.	32
TABELA 4. Experimentos realizados na avaliação de três soluções nutritivas sob diferentes doses de Al, pH e concentração das soluções. UFRGS, 2002.	38
TABELA 5. <i>Primers</i> de microssatélite utilizados.....	43
TABELA 6. Combinações de oligonucleotídeos iniciadores (<i>primers</i>) utilizados para amplificação seletiva seguindo o protocolo de AFLP, para mapeamento da tolerância ao alumínio na população UFRGS 17 x UFRGS 93598-6. UFRGS, 2002.	45
TABELA 7. Efeitos da dose de 20 ppm de alumínio, sobre o recrescimento médio da raiz principal de oito genótipos de aveia e a sua reação ao alumínio tóxico, em dois experimentos com a solução nutritiva proposta por Camargo & Oliveira. UFRGS, 2002.....	49
TABELA 8. Efeito principal da concentração da solução nutritiva e da interação genótipos x concentrações da solução sobre o recrescimento médio da raiz principal de aveia, após o tratamento com 20 ppm de alumínio na solução nutritiva proposta por Camargo & Oliveira. UFRGS, 2002.	50

TABELA 9. Efeito médio de duas doses de alumínio (15 e 20 ppm) sobre o recrescimento médio da raiz principal de oito genótipos de aveia, em dois experimentos (4 e 5) com solução nutritiva proposta por Polle et al. UFRGS, 2002.....	52
TABELA 10. Efeito de duas doses de alumínio, 15 e 20 ppm, sobre o recrescimento médio da raiz principal de genótipos de aveia, em dois experimentos com a solução nutritiva proposta por Polle et al. UFRGS 2002.....	53
TABELA 11. Efeitos da interação entre genótipos, concentração de sais da solução nutritiva e pH, no recrescimento médio da raiz principal de genótipos de aveia, em solução nutritiva proposta por Polle et al. UFRGS, 2002.....	54
TABELA 12. Efeitos individuais do pH (4.0 e 5.0) e da concentração de nutrientes da solução nutritiva (50 e 100%), no recrescimento médio da raiz principal de genótipos de aveia, na solução nutritiva proposta por Polle et al. UFRGS, 2002.....	55
TABELA 13. Avaliação do efeito principal, genótipos e doses de alumínio (10, 15 e 20 ppm), e da interação destes fatores no recrescimento da raiz principal de genótipos de aveia, na solução nutritiva proposta por Rhue & Grogan. UFRGS, 2002.....	56
TABELA 14. Efeito da dose de 20 ppm de alumínio, sobre o recrescimento da raiz principal de oito genótipos de aveia, na solução nutritiva proposta por Rhue & Grogan. UFRGS, 2002.....	57
TABELA 15. Avaliação do efeito dos genótipos e soluções nutritivas no recrescimento da raiz principal de genótipos da aveia na dose de 20ppm de alumínio. UFRGS 2002.	58
TABELA 16. Limites de recrescimento das raízes de plântulas por cruzamento, para a classificação das plântulas de aveia, quanto à toxicidade do alumínio. UFRGS, 2002.....	62
TABELA 17. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 911715 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002.....	66
TABELA 18. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 93598-6 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002.....	67

TABELA 19. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento entre os genótipos UPF 91AL100-1-4 x UFRGS 911715 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002.....	68
TABELA 20. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento entre os genótipos UPF 91AL100-1-4 x UFRGS 93598-6 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002.....	69
TABELA 21. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento UFRGS 17 x UPF 91AL100-1-4. UFRGS, 2002.....	70
TABELA 22. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento entre os genótipos UFRGS 93598-6 x UFRGS 911715 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002.....	71
TABELA 23. Médias das gerações P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1F_1 E RC_2F_1 , número de plântulas avaliadas em cada geração (entre parênteses), valores dos efeitos gênicos, do teste de qui-quadrado (χ^2) e coeficiente de variação, para o caráter recrescimento radicular obtidos para oito cruzamentos de aveia. UFRGS, 2002.....	75
TABELA 24. Valores da variância fenotípica (V_P), variância do ambiente (V_E), variância genética (V_G) e herdabilidade no sentido amplo (H_A) para o recrescimento da raiz principal em oito populações de aveia. UFRGS 2002.	78
TABELA 25. Análise da variância para capacidade geral e específica de combinação na análise dialélica de quatro genitores e nove cruzamentos. UFRGS, 2002.....	79
TABELA 26. Médias de recrescimento radicular da raiz principal, de plântulas de aveia tratadas com 20ppm de alumínio, de quatro genótipos e seus híbridos F_1 . UFRGS, 2002.	80
TABELA 27. Efeitos da capacidade geral (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) de quatro genótipos de aveia e seus híbridos F_1 para recrescimento da raiz principal. UFRGS, 2002.....	81

TABELA 28. Oligonucleotídeos iniciadores (<i>primers</i>) avaliados e seu comportamento para o cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 93598-6, <i>bulk</i> sensível e <i>bulk</i> tolerante.....	83
TABELA 29. Combinações de <i>primers</i> utilizados para verificar a ligação com genes de tolerância ao alumínio no cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 93598-6.	84

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Esquema dos genitores quanto ao recrescimento da raiz principal, genótipos e número de genes segregando para a tolerância ao alumínio em aveia. UFRGS, 2002.....	72

1. INTRODUÇÃO

A toxidez de alumínio é um fator limitante para a obtenção de altos rendimentos em muitos solos do mundo. Na América do Sul, aproximadamente 500 milhões de hectares são subutilizados, por causa da extrema acidez e baixa fertilidade natural. No Brasil, em mais de 50% dos solos, a toxidez de alumínio pode provocar perdas significativas no rendimento das culturas.

Uma alternativa para contornar este problema é a aplicação de calcário. Entretanto, nas áreas distantes das fontes de calcário, os gastos de correção da toxidez tornam-se elevados. Mesmo conseguindo corrigir a camada arável, a correção do subsolo torna-se inviável economicamente, provocando uma menor penetração das raízes nesta região, diminuindo o suprimento de água, especialmente em solos cultivados sem irrigação e nos solos com menor capacidade de retenção de água.

A opção mais promissora, neste caso, é a exploração do potencial genético das culturas, pois as espécies e variedades diferem amplamente na tolerância ao excesso de alumínio tóxico no solo.

O melhoramento genético de plantas para tolerância a elementos tóxicos no Brasil vem sendo realizado desde 1925 na cultura do trigo, através da seleção de plantas tolerantes ao alumínio tóxico. Os estudos de tolerância

em cereais estão concentrados principalmente nesta espécie, sendo que para a cultura da aveia são poucos os trabalhos desenvolvidos. Com o aumento da utilização do plantio direto e a expansão da área cultivada de aveia para novas fronteiras agrícolas, a obtenção de novas cultivares tolerantes ao alumínio tóxico é de grande interesse nos programas de melhoramento. Estes genótipos podem ser utilizados diretamente pelo agricultor, com economia no uso de produtos agrícolas, ou essa característica pode ser transferida a cultivares comercialmente desejáveis através da hibridação nos programas de melhoramento.

Trabalhos desenvolvidos no Departamento de Plantas e Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), e em outras instituições, demonstraram que os genótipos dos programas de melhoramento genético de aveia apresentam grande variabilidade quanto à tolerância ao alumínio tóxico. No estudo da herança genética estes trabalhos revelaram que a tolerância é um caráter oligogênico.

A determinação dos mecanismos de herança da tolerância à toxidez do alumínio em aveia, bem como, a identificação de marcadores moleculares associados a este caráter é de fundamental importância para o desenvolvimento de novas cultivares.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivos: 1) avaliar diferentes soluções nutritivas na discriminação de genótipos quanto à tolerância ao alumínio tóxico em laboratório; 2) determinar a ação gênica, a herdabilidade e estimar o número de genes, que governam o caráter em aveia; 3) identificar marcadores moleculares associados a(os) gene(s) de tolerância à toxidez de alumínio em genótipos brasileiros de aveia.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A Cultura da Aveia

A aveia é um cereal de inverno originário do oriente médio, cultivado em diferentes partes do mundo. Seu cultivo está mais concentrado em áreas de clima temperado e úmido, na América do Norte, na Europa e Rússia (Murphy & Hoffman, 1992).

Na América Latina, o Brasil é um dos maiores produtores de aveia, sendo sua introdução atribuída aos imigrantes europeus. A aveia branca (*Avena sativa* L.) é uma espécie anual, hexaplóide e se destina à produção de grãos. Outra espécie cultivada é a aveia preta (*Avena strigosa* Schreb), anual diplóide, utilizada como forrageira e para cobertura do solo (Floss, 1992).

Na região sul do Brasil, com a possibilidade de realizar dois cultivos anuais, um cultivo de inverno e um cultivo de verão, a aveia tem sido muito utilizada na rotação de culturas, devido a sua ação recuperadora da estrutura do solo, à capacidade de adaptação a diferentes ambientes e à qualidade nutricional tanto para alimentação humana como para a alimentação animal (Federizzi et al., 1995).

A pesquisa de aveia realizada pela UFRGS e outras instituições de pesquisa da região sul do Brasil, contribuiu para que o país deixasse de ser um importador de aveia. A contribuição da pesquisa pode ser medida pela substituição de cultivares antigas oriundas principalmente dos EUA,

introduzidas no início dos anos 60, por cultivares modernas provenientes dos programas locais de melhoramento genético (Carvalho et al., 1987).

Os cereais diferem amplamente em suas respostas à presença de alumínio no solo, sendo que a aveia é mais tolerante à acidez do solo quando comparada com trigo e cevada, porém, é menos tolerante que o centeio (Camargo & Felício, 1984).

Informações sobre a tolerância da aveia ao alumínio tóxico são escassas. Os primeiros estudos realizados por McLean & Gilbert apud Floss (1992), relataram que os sintomas da toxicidade do Al^{3+} se manifestavam pelo encurtamento e injúrias causadas às raízes. Estes autores, verificaram que o Al^{3+} acumulava-se na camada cortical da raiz.

2.2. O Alumínio Tóxico no Solo

A toxidez de alumínio é mais severa abaixo de pH 5,0, mas pode ocorrer mesmo com valores maiores que pH 5,5. O valor do pH crítico para a planta no qual o Al^{3+} torna-se solúvel e tóxico depende de vários fatores, entre eles o tipo de argila, o teor de matéria orgânica, a concentração de outros cátions e ânions e sais totais (Foy et al., 1978; Nodari et al., 1982).

A toxicidade do alumínio é um problema mais sério em solos fortemente ácidos, que são difíceis de calcariar, e não permitem o aprofundamento das raízes, diminuindo a tolerância à seca e interferindo na absorção e translocação de nutrientes como fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) e ferro (Fe) (Foy, 1976; Zanatta & Mundstock, 1991).

A presença de matéria orgânica nos solos tropicais melhora a estrutura física e biológica dos mesmos, e é uma importante fonte de

nutrientes como Ca, Mg, K, e P e funciona como regulador da toxicidade do Al^{3+} e outros íons (Fageria et al., 1992).

No sistema de plantio direto ocorre uma concentração superficial de matéria orgânica fazendo com que a presença de substância húmicas solúveis e subprodutos da decomposição de resíduos culturais pela atividade microbiana sejam maiores (Salet et al., 1994). Segundo Fageria et al. (1992), os ácidos orgânicos liberados durante a decomposição da matéria orgânica, produzem amidas que têm efeito alcalino os quais complexam-se com formas tóxicas do alumínio.

2.3. O Alumínio na Planta

Os sintomas da toxicidade do alumínio são fáceis de serem observados, no entanto, podem ser confundidos com deficiências de outros elementos. Em algumas plantas eles se confundem com a deficiência de fósforo (P) que são o amarelecimento e a morte das pontas das folhas; os caules e as folhas ficam de coloração roxa. Em outras, plantas as injúrias causadas pelo Al^{3+} podem aparecer como uma deficiência induzida de cálcio (Ca) ou problemas na sua translocação que são o enrolamento ou encurvamento de folhas jovens e o colapso dos pontos de crescimento e pecíolos (Foy & Fleming, 1978).

Nas raízes, os sintomas característicos são o encurtamento e o espessamento das pontas, não ocorrendo à formação de ramificações finas, levando à ineficiência de absorção de água e dos nutrientes (Kerriged et al., 1971; Foy 1976). Estes efeitos provavelmente sejam devidos à inibição da alongação e divisão celular, diminuindo assim, o volume de solo explorado pelas raízes. Fleming & Foy (1978), sugerem que a inibição do

desenvolvimento das raízes possa ser um indicador biológico para seleção de plantas tolerantes ao alumínio tóxico do solo.

O excesso de alumínio fixa o fósforo tornando-o menos disponível no solo e na superfície das raízes, o que causa uma diminuição na respiração celular das raízes, interferindo na reação das enzimas, provocando a deposição de polissacarídeos na parede celular e interferindo na absorção, translocação e uso de vários elementos, como Ca, Mg, e P (Foy et al., 1973).

Alguns trabalhos têm demonstrado que em curto espaço de tempo, o crescimento radicular é inicialmente estimulado, em meio de cultura com alta concentração de Al^{3+} , mas esta estimulação é seguida de uma severa inibição do crescimento radicular e uma irreversível destruição do meristema apical (Foy, 1984; Aniol, 1995). Segundo Kinraide apud Aniol (1995), o fenômeno é causado por cátions polivalentes os quais são rizotóxicos em baixas concentrações.

Eckert et. al. (1996) observaram que a inibição da divisão celular é significativamente menor em uma cultivar de cevada tolerante do que uma sensível, sob uma concentração de 2 ppm de alumínio e com um tempo de exposição de 6 a 8 dias. Foi confirmado que, de maneira geral, a cultivar tolerante apresentou uma porcentagem de divisão celular maior que a sensível.

2.4. Mecanismos de Tolerância ao Alumínio Tóxico

As mudanças bioquímicas e fisiológicas associadas aos mecanismos de tolerância ao alumínio tóxico não estão bem definidas. Muitos trabalhos têm sido feitos para determinar quais os mecanismos mais eficientes para proporcionar tolerância ao Al^{3+} (Foy, 1976; Foy et al., 1978;

Furlani, 1989; Piñeros & Kochian, 2001; Zang, et al., 2001). A dificuldade em determinar qual o mecanismo responsável pela tolerância ao alumínio é devida aos diferentes mecanismos fisiológicos e a ação em diferentes locais na planta do Al^{3+} (Foy & Fleming, 1978; Baier, 1995; Zeng, et al., 1998).

2.4.1. Mecanismos de exclusão

O mecanismo de tolerância, por exclusão, está baseado no aumento do pH na superfície das raízes, provocada pela exsudação dos ácidos orgânicos, induzida pelo alumínio tóxico (Degenhardt et al., 1998). Entretanto, o processo metabólico que leva a exsudação destes ácidos orgânicos é pouco conhecido.

A presença de Al^{3+} na rizosfera, na cultura do milho, induz a exsudação de citrato no ápice de raízes, causando a redução da atividade e quelando o Al^{3+} tóxico na superfície das raízes. A acidificação do ambiente extracelular provocado pelo Al^{3+} causa a ativação de canais de ânions. Estes canais de ânions ativados por Al^{3+} podem ser permeáveis a ácidos orgânicos, mediando desta forma a tolerância ao alumínio (Piñeros & Kochian, 2001). Kollmeier et al. (2001), observaram que além do citrato, o malato também é exsudado na mesma cultura.

A tolerância ao alumínio tem sido associada a mecanismos de detoxificação internos e externos. Zheng et al. (1998), estudando os mecanismos externos através da secreção de ácido oxálico induzido pelo Al^{3+} , concluíram que a secreção do ácido está associada com a tolerância. Ma et al. (1998) também chegaram a conclusão de que a tolerância ao Al^{3+} em raízes e folhas de *Fagopirum* está associada à formação do complexo não fitotóxico Al-oxalato (1:3).

Estudos da absorção e distribuição em ápices de raízes de linhagens quase isogênicas, da cultivar brasileira de trigo Carazinho, que diferiam na tolerância ao alumínio por um gene denominado *Alt-1*, mostraram que o gene é responsável pela excreção de ácido málico no ápice das raízes. A função do ácido málico é encobrir, formar quelatos e excluir o Al das pontas das raízes (Delhaize et al., 1993).

Na cultura do triticale, Ma et al. (2000) observaram que os genes, presentes no braço curto do cromossomo 3R induziram a exsudação de ácidos orgânicos e que este foi o principal mecanismo de tolerância ao alumínio.

Em um mutante de *Arabidopsis thaliana* tolerante ao Al^{3+} a exsudação de ácidos orgânicos foi o mecanismo de exclusão do alumínio (Larsen et al. 1998).

Já Piñeros et al. (2002) observaram que a formação de quelatos de alumínio ligados a ácido orgânicos na rizosfera do ápice de raízes é um importante mecanismo da tolerância ao alumínio em inúmeras plantas. No entanto, um segundo mecanismo de tolerância interno pode estar atuando baseado na mudança induzida pelo Al^{3+} na síntese de ácidos orgânicos e sua compartimentalização no interior das células. Resultados semelhantes foram obtidos por Li et al. (2000b) e Zang et al. (2001).

2.4.2. Formação de complexos orgânicos

As diferenças observadas, na resposta à tolerância ao alumínio de diferentes genótipos, podem ser devido ao acúmulo diferencial do alumínio na região meristemática das raízes ou a translocação para a parte aérea através

da formação de quelatos e sua acumulação nos vacúolos (Foy 1976; Samuels et al., 1997).

Uma hipótese bastante discutida é a translocação de alumínio para a parte aérea em plantas tolerantes com alta concentração de alumínio nos vacúolos das folhas. Altos níveis de ácidos orgânicos formariam quelatos e detoxificariam o alumínio na planta. Estes quelatos podem prevenir a precipitação de Al-P, freqüentemente notada em plantas com sintomas de toxidez de Al³⁺ (Foy, 1976).

A tolerância ao alumínio em várias espécies está relacionada à habilidade de absorver e utilizar o fósforo na presença de excesso de Al³⁺. A detoxificação de Al³⁺ por agentes quelantes parece estar associada ao aumento na absorção de P e ao decréscimo na absorção de Al³⁺ (Foy & Brown, 1964).

Estudando duas cultivares de trigo, uma sensível e outra tolerante, Huang et al. (1996), observaram que a tolerância ao alumínio tóxico foi devido à exsudação de malato para o apoplasto induzida pelo alumínio, o que permitiu o transporte de cálcio na membrana plasmática das raízes, somente na cultivar tolerante.

Trabalhando com padrões de partição e crescimento de raízes para determinação da suscetibilidade e tolerância de alumínio em trigo, Samuels et al. (1997), observaram que o mecanismo de tolerância pode estar baseado na estratégia de exclusão do Al³⁺ no meristema das raízes. A acumulação diferencial do alumínio observada nos tecidos de crescimento radicular estava relacionada a diferenças na tolerância ao alumínio. Rincon & Gonzales apud Aniol (1995) obtiveram resultados semelhantes.

Entretanto, Aniol (1995), avaliando a cultivar brasileira BH1146 de trigo, observou que este mecanismo é eficiente somente nas concentrações muito baixas de Al^{3+} e que um outro mecanismo de tolerância seria responsável sob altas concentrações de Al^{3+} externas às raízes ou no tecido radicular. Segundo estes mesmos autores, gene(s) localizado(s) no cromossomo 2DL (é) são responsáveis pelo segundo mecanismo.

2.4.3. Alterações do pH na rizosfera

Um dos mecanismos de tolerância à toxidez do alumínio é a mudança de pH na rizosfera. Variedades tolerantes ao alumínio de trigo, arroz, cevada e alguns híbridos de milho aumentam o pH do solo ou da solução nutritiva na rizosfera, fazendo com que o alumínio se torne menos solúvel diminuindo sua toxicidade (Foy, 1988).

Por outro lado, as cultivares sensíveis de algumas espécies diminuem ou não tem efeito sobre o pH de suas rizosferas quando essas são expostas a altas concentrações de Al^{3+} por longos períodos fazendo com que as mesmas sofram engrossamento e morte (Baier, 1995). Para algumas variedades de trigo a maior absorção de NO_3^- causa a liberação de ânions (OH^- e HCO_3^-) que aumenta o pH, causando a indisponibilidade do Al^{3+} (Foy, 1976).

2.4.4. Interação com alguns nutrientes

Outra hipótese de tolerância ao alumínio é a interação entre o Al^{3+} e os nutrientes P, Ca e Mg, a qual varia de espécie para espécie. Foy (1974) e Foy et al. (1978), em estudos com trigo e cevada, concluíram que somente

em alguns casos a interação Al-P explica as diferenças entre cultivares quanto à tolerância ao Al.

Em outros estudos com arroz, cevada, trigo e triticale, plantas tolerantes a Al apresentavam teores mais altos de P, Ca, K e Mg (Howeler & Cadavid, 1976; Mugwira, 1981). Entretanto, a presença de altos teores destes elementos não significa que estas culturas sejam mais eficientes na absorção e utilização destes elementos. O maior aprofundamento e crescimento do sistema radicular nas plantas tolerantes ao Al^{3+} , pode explicar aumento no teor destes nutrientes nos tecidos (Furlani & Furlani, 1991).

Para algumas espécies, a tolerância está associada com a habilidade de resistir a indução pelo alumínio da deficiência de cálcio ou na redução do transporte de cálcio na planta. Aniol (1995), observou que cátions divalentes, principalmente o Ca^{2+} , sob altas concentrações de Al^{3+} no tecido radicular, podem exercer um papel importante não somente nos processos que ocorrem na superfície da membrana, mas também, nos mecanismos que previnem danos celulares.

Muitos autores relacionam a tolerância ao alumínio a eficiência na absorção de fósforo, como características geneticamente ligadas. Entretanto, uma planta tolerante ao Al^{3+} pode apresentar maior conteúdo de P, assim como, todos os demais nutrientes (Furlani & Furlani, 1991).

Nas culturas de trigo e cevada, segundo Foy et al. (1978), somente em alguns casos a tolerância ao Al^{3+} poderia ser explicada por diferentes interações entre alumínio e fósforo.

Furlani & Furlani (1991), estudando cem linhagens de arroz e quarenta de milho com o objetivo de verificar se a tolerância ao alumínio se relacionava com a eficiência na absorção de fósforo, observaram que a

correlação foi muito baixa, indicando independência entre os índices de eficiência na utilização de P e tolerância a Al^{3+} .

Outra hipótese que tem sido estudada é a peroxidação de lipídios causadas pelo alumínio na presença de Fe(II). Yamamoto et al. (1996), trabalhando em células de tabaco na fase de crescimento logarítmica, observaram que as células sem fósforo foram mais tolerantes, acumulando 30 a 40% menos Al^{3+} e 70 a 90% menos Fe, do que aquelas em solução com fósforo. Estes resultados sugerem que as células sem P mostraram uma tolerância ao alumínio, devido suas membranas plasmáticas estarem protegidas da peroxidação de lipídios causada pela combinação do Al^{3+} e Fe(II).

2.4.5. Adubação nitrogenada

A forma da adubação nitrogenada disponível as plantas é outro mecanismo estudado na tolerância ao alumínio tóxico. Plantas tolerantes são capazes de absorver o nitrato, mais rapidamente que o amônio, com reflexos na modificação do pH. Em solos com alta acidez, a nitrificação é inibida e NH_4^+ é uma importante fonte de nitrogênio para as plantas. Muitas espécies que são adaptadas a solos ácidos e, por isso tolerantes ao alumínio, também são tolerantes ao NH_4^+ , em níveis que são tóxicos para outras culturas. Em alguns casos, as espécies parecem ter maior afinidade pelo NH_4^+ do que NO_3^- (Foy, 1988).

No entanto, Foy & Fleming (1982), observaram que um genótipo de trigo tolerante ao alumínio tóxico, aumentou o pH da solução nutritiva e apresentou maior atividade da redutase do nitrato que um genótipo sensível. O genótipo tolerante por ser mais eficiente na absorção de NO_3^- , devido a sua

alta afinidade pela redutase do nitrato, talvez seja capaz de manter o pH mais elevado na rizosfera.

2.4.6. Mecanismos de absorção e translocação de alumínio

A assimilação e translocação do alumínio é outro mecanismo de tolerância. Algumas espécies têm a capacidade de manter diferentes concentrações de alumínio na parte aérea e nas raízes, fazendo com que na parte aérea a concentração de alumínio seja igual nas plantas tolerantes e sensíveis ao alumínio, mas as raízes das plantas tolerantes contêm menos alumínio do que as plantas sensíveis. Para outras culturas, o mecanismo de tolerância está associado à restrição do transporte do Al^{3+} para a parte aérea e indução de excesso do mesmo nas raízes através da formação de quelatos com ácidos orgânicos. Nas culturas do trigo e cevada o acúmulo de Al^{3+} nas raízes é prejudicial, e esse mecanismo muitas vezes é confundido com a tolerância por exclusão do alumínio (Foy, 1976).

2.5. Métodos para Determinação do Alumínio Tóxico

As características utilizadas para avaliação da tolerância ao alumínio no solo ou em solução nutritiva são muitas. Dentre estas estão, a capacidade do material alterar o pH do meio (Kochian, 1995); a observação visual do desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular (Devine et al., 1976); o comprimento da raiz mais longa, ou da folha mais longa; o número de raízes seminais; o peso dos sistemas radicular e aéreo (Lafever et al., 1977; Lavefer & Campbell, 1978); comprimento inicial da raiz seminal, comprimento final da raiz seminal, comprimento final relativo da raiz seminal (Floss, 1992); a coloração das raízes seminais em solução aquosa de

hematoxilina (Polle et al., 1978); recrescimento radicular da raiz principal (Camargo & Oliveira 1981; Dorneles, 1994; Sánchez-Chacón et al., 2000; Wagner et al. 2001; Gotuzzo et al., 2001; Oliveira et al., 2002) comprimento das raízes em baixa concentração de Al^{3+} em solução nutritiva incompleta (Shuman et al., 1993); e, por fim o rendimento de grãos (Howeler & Cadavid, 1976).

Muitas espécies de plantas mostram diferentes graus de tolerância nos diferentes estádios de crescimento e nas estações do ano. Conseqüentemente, plantas têm sido classificadas como tolerantes ou sensíveis a estresses minerais usando vários critérios e estádios de crescimento. Provavelmente, a característica mais comum utilizada para avaliação de plantas para tolerância do estresse mineral em solos seja o rendimento vegetativo ou de grão/frutos/sementes (Clark & Duncan, 1993). Contudo, a avaliação de plantas nos estádios juvenis é mais desejável do que no estágio de maturidade fisiológica (Fernandes et al. 1984). Se uma planta não consegue se desenvolver bem no estágio juvenil ou num determinado estágio de crescimento por causa do estresse mineral, esta pode não ser capaz de completar seu ciclo de vida.

A desvantagem da utilização do solo como substrato é que os níveis de Al^{3+} para seleção não podem ser controlados quantitativamente, além do que, não se pode garantir que somente o Al^{3+} é o elemento tóxico presente no solo. A utilização de solução nutritiva tem superado estas dificuldades, permitindo uma imediata observação da inibição da alongação das raízes o que é um dos primeiros sintomas da toxidez do Al^{3+} (Kerridge et al., 1971).

A técnica de solução nutritiva permite, ainda, o estudo genético da tolerância ao Al^{3+} porque possibilita a identificação de diferentes graus de tolerância. Como as medições do comprimento da raiz e da parte aérea não são destrutíveis, após a seleção, as plantas jovens das populações segregantes, podem ser transplantadas em solo para uma possível avaliação e uso no programa de melhoramento (Baier et al., 1995). Camargo & Oliveira (1981) concluíram que o uso de solução nutritiva em condições de ambiente controlado foi eficiente e possibilitou a separação de cultivares de trigo tolerantes e suscetíveis em aproximadamente sete dias.

Uma das maiores dificuldades das soluções nutritivas, no estudo da toxidez de alumínio, tem sido o inadequado controle do pH e do teor de fósforo e por conseqüência da concentração de Al^{3+} . O controle destes parâmetros é necessário para a precisão dos estudos genéticos. Kerridge et al. (1971) e Souza (2001), concluíram que a tolerância diferencial à toxidez de Al^{3+} , em solução nutritiva, foi relativamente semelhante àquela obtida quando as plantas foram cultivadas em solos, além de terem repetibilidade de resultados devido ao controle da concentração de Al^{3+} através do monitoramento do teor de P e do pH.

A solubilidade do Al^{3+} pode ser determinada pela concentração de P, causando sua precipitação na forma de $\text{Al}(\text{OH})_3$. Deste modo, segundo Camargo (1985), deve-se evitar a utilização de P nas soluções de tratamento contendo Al^{3+} .

Verificando o pH da solução nutritiva para avaliar a toxidez de Al^{3+} , Camargo (1984b) observou que com a elevação do pH de 4 para 7 diminuiu a concentração do alumínio e por conseqüência a sua solubilidade. Deste modo, para a seleção de plantas tolerantes ao Al, além da concentração de

sais, a temperatura e a concentração de Al^{3+} , deve-se controlar o pH da solução nutritiva, para que os resultados obtidos possam ser repetidos em outros trabalhos com a mesma precisão (Camargo, 1983).

A medição do comprimento das raízes no estágio de plântula é um bom indicador da tolerância ao Al^{3+} . Baier (1995) comparando este método com o de coloração com hematoxilina, ou o método de recrescimento radicular, observou que ele foi de duração mais curta e mais preciso. Demonstrando uma correlação significativa, entre os resultados obtidos em solução nutritiva e o ranqueamento prévio de genótipos tolerantes cultivados a campo.

A solução nutritiva tem sido usada para discriminar populações tolerantes de não tolerantes em várias culturas tais como aveia (Floss, 1992; Sánchez-Chacón et al., 2000; Wagner et al. 2001; Gotuzzo et al., 2001; Oliveira et al., 2002), trigo (Camargo & Oliveira, 1981; Camargo, 1984a; Dornelles et al., 1996), sorgo (Baligar et al., 1995); milho (Prioli et al., 1985; Lopes et al., 1987; Mazzocato, 2000) cevada (Minella, 1989; Echart, 2001) e arroz (Howeler & Cadavid, 1976). Os resultados obtidos se equivalem àqueles obtidos em solo, mostrando claramente que uma avaliação em solução nutritiva identifica efetivamente níveis de tolerância para grande número de genótipos, sendo recomendada como técnica auxiliar nos programas de melhoramento.

Um outro substrato estudado para avaliação da dinâmica do Al^{3+} na rizosfera é agarose. A agarose é um substrato relativamente puro destituído de fósforo e outras substâncias complexantes com o Al^{3+} , apresentando fitotoxicidade equivalente àquela obtida em solução nutritiva. A agarose

também tem alta capacidade de absorver Al^{3+} o que permite medição exata da diminuição do Al na rizosfera (Calba et al., 1996).

Vários problemas de metodologia causam muitas dificuldades para explicar os resultados obtidos na seleção de genótipos tolerantes ao Al^{3+} . As técnicas utilizadas para a realização da seleção normalmente variam nas concentrações de nutrientes, nos volumes de soluções e nos tipos de solos utilizados, o que dificulta a comparação dos resultados entre os diferentes experimentos tornando-os mais complexos. Em vista disto, Fageria et al. (1988) sugerem procedimentos para padronizar a seleção:

1. padronização do meio de crescimento e condições ambientais;
2. uso de genótipos com ciclo de crescimento igual;
3. parâmetros de avaliação bem definidos;
4. técnicas de seleção que permitam avaliação de um grande número de genótipos com razoável precisão;
5. uso de local, solo, nutrientes tóxicos e/ou elemento em estudos apropriados;
6. estabelecimento de níveis mínimo e máximo dos nutrientes;
7. uso de no mínimo três níveis espaçados na extensão da resposta esperada;
8. verificação de resultados em casa-de-vegetação em condições de campo e vice-versa;
9. quando na seleção da eficiência para um determinado nutriente, outros nutrientes devem estar em níveis normais;
10. cultivares tolerantes e suscetíveis devem ser incluídas em todos os estudos de seleção de genótipos;
11. todo o material deve ser geneticamente uniforme.

Para aumentar a aplicabilidade dos resultados da seleção, as plantas deveriam ser desenvolvidas por pelo menos três a quatro semanas em meio de crescimento. Períodos curtos de crescimento somente são eficientes para medir o efeito do Al^{3+} na alongação e divisão celular nas raízes, enquanto que para períodos experimentais longos os resultados refletem o efeito contínuo do Al^{3+} no crescimento da raiz, bem como no crescimento da parte aérea e absorção de nutrientes.

2.6. Variabilidade e Herança Genética da Tolerância ao Alumínio

Muitos trabalhos têm demonstrado que a tolerância ao alumínio é uma característica geneticamente controlada e desta forma pode ser melhorada. A maioria dos estudos de herança genética à toxicidade do alumínio foi realizada em trigo, milho e arroz.

A tolerância ao alumínio em trigo é uma característica monogênica com ação gênica de dominância e/ou aditiva (Aniol, 1984; Bona et al., 1994). Variação alélica para tolerância ao Al^{3+} foi observada em cevada (Minella & Sorrells, 1992). Expressão multigênica de tolerância pode ser encontrada em cruzamentos com divergência paterna ampla, dando a dispersão dos genes de tolerância ao Al^{3+} no genoma D de trigo hexaplóide, particularmente nos cromossomos 2DL e 4DL (Carver & Ownby, apud Johnson et al., 1997).

Nodari et al. (1982) estudando genótipos de trigo observaram que a tolerância ao alumínio a campo é um caráter de alta herdabilidade, permitindo desta forma a obtenção de expressivo ganho genético através da seleção por métodos convencionais no melhoramento de trigo. Concluíram ainda que os

efeitos da aditividade foram expressivos e os desvios da dominância foram insignificantes.

Riede & Anderson (1996), utilizando o método do crescimento radicular para avaliação de uma população obtida do cruzamento entre as cultivares de trigo BH1146 (tolerante) e Anahuac (sensível), obtiveram uma distribuição bimodal nas linhas recombinantes, indicando um gene maior para a tolerância ao Al^{3+} nesta população.

Estudos da expressão da tolerância ao Al^{3+} transferida do cultivar Atlas 66 para o trigo duro de inverno demonstraram que a tolerância ao Al^{3+} foi completamente dominante (Johnson et al., 1997). A presença de duas classes fenotípicas na geração F_2 ajustada a uma proporção de 3:1 (tolerante/suscetível), revelou um gene de dominância para a tolerância ao Al^{3+} . A transferência deste gene da Atlas 66 para as cultivares de trigo duro de inverno conferiu aumento no crescimento radicular em solos ácidos sob condições naturais, mas o impacto foi maior na cultivar suscetível Century. Nenhuma das isolinhas tolerantes foi tão tolerante quanto Atlas 66. Esta transferência incompleta da tolerância foi provavelmente devido ao complexo controle genético em Atlas 66 ou porque a expressão foi modificada em trigos duros de inverno. Outros genes de resistência de menor efeito também podem influenciar no crescimento radicular sob estresse de Al^{3+} (Johnson, 1997).

Já Camargo et al. (1991) observaram que dois genes dominantes podem conferir tolerância na cultivar Atlas 66 em baixas concentrações de Al^{3+} , mas com o aumento da concentração houve uma quebra gradual da dominância à medida que a concentração de alumínio foi aumentando. Evidências sugerem que diferentes níveis de estresse de Al^{3+} podem induzir a

expressão de diferentes genes de tolerância (Camargo, 1984b; Johnson, 1997).

Para Kerridge & Kronstad (1968), a diferença na resposta a 1,6 mg/litro de alumínio nas cultivares de trigo Druchamp e Brevor foi devido a um gene dominante para a tolerância ao Al^{3+} . Os resultados obtidos para a cultivar Druchamp, a qual não foi tão tolerante quanto Atlas 66, sugerem que mais de um gene poderia estar envolvido na tolerância ao alumínio.

Em um outro trabalho com trigo Lafever & Campbell (1978), em solução nutritiva com uma concentração de 8 mg/litro de alumínio avaliando populações F_1 , F_2 e retrocruzamentos para cultivares tolerantes e sensíveis, concluíram que a suscetibilidade era devido a um gene recessivo e que a seleção de plantas sensíveis para esta concentração de alumínio era eficiente.

Nos programas de melhoramento de trigo, Camargo (1984a) sugere que, em populações de trigo F_2 de tamanho grande, seria mais interessante selecionar em altas concentrações de alumínio (10 mg/litro) na solução, eliminando desta forma as plantas sensíveis (homozigotas recessivas e heterozigotas) e selecionando as plantas tolerantes homozigotas. Entretanto, em F_2 de tamanho pequeno seria interessante utilizar concentrações de Al^{3+} mais baixas (3mg/litro), pois isso eliminaria apenas as plantas sensíveis (homozigotas recessivas) e selecionaria as tolerantes (heterozigotas e homozigotas dominantes). Na geração seguinte, com um maior número de plantas, poderia ser testado a 10 mg/litro para haver um maior progresso genético no trabalho de melhoramento.

Estudando a herança da toxidez de alumínio em populações de milho, Lopes et al. (1987) não observaram herança citoplasmática. No estudo

dos cruzamentos dialélicos a capacidade geral de combinação foi o parâmetro de maior magnitude entre populações de milho tolerantes e não tolerantes à toxidez de alumínio. Lima et al. (1995) também para populações de milho, observaram que tanto a capacidade geral de combinação como a capacidade específica de combinação mostraram significância estatística, embora os quadrados médios da capacidade geral tenham sido maiores que a capacidade específica de combinação, exceto para o rendimento de grãos.

Na cultura do arroz, Wu et al. (1997) observaram que a capacidade geral de combinação foi mais alta que a capacidade específica de combinação, quanto à tolerância ao Al^{3+} , determinada através do índice de tolerância radicular, indicando uma maior expressão aditiva desta característica.

Já Ferreira et al. (1997), estudando a tolerância ao Al^{3+} em solução nutritiva, em duas cultivares de arroz, uma sensível e outra tolerante, observaram que a tolerância avaliada pelo caráter comprimento da raiz seminal comportou-se como um caráter quantitativo. Transformando os dados para a escala logarítmica, o modelo aditivo-dominante foi suficiente para explicar as variações no caráter estudado.

Na cultura da aveia, Sánchez-Chacón et al. (2000) concluíram que o caráter tolerância à toxidez de alumínio é uma característica herdável, controlada por um gene e a ação gênica observada foi a de dominância. Avaliando um número maior de cruzamentos, Wagner et al. (2001) obtiveram resultados indicando a presença de um a dois genes dominantes envolvidos na tolerância ao alumínio. A presença dos alelos A_1 e A_2 levou um maior grau de tolerância nos genótipos estudados.

2.7. O Uso de Marcadores Moleculares na Localização de Genes Associados à Tolerância ao Alumínio

Marcadores morfológicos têm sido utilizados a longo tempo no melhoramento de plantas. Entretanto, a partir de meados da década de sessenta começaram a ser utilizados os marcadores isoenzimáticos, os quais ampliaram o número de marcadores genéticos. Com as técnicas de biologia molecular, surgiram diversos métodos para identificar o polimorfismo genético diretamente ao nível de DNA, os marcadores moleculares. Com isto, o número de marcadores genéticos tornou-se virtualmente ilimitado (Ferreira & Grattapaglia, 1995).

Marcadores moleculares têm sido utilizados para determinar a localização de genes nos cromossomos das espécies, para fins de melhoramento genético. Os resultados mais promissores têm sido alcançados para genes de grande efeito no genótipo, como a tolerância ao alumínio tóxico, em que um ou mais marcadores estão associados a gene(s) de interesse (Ma et al., 1993; Riede & Anderson, 1996; Luo & Dvorak, 1996; Tang et al., 2000).

A técnica de RFLP (*Restriction Fragment Length Polimorphism*), assim como, outras técnicas de marcadores moleculares, na etapa de seleção de genótipos permitem que seja avaliado um grande número de genótipos em curto espaço de tempo, e com alta precisão na localização dos locos gênicos de interesse (Tanksley et al., 1989). Os primeiros trabalhos para tolerância ao alumínio foram realizados com esta técnica.

Objetivando encontrar marcadores do tipo RFLP associados a QTLs (locos de caracteres quantitativos) que controlam a tolerância ao Al^{3+} tóxico em milho, utilizando a estratégia de BSA (*Bulked Segregant Analysis*),

Torres et al. (1997) observaram que a distribuição da frequência de 1554 indivíduos F₂ para o comprimento relativo da raiz seminal foi contínua, unimodal com tendência à suscetibilidade. Os resultados da BSA indicaram a existência no cromossomo 8 do milho de uma região envolvida no controle da tolerância ao Al³⁺ tóxico. Brondani & Paiva (1996) também observaram que o comprimento relativo da raiz seminal teve uma distribuição contínua na geração F₂, indicando que para a cultura do milho, o caráter tolerância ao Al é controlado quantitativamente.

Na cultura do trigo, analisando o cruzamento entre as cultivares BH1146 (tolerante) e Anahuac (sensível), com marcadores de RFLP, Riede & Anderson (1996), encontraram um marcador com o clone bcd1230 associado (1.1cM – 2 recombinações em 91 linhas recombinantes) ao gene que controlou a resposta à tolerância ao Al denominado *Alt_{BH}* pelo método do crescimento radicular. Um segundo marcador identificado pelo clone cdo1395 também estava associado a este gene, só que a 10.2 cM (14 recombinações). A análise de regressão dos dados demonstrou que bcd1230 explicou 85% dos resultados obtidos para comprimento da raiz quanto à tolerância ao Al³⁺ e cdo1395 respondeu por 40%. Os resultados obtidos com bcd1230 em estoques de trigo chinês de primavera nulissômicos e tetrassômicos sugerem que o gene associado a este marcador está localizado no cromossomo 4DL, confirmando resultados obtidos por Lagos, et al. (1991).

Luo & Dvorak (1996) estudaram a tolerância ao Al³⁺ em linhas com substituições dissômicas, tendo os cromossomos do genoma D do *Triticum aestivum* L. cv. Chinese Spring individualmente substituídos por seus homólogos em *T. turgidum* L. cv. Lagdon. Pelo método da hematoxilina, observaram que a tolerância ao Al³⁺ foi controlada por um gene dominante

denominado *Alt2* localizado no braço longo do cromossomo 4D. Este loco foi mapeado com marcadores de RFLP utilizando uma população com cromossomos recombinantes de recombinações homologas do cromossomo 4D da cv. Chinese Spring e o cromossomo 4B do *T. turgidum*. Este gene *Alt2* está localizado num intervalo de 4 cM delineado pelos marcadores Xpsr914 e Xpsr1051.

Na cultivar Atlas 66, foi relatado que existe um gene de tolerância no cromossomo 5D (Prestes et al., 1975). Contudo, Riede & Anderson (1996) realizaram uma avaliação com 41 marcadores de RFLP no cromossomo 5D e não encontraram evidência da presença deste gene na cultivar BH 1146, podendo este ser um gene menor presente neste ou em outro cromossomo que não foi detectado.

Na cultura de cevada, Tang et al., (2000) mapearam um gene de tolerância ao alumínio no braço longo do cromossomo 4H a 2,1 cM do marcador Xbcd1117, do lado do centrômero, e 2,1 cM no lado oposto, os marcadores Xwg464 e Xcdo1395. Já o marcador Xbcd1230 ficou a 33,5 cM deste gene.

A técnica de RFLP é ainda muito cara para ser usada no melhoramento de plantas. Uma maneira de se diminuir estes custos seria a construção de *primers* de PCR da seqüência final dos *primers* de RFLP e utilizá-los como marcadores na avaliação da presença deste(s) gene(s) de tolerância ao alumínio (Talbert et al. apud Riede & Anderson, 1996).

Em um trabalho realizado com o objetivo de fazer a caracterização física e genética do cromossomo 4DL do trigo, Milla & Gustafson (2001), encontraram vários marcadores e realizaram um trabalho para desenvolver *primers* de PCR da seqüência final do *primer* bcd1230 e estes foram

eficientes na discriminação de genótipos de trigo tolerantes e sensíveis ao alumínio tóxico. Também encontraram marcadores de microssatélite e outros marcadores de AFLP associados ao cromossomo 4DL com o objetivo de saturar este cromossomo com marcadores para estudos mais detalhados do gene de tolerância ao alumínio presente (Milla & Gustafson, 2001).

Os marcadores moleculares identificados pelo processo de amplificação em cadeia utilizando uma DNA polimerase ou (PCR) como o AFLP e microssatélites, comparados com as técnicas que envolvem hibridação de DNA (RFLP), são geralmente de menor custo, menos elaboradas, algumas mais fáceis de implementar na rotina de programas de melhoramento e de menor tempo na obtenção dos resultados (Milach, 1998).

A técnica de AFLP, polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (Vos et al., 1995) envolve quatro etapas, que são: clivagem do DNA genômico total do indivíduo com enzimas de restrição; ligação de adaptadores específicos aos fragmentos genômicos gerados pela clivagem; amplificação seletiva dos fragmentos com iniciadores específicos; e separação dos fragmentos por eletroforese em gel de poliacrilamida. O polimorfismo obtido está relacionado com as diferenças entre genótipos na distribuição dos sítios de restrição e na amplificação diferencial de fragmentos (Milach, 1998).

A técnica de marcadores por microssatélites ou repetições de seqüências simples (SSRs) é outro tipo de marcador molecular atualmente bastante utilizado para construção de mapas de ligação baseados em PCR. Estes marcadores ocorrem como conjuntos repetidos de 1 a 6 pares de bases de nucleotídeos que se dispõem em tandem por distâncias de aproximadamente 100 pares de bases (pb). A grande quantidade e o alto

nível de polimorfismo das seqüências repetidas simples faz com que as mesmas sejam marcadores moleculares de DNA ideais para mapeamento genético e estudos de populações (Ferreira & Gratapaglia, 1995; Milach, 1998; Echart, 2001).

Em um trabalho realizado em trigo, para as cultivares HANNO sensível e BH 1146 tolerante, Czembor et al. (2001), identificaram marcadores de microssatélites no braço longo do cromossomo 4D, dois marcadores moleculares, *Xgwm165* e *Xgdm125*, mapeados a uma distância de 8,6 e 3,2 cM respectivamente.

Alguns mapas de ligação utilizando marcadores de microssatélites têm sido feitos para estudos de mapeamento em genomas de plantas como para *Arabidopsis thaliana* (Bel & Ecker, 1994), arroz (Temnykh et al., 2000) e cevada (Becker & Heun, 1995).

Seleção assistida por marcadores, pode ser uma valiosa ferramenta a ser utilizada na transferência de genes para tolerância ao Al⁺⁺⁺ evitando o efeito do ambiente. Os marcadores moleculares associados a genes para a tolerância ao alumínio podem ser usados no monitoramento da transferência destes genes para germoplasmas sensíveis, reduzindo ou eliminando assim, a necessidade de trabalhos de melhoramento de plantas muito prolongados (Riede & Anderson, 1996).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em três etapas. A primeira foi realizada na Estação Experimental Agronômica (EEA) da UFRGS e no telado do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS, com o objetivo de obter as gerações F₁ até F₅, e alguns retrocruzamentos. A EEA está localizada no município de Eldorado do Sul, situada a 30° 05' 27" de latitude Sul e 51° 40' 18" de longitude Oeste, apresentando altitude média de 46 metros acima do nível do mar (Bergamaschi & Guadagnin, 1990). O solo da EEA é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico típico (EMBRAPA 1999).

A segunda etapa foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Plantas de Lavoura, com os testes de avaliação da tolerância ao alumínio em solução nutritiva.

E por fim, a terceira etapa, foi realizada no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Plantas de Lavoura com o estudo de marcadores moleculares associados a gene(s) que regula(m) a tolerância ao alumínio em aveia.

Foram incluídos no estudo oito genótipos de aveia que apresentam resposta diferencial quanto à tolerância à toxidez de alumínio (Tabela 1). Sete genótipos foram selecionados do Programa de Melhoramento Genético de Aveia da UFRGS, com base nos dados obtidos por Sánchez-Chacón et al.

(2000) e Wagner et al. (2001) e um genótipo proveniente do Programa de Melhoramento de Aveia da Universidade de Passo Fundo (UPF).

TABELA 1. Genealogia dos genótipos de aveia utilizados e a resposta à toxicidade do alumínio. UFRGS, 2002

Genótipos	Genealogia	Resposta ao alumínio
UFRGS 15	Cor ² /CTZ ³ /PENDEK/ME 1563//CP16CRcpx/c7512/SRcpx/74C8014	Tolerante
UFRGS 17	Cor ² /CTZ ³ /PENDEK/ME1563//76-29/76-23/75-28/CI833	Tolerante
UFRGS 93605	UFRGS 15/UFRGS 881920	Tolerante
UPF 91AI100-1-4	8014/301/SRcpx/CRcps/SRcpx/JHG-8	Tolerante
UFRGS 16	CP16CRcpx/C7512/SRcpx/74C8014	Sensível
UFRGS 911715	UFRGS 86A 1194-2/UFRGS8	Sensível
UFRGS 93598-6	UFRGS 15/UFRGS 881920	Sensível
UFRGS 911740	UFRGS 884087/UFRGS 881517	Sensível

3.1. Obtenção das Populações Segregantes

A primeira fase foi conduzida entre 1998 e 2001 na EEA. Nos dois primeiros anos, os genótipos foram semeados em parcelas com quatro linhas de três metros de comprimento espaçadas 0,30 metros entre linhas. Três épocas distintas de semeadura foram feitas para obtenção de sincronia de florescimento. Desta forma, foi possível ter um período maior de cruzamentos e obtenção de um bom número de plantas F₁ e retrocruzamentos. Foram realizados 28 cruzamentos na forma de um desenho dialélico parcial entre os genótipos (Tabela 2). Parcelas com quatro linhas de dois metros por 0,30 metros entre linhas, também foram semeadas no telado do Departamento de

Plantas de Lavoura da UFRGS em três épocas diferentes para realização de cruzamentos.

TABELA 2. Populações obtidas a partir de cruzamentos entre oito genótipos de aveia na forma de dialélico parcial. UFRGS, 2002

Genitores	UFRGS 16	UFRGS 17	UFRGS 911715	UFRGS 9 11740	UFRGS 93598-6	UFRGS 93605	UPF 91AI100-1-4
UFRGS 15	X	X	X	X	X	X	X
UFRGS 16		X	X	X	X	X	X
UFRGS 17			X	X	X	X	X
UFRGS 911715				X	X	X	X
UFRGS 911740					X	X	X
UFRGS 93598-6						X	X
UFRGS 93605							X
UPF 91AI100-1-4							

Nem todos os cruzamentos foram avaliados quanto à tolerância ao alumínio tóxico. Procurou-se analisar os cruzamentos em que os genitores apresentaram repetibilidade de resultados em diferentes experimentos quanto a avaliação da tolerância em diferentes soluções nutritivas. Foram analisados principalmente os cruzamentos contrastantes (tolerantes x sensíveis) na estimativa da herdabilidade do caráter.

No período reprodutivo, utilizando-se a técnica de “flor aberta” descrita por Bertagnoli e Federizzi (1994), as plantas femininas foram emasculadas no momento da antese e polinizadas 2 a 3 dias após a emasculação. Na fase de maturação, as sementes de todos os cruzamentos foram colhidas, identificadas e guardadas em ambiente climatizado a 8°C.

Nos anos de 1999, 2000 e 2001, para obtenção das gerações F_2 , F_3 , F_4 , F_5 , foram semeadas a campo as gerações genitoras destas, provenientes dos cruzamentos e multiplicações dos anos anteriores. Para

avanço de geração nos meses de verão (dezembro a abril), as sementes obtidas na época normal de plantio, foram conduzidas pelo método em SSD modificado. Neste método, 10 sementes provenientes de uma panícula de cada planta da geração anterior foram semeadas em uma cova, colhendo-se novamente uma panícula por cova para avançar a próxima geração até F₅. Na geração F₅ foram conduzidas separadamente quatro plantas originadas de uma cova da geração F₄.

As gerações RC₁F₁ e RC₂F₁ foram obtidas através dos retrocruzamentos indicados na Tabela 3.

TABELA 3. Retrocruzamentos realizados na Estação Experimental Agronômica de Eldorado do Sul e telado, nos anos de 1999 e 2000. UFRGS, 2002

F ₁	Genitores			
	UFRGS 17	UFRGS 911740	UFRGS 93598-6	UPF 91AI100-1-4
UFRGS 15 x UFRGS 911740		X		
UFRGS 17 x UFRGS 911715	X			
UFRGS 17 xUPF 91AI100-1-4				X
UFRGS 911715 x UFRGS 93598-6			X	
UFRGS 911715xUPF 91AI100-1-4				X
UFRGS 93598-6xUPF 91AI100-1-4			X	X

3.2. Avaliação da Tolerância ao Alumínio

A segunda fase do trabalho teve início em dezembro de 1999 e foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos da UFRGS. Consistiu da avaliação das diferentes gerações dos cruzamentos em solução nutritiva quanto à tolerância ao alumínio tóxico. Inicialmente, foram testadas soluções nutritivas que melhor avaliassem o recrescimento radicular de oito genótipos

quanto à tolerância ao alumínio. Num segundo momento, a partir da utilização da solução nutritiva em que se obteve os melhores resultados, foi realizada a avaliação genética da tolerância ao alumínio em aveia.

O método utilizado para determinação da tolerância foi o proposto por Camargo & Oliveira (1981), que é constituído de uma solução completa e uma solução tratamento.

A solução completa é a solução que contém nutrientes necessários para o desenvolvimento normal da planta, na qual foram semeados os genótipos avaliados, e para onde retornaram após serem submetidos à solução tratamento. Já, a solução tratamento constou de um décimo da solução completa, mais a fonte de alumínio.

Por este método, os genótipos são primeiramente semeados na solução completa, onde permanecem por 48 horas. A seguir, são transferidos para solução tratamento contendo o alumínio tóxico, onde permanecem por mais 48 horas. Na seqüência, os genótipos retornam a solução completa permanecendo por outras 72 horas. Nesta última fase, para alguns experimentos, os genótipos permaneceram algumas horas a mais devido a dificuldades em realizar a avaliação exatamente nas 72 horas previstas.

3.2.1. Preparo das sementes

Os genótipos e populações segregantes permaneceram por 10 dias na geladeira, sob temperaturas de até 8°C, para a quebra de dormência e a uniformização da germinação.

As sementes utilizadas foram previamente descascadas e desinfetadas com hipoclorito de sódio a 7%, por 5 minutos, posteriormente lavadas seis vezes em água destilada estéril. Após, as sementes foram colocadas em papel germinador, molhadas com água destilada, e levadas a

BOD à 25°C, permanecendo por aproximadamente 48 horas, até a emissão de radículas com aproximadamente 5mm. As sementes dos genótipos e populações segregantes, foram padronizadas, quanto ao tamanho, para minimizar o provável efeito sobre o erro experimental.

Para as três soluções nutritivas testadas, as sementes germinadas foram colocadas inicialmente na solução completa e seguiu-se o método proposto por Camargo & Oliveira (1981). Durante todo o tempo, as plântulas ficaram sobre telas plásticas adaptadas a tampas de potes em contato constante com a solução nutritiva.

Os potes com solução nutritiva foram colocados em tanques com banho-maria, nos quais a água foi mantida a 20°C com o auxílio de resistências adaptadas ao tanque e ar condicionado. A luz foi mantida constante em todos os experimentos, e os potes contendo solução nutritiva foram ligados a um sistema de oxigenação.

A avaliação foi realizada pela medição do recrescimento da raiz principal de cada plântula quando elas foram retiradas da solução completa após as últimas 72 horas. O recrescimento foi medido a partir da calosidade causada quando as plantas foram colocadas na solução contendo alumínio, que provoca um engrossamento das raízes e diminuição ou paralisação do crescimento. As plantas tolerantes, quando colocadas novamente em solução sem alumínio, voltam a se desenvolver normalmente, já para as plantas sensíveis o desenvolvimento é mais lento e ocorre o engrossamento das raízes.

3.2.2. Avaliação das soluções nutritivas

A avaliação das soluções nutritivas para discriminação de genótipos de aveia quanto à tolerância ao alumínio tóxico foi realizada comparando-se três soluções diferentes e a resposta dos oito genótipos fixos utilizados nos cruzamentos.

3.2.2.1. Solução proposta por Camargo & Oliveira 1981

A primeira solução utilizada foi a descrita por Camargo & Oliveira (1981), e adaptado para aveia por Sánchez-Chacón et al. (2000).

A solução completa consistiu de: Ca (NO₃)₂ - 4mM; MgSO₄ - 2mM; KNO₃ - 4mM; (NH₄)₂SO₄ - 0,435 mM; KH₂PO₄ - 0,5 mM; MnSO₄ - 2 µM; CuSO₄ - 0,3 µM; ZnSO₄ - 0,8 µM; NaCl - 3 µM; Fe-EDTA - 10 µM; Na₂MoO₄ - 0,10 µM; H₃BO₃ - 10 µM.

A composição da solução tratamento foi um décimo da solução completa, exceto o fósforo que foi omitido, para evitar uma possível precipitação do Al³⁺. O alumínio foi acrescentado na solução na concentração de 20 ppm na forma Al₂O₁₂S₃ 18H₂O . Para ambas soluções, o pH foi ajustado previamente para 4,0 com H₂SO₄ 1N e no decorrer do experimento foi ajustado diariamente. Tal procedimento se justifica porque nesse nível de acidez aumenta a disponibilidade de Al³⁺, que é a forma tóxica.

3.2.2.2. Solução proposta por Polle et al. 1978

A segunda solução utilizada foi à proposta por Polle et al. (1978) para avaliação da tolerância pelo método da coloração por hematoxilina e adaptado por Oliveira et al. (2002), para avaliação do recrescimento radicular em aveia.

A solução nutritiva completa, neste caso, consistiu de 5mM CaCl_2 , 6,5 mM KNO_3 , 2,5 mM MgCl_2 , 0,1 mM $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, 0,4 mM NH_4NO_3 :

A solução tratamento constou de um décimo da solução completa, mais 20ppm de Al^{3+} na forma de AlCl_3 . O pH das soluções foi ajustado previamente para 4,0 com HCl 0,1N e corrigidos diariamente para este, no decorrer do experimento.

3.2.2.3. Solução proposta por Rhue & Grogan 1976

A terceira solução utilizada foi à proposta por Rhue & Grogan apud Prioli et al. (1985), para avaliação da tolerância ao alumínio em milho, adaptado por Gotuzzo et al. (2001) para avaliação em aveia.

A solução nutritiva completa constou apenas de 60 ppm de cálcio na forma de CaCl_2 . Adicionou-se o íon Ca na solução, para evitar a desestabilização do pH, acelerar o alongamento radicular e, conseqüentemente, aumentar a absorção de Al.

A solução tratamento constou também de um décimo da solução completa mais 20ppm de Al^{3+} na forma de AlCl_3 . Novamente, o pH foi ajustado para 4,0 com HCl 0,1N e no decorrer do experimento corrigido diariamente.

3.2.2.4. Experimentos realizados

Os experimentos foram realizados para avaliação individual e conjunta das três soluções nutritivas, sob diferentes condições de pH e concentração de sais e Al (Tabela 4). Para cada experimento, o número de repetições foi variável, dependendo da disponibilidade de sementes e de espaço nos tanques. Cada repetição constou da determinação do

recrescimento da raiz principal de cinco a dez plântulas, dependendo do número de plântulas disponíveis para cada genótipo. Os experimentos foram conduzidos através do delineamento inteiramente casualizado. O arranjo fatorial foi utilizado quando mais de um fator foi analisado.

TABELA 4. Experimentos realizados na avaliação de três soluções nutritivas sob diferentes doses de Al, pH e concentração das soluções. UFRGS, 2002

Experimentos	Solução Nutritiva	Dose de Al ppm	pH	Concentração da Solução Nutritiva (%)
01	Camargo & Oliveira 1981	20	4.0	100
02	Camargo & Oliveira 1981	20	4.0	100
03	Camargo & Oliveira 1981	20	4.0	25, 50, 75 e 100*
04	Polle et al. (1978)	15 e 20*	4.0	100
05	Polle et al. (1978)	15 e 20*	4.0	100
06	Polle et al. (1978)	20	4.0 e 5.0*	50 e 100*
07	Rhue e Grogan apud Prioli (1985) Gotuzzo	10, 15 e 20*	4.0	100
08	Rhue e Grogan apud Prioli (1985)	20	4.0	100
09	Camargo & Oliveira 1981, Polle et al. (1978), Rhue e Grogan apud Prioli (1985) *	20	4.0	100

* Arranjo fatorial dos tratamentos.

3.2.3. Análises genéticas

Na análise genética a avaliação da tolerância ao alumínio foi realizada pela avaliação do recrescimento da raiz principal na solução nutritiva proposta por Polle et al. (1978) com 20 ppm de alumínio.

3.2.3.1. Distribuição de freqüência

A determinação do número de genes foi realizada através de uma análise qualitativa, com base na distribuição de freqüências do recrescimento da raiz principal da geração F_2 de 16 cruzamentos dos 28 realizados, principalmente dos cruzamentos contrastantes quanto à tolerância ao alumínio. Para o cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 93958-6 foram avaliadas

as gerações F_4 e F_5 e para o cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 911715 a geração F_5 . As gerações RC_1F_1 e RC_2F_1 também foram avaliadas quando obtidas. Os intervalos de classe foram determinados baseados na fórmula:

$$i = A/K$$

$$K = \sqrt{n}$$

i = intervalo de classe;

A = amplitude de variação entre o número máximo e o mínimo;

K = número de classes;

n = número de observações.

Uma hipótese genética, quanto ao número de genes segregantes, foi testada para cada população, com base nas distribuições de frequências obtidas nas gerações e testadas pelo teste de χ^2 ($P > 0.05$) (Steel & Torrie, 1960).

3.2.3.2. Média de gerações

Os dados de crescimento da raiz principal foram analisados de forma quantitativa, onde foram estimados os efeitos gênicos pelo método da média de gerações para oito cruzamentos (UFRGS 17 x UFRGS 911715, UFRGS 17 x UFRGS 93598-6, UFRGS17 x UPF 91AI100-1-4, UFRGS 911715 x UFRGS 93598-6, UFRGS 911715 x UPF 91AI100-1-4, UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6, UFRGS15 x UFRGS 93598-6 e UFRGS 15 x UFRGS 911740).

Os efeitos gênicos da média, aditividade e dominância foram estimados a partir dos dados das gerações de cada cruzamento e testados através de análise das médias de gerações, segundo Cavalli, apud Mather & Jinks, (1982) no qual:

$$P_1 = m + a$$

$$P_2 = m - a$$

$$F_1 = m + d$$

$$F_2 = m + \frac{1}{2} d$$

$$RC_1F_1 = m + \frac{1}{2} a + \frac{1}{2} d$$

$$RC_2F_1 = m - \frac{1}{2} a + \frac{1}{2} d$$

onde : m = média geral;

a = efeitos aditivos;

d = efeitos de dominância;

Sendo P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1F_1 e RC_2F_1 as gerações parentais e segregantes de cada população.

Este método permite estimar um número de parâmetros inferior em uma unidade ao número de gerações disponíveis. Para cada cruzamento foi testado o modelo com três parâmetros: média (m), aditividade (a) e dominância (d). A adequação do modelo foi feita pelo teste χ^2 com n graus de liberdade ($P > 5\%$), que correspondem à diferença entre o número de gerações disponíveis e o número de parâmetros estimados.

3.2.3.3. Variâncias e herdabilidade

As variâncias ambiental (V_E), genética (V_G), aditiva (V_A) e fenotípica (V_P), bem como as herdabilidades no sentido amplo (h_a) e restrito (h_r) foram estimadas das gerações P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1F_1 , RC_2F_1 , conforme a obtenção das mesmas nos diferentes cruzamentos, utilizando as fórmulas propostas por Allard(1960):

$$V_E = (VP_1 + VP_2 + VF_1)/3$$

$$V_G = VF_2 - V_E$$

$$V_A = (2*V_G) - (VRC_1F_1 + VRC_2F_1)$$

$$V_P = VF_2$$

$$h_a = V_G/V_P$$

$$h_r = V_A/V_P$$

Através da análise de um delineamento dialélico parcial desbalanceado (Griffing, 1956), contendo quatro genitores (UFRGS 17, UFRGS 911715, UFRGS 93598-6 e UPF 91AI100-1-4) e as F₁ sem os recíprocos, foram estimadas a capacidade geral de combinação (CGC), a capacidade específica de combinação (CEC).

3.3. Localização de Genes Associados à Tolerância ao Alumínio Tóxico através de Marcadores Moleculares

A população de linhas recombinantes F₅ do cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 93958-6 foi escolhida para o mapeamento molecular por ser provavelmente os genitores mais contrastantes para a característica. Marcadores moleculares do tipo AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphic* ou polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados) e microssatélites foram utilizados no estudo. A análise de grupos de DNA segregante para tolerância ao Al ou *Bulked Segregant Analysis* – BSA, foi utilizada para verificar a existência de marcadores moleculares associados a genes de tolerância ao alumínio tóxico.

A extração do DNA genômico foi feita em larga escala com o protocolo proposto por Nelson (1993), a partir das folhas mais jovens de plantas de aveia, obtidos 20 dias após o transplante para o solo. O DNA extraído foi quantificado com o espectrofotômetro de UV da marca Gênesis 2 (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, N.Y.), com variação do comprimento

de onde de 200 a 1100nm, e diluído em soluções de trabalho conforme o método empregado.

Inicialmente, foram avaliados 19 oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) de microssatélite existentes no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS. Os *primers* utilizados, foram aqueles publicados por Li et al. (2000a) e suas respectivas seqüências se encontram na Tabela 5.

TABELA 5. *Primers de microssatélite utilizados*

Primers	Seqüências	Seqüências repetidas
AM 1	5'GGA TCC TCC ACG CTG TTG A 5'CTC ATC CGT ATG GGC TT A	(AG) ₂₁ (CAGAG) ₆
AM 2	5'TGA ATT CGT GGC ATA GTC ACA AGA 5'AAG GAG GGC ATA GGG AGG TAT TT	(AG) ₂₄
AM 4	5'GGT AAG GTT TCG AAG AGC AAA G 5'GGG CTA TAT CCA TCC CTC AC	(AG) ₃₄
AM 5	5'TTG TCA GCG AAA TAA GCA GAG A 5'GAA TTC GTG ACC AGC AAC AG	(AG) ₂₇
AM 6	5'AAT GAA GAA ACG GGT GAG GAA GTG 5'CCA GCC CAG TAG TTA GCC CAT CT	(AG) ₂₀
AM 14	5 GTG GTG GGC ACG GTA TCA 5'TGG GTG GCG AAG CGA ATC	(AC) ₂₁
AM 15	5'GTG ACC GTA AAC GAT AAC AAC 5'AAG CAA GAC GCG AGA GTA GG	(AC) ₁₄
AM 17	5'CGA GAT TTC GGT GTA GAC 5'CCG GGA ATT AAC GGA GTC	(AC) ₁₃
AM 19	5'ATA GAA CGG CAT GAT AAC GAA ATA 5'GCG CGA CAA CAG GAC CTT C	(AC) ₃ ..(AC) ₆ ..(AC) ₅ ..(AC) ₇
AM 22	5'ATT GTA TTT GTA GCC CCA GTT C 5'AAG AGC GAC CCA GTT GTA TG	(AC) ₂₂
AM 23	5'TCT TTA AGG ATT TGG GTG GAG 5'AAT CTT CGA GGG TGA GTT TCT	(AC) ₁₉
AM 24	5'GTT ATT GAT TTC CTG ATG TAG AGA 5'AGA GCC AAG AAA GCA ACT G	(AAG) ₅ ..(TCA) ₅
AM 25	5'AGC CTG GAC ATG TAA TCT GGT 5'AGC CCT GGT CTT CTT CAA CA	(AC) ₈ ..(AC) ₄ (CT) ₄
AM 27	5'CAA AGG CCA AAT GGT GAG 5'CCG CAA AGT CAT ATG GAG CAT	(AAG) ₁₀
AM 28	5'GAC CTC TTG AGT AAG CAA CG 5'TGG TCT TCC TAT CCA CAA TG	(GAA) ₈
AM 31	5'GCA AAG GCC ATA TGG TGA GAA 5'CAT AGG TTT GCC ATT CGT GGT	(GAA) ₂₃
AM 35	5'CGT GAC CTT TAT ATC ACC ACT 5'GTG GCT CGT GAT ATT GGC AC	(GAA) ₁₄
AM 40	5'CTC TGG GGG TGG TAG TTC CT 5'GAA AGA CAG GCC TCC ACA AAT	(GAA) ₇
AM 42	5'GCT TCC CGC AAA TCA TCA T 5'GAG TAA GCA AAG GCC AAA AAG T	(GAA) ₁₆

O DNA extraído foi diluído para uma solução trabalho de 25ng/ml.

As reações de amplificação de DNA foram realizadas conforme o protocolo de Li et al. (2000), e constaram de 25µl cada contendo 50ng de DNA

genômico, 200 μ M de dNTP, uma unidade da enzima *Tac* polimerase, tampão da enzima 1x, 1,5mM de MgCl e 25ng da combinação de iniciadores de microssatélites. As amplificações foram conduzidas em termociclador PTC-100tm (MJ Research Inc.) utilizando os seguintes ciclos: 18 ciclos para a desnaturação a 94°C por 1 min, e para extensão a 72°C por 1 min. As temperaturas de anelamento foram diminuindo progressivamente por 0,5°C em todos os ciclos de 64°C a 55°C. A reação de PCR continuou por mais 30 ciclos a 94°C por 1 min, 55°C por 1min e 72°C por 1min. O final da reação foi com a extensão por 10min a 72°C.

Os fragmentos de amplificação de DNA foram separados em gel de poliacrilamida 5% (19:1 – acrilamida:bisacrilamida), a 80w, durante aproximadamente duas horas. As etapas de fixação, coloração e revelação das bandas em gel seguiram o protocolo “Silver SequenceTM da “Promega Corporation” (1996). A análise visual das bandas foi realizada em mesa com luz fluorescente.

Para este método foram testados os genótipos parentais UFRGS 17 e UFRGS 93598-6, e um grupo de DNA de plantas de 15 linhas F₅ com o maior recrescimento radicular (tolerantes) e um grupo de DNA de plantas de 15 linhas F₅ com menor recrescimento radicular (sensíveis), avaliadas previamente em solução nutritiva.

Na análise de marcadores por AFLP utilizou-se o protocolo de Voz et al. (1995) com algumas adaptações. Os fragmentos de amplificação de DNA foram separados em gel de poliacrilamida 5% (19:1 – acrilamida:bisacrilamida), a 80w, durante aproximadamente duas horas. As etapas de fixação, coloração e revelação das bandas em gel seguiram o

protocolo “Silver Sequence™” da “Promega Corporation” (1996). A análise visual das bandas foi realizada em mesa com luz fluorescente.

Para a nomenclatura dos marcadores utilizou-se a letra P, indicando o *primer* Pst1, seguido dos dois nucleotídeos do *primer*. Logo após utilizou-se à letra M, indicando o *primer* Mse1, seguido dos dois últimos nucleotídeos do *primer*.

Foram avaliadas 24 combinações de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) (Tabela 6). Inicialmente, foram analisadas as combinações *primers* para comparar os genótipos e os *bulks* contrastantes, após foram selecionados os *primers* que apresentaram maior polimorfismo para a tolerância ao alumínio.

TABELA 6. Combinações de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) utilizados para amplificação seletiva seguindo o protocolo de AFLP, para mapeamento da tolerância ao alumínio na população UFRGS 17 x UFRGS 93598-6. UFRGS, 2002

Número	Primer Pst I	Primer Mse I	Número	Primer Pst I	Primer Mse I
1	P-AAG	M-CTA	13	P-ATG	M-CTA
2	P-AAG	M-CAG	14	P-ATG	M-CAG
3	P-AAG	M-CGC	15	P-ATG	M-CGC
4	P-AAG	M-CCA	16	P-ATG	M-CCA
5	P-AAG	M-CGG	17	P-ATG	M-CGG
6	P-AAG	M-CTT	18	P-ATG	M-CTT
7	P-AAT	M-CTA	19	P-AAA	M-CTA
8	P-AAT	M-CAG	20	P-AAA	M-CAG
9	P-AAT	M-CGC	21	P-AAA	M-CGC
10	P-AAT	M-CCA	22	P-AAA	M-CCA
11	P-AAT	M-CGG	23	P-AAA	M-CGG
12	P-AAT	M-CTT	24	P-AAA	M-CTT

O passo seguinte foi avaliar os pares de *primers* que apresentaram polimorfismo para tolerância ao alumínio para 90 plantas de linhas F₅ individualmente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica utilizada para a germinação das plântulas dos genótipos permitiu uma germinação uniforme e que fossem obtidas plântulas com crescimento radicular inicial similar.

A técnica de germinação utilizada foi mais eficiente que as anteriormente utilizadas por Sánchez-Chacón et al. (2000) e Wagner et al. (2001), porque permitiu a obtenção de um maior número de plântulas por repetição, menor incidência de doenças e maior rapidez no enraizamento (36 a 48 horas).

O genótipo UFRGS 911740 apresentou germinação mais tardia provavelmente, devido a diferença de temperatura ótima requerida por este genótipo, quando comparado com os demais. Uma avaliação da temperatura ideal, para cada genótipo, poderia ser feita para verificar as diferenças que podem ocorrer entre os mesmos.

4.1. Análise das Soluções Nutritivas

A solução nutritiva, para determinação da tolerância ao alumínio tóxico ainda não está bem definida, para a cultura da aveia. Trabalhos anteriores demonstraram uma variação significativa nas respostas dos genótipos de aveia, quanto à tolerância ao alumínio (Wagner, 1999). Tendo

em vista esta dificuldade foram realizados vários experimentos para determinar a melhor solução, concentração de sais e pH.

A primeira solução nutritiva testada foi à proposta por Camargo e Oliveira (1981), adaptada e utilizada para verificar a tolerância ao alumínio tóxico em aveia por Sánchez-Chacón et al. (2000). A solução contém como fonte de alumínio, o sulfato de alumínio. Os genótipos avaliados foram UFRGS 17, UFRGS 93605, e UFRGS 15, por apresentarem reação de tolerância e os genótipos UFRGS 911715, UFRGS 911740, UFRGS 16 e UFRGS 93598-6 por apresentarem reação de sensibilidade em trabalhos anteriores (Sánchez-Chacón et al., 2000; Wagner et al., 2001). Também foi analisado o genótipo UPF 91AI100-1-4 por apresentar tolerância ao alumínio a campo.

Os resultados (Tabela 7) dos experimentos 1 e 2, demonstram que os genótipos UFRGS 17, UPF 91AI100-1-4 e UFRGS 911740 apresentaram um maior recrescimento radicular, sendo tolerantes. O genótipo UFRGS 911715 um recrescimento intermediário e os genótipos UFRGS 15, UFRGS 16, UFRGS 93605 e UFRGS 93598-6 um recrescimento menor, sendo sensíveis.

TABELA 7. Efeitos da dose de 20 ppm de alumínio, sobre o recrescimento médio da raiz principal de oito genótipos de aveia e a sua reação ao alumínio tóxico, em dois experimentos com a solução nutritiva proposta por Camargo & Oliveira. UFRGS, 2002

Genótipos	Experimento 1			Experimento 2		
	Recrescimento (cm)		Reação dos Genótipos	Recrescimento (cm)		Reação dos Genótipos
UFRGS 17	1.61	a	T	1.11	b c	T
UPF 91AI100-1-4	1.42	a b	T	1.59	a b	T
UFRGS 911740	1.07	b c	T	1.78	a	T
UFRGS 911715	0.78	c d	I	0.76	c d	I
UFRGS 16	0.50	d e	S	0.38	d e	S
UFRGS 15	0.29	e	S	0.15	e	S
UFRGS 93605	0.26	e	S	0.12	e	S
UFRGS 93598-6	0.21	e	S	0.15	d e	S
Médias	0.79 ± 0.30			0.73 ± 0.37		
CV (%)	42.30			51.17		

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%. T= tolerante, I = intermediário e S= sensível.

Os resultados diferem dos obtidos anteriormente para o genótipo UFRGS 93605, o qual havia sido relatado como tolerante (Sánchez-Chacón, 1998 e Wagner, 1999). O genótipo UFRGS 15 havia se comportado como tolerante (Wagner, 1999) ou apresentado uma resposta intermediária (Sánchez-Chacón, 1998). Já o genótipo UFRGS 911715 apresentou um recrescimento inferior (Sánchez-Chacón, 1998).

Como os resultados obtidos diferiram dos resultados obtidos anteriormente realizou-se um terceiro experimento para avaliar as concentrações de 25, 50, 75 e 100% da solução nutritiva proposta por Camargo e Oliveira (1981) (Tabela 8).

Neste experimento foram avaliados sete genótipos, devido a uma certa instabilidade na resposta a tolerância ao alumínio do genótipo UFRGS 911740, já observada por Wagner et al. (2001), este foi retirado desta análise.

TABELA 8. Efeito principal da concentração da solução nutritiva e da interação genótipos x concentrações da solução sobre o crescimento médio da raiz principal de aveia, após o tratamento com 20 ppm de alumínio na solução nutritiva proposta por Camargo & Oliveira. UFRGS, 2002

Genótipos	Concentração da Solução Nutritiva (%)							
	25		50		75		100	
UFRGS 17	2.44	b	3.50	a	2.12	b c d	2.31	b
UPF 91AI100-1-4	1.60	c d e	2.08	b c d	1.93	b c d	2.18	b c
UFRGS 911715	1.56	d e	1.11	e f	1.64	c d e	1.64	c d e
UFRGS 16	0.77	f	0.89	f	0.87	f	0.70	f
UFRGS 15	0.64	f	0.45	f	0.71	f	0.61	f
UFRGS 93605	0.47	f	0.34	f	0.28	f	0.27	f
UFRGS 93598-6	0.60	f	0.37	f	0.34	f	0.27	f
Médias	1.15	A	1.25	A	1.13	A	1.14	A
CV (%)	32.24							

Médias seguidas pela mesma letra (nas colunas em minúsculo e na fila em maiúsculo), não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%.

O crescimento das raízes, na média de todos os genótipos, nas diferentes concentrações da solução nutritiva, não apresentou diferença significativa (Tabela 8). A interação entre os genótipos e as doses foi significativa, entretanto, de modo geral os genótipos UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4, independente da dose, se comportaram como tolerantes. O genótipo UFRGS 911715 teve um comportamento intermediário e os demais genótipos se comportaram como sensíveis. Estes resultados confirmam os obtidos quando foram avaliados os mesmos genótipos somente com a dose de 100% da solução nutritiva.

Os experimentos conduzidos com esta solução nutritiva apresentaram uma baixa precisão. Os coeficientes de variação foram maiores que 20%, devido provavelmente, ao comportamento diferencial dos genótipos nesta solução nutritiva, onde os genótipos mais sensíveis apresentaram menor amplitude de variação que os genótipos tolerantes, o que já havia sido observado por Sánchez-Chacón (1998) .

A divergência entre os resultados obtidos e os anteriormente encontrados (Sánchez-Chacón et al., 2000 e Wagner et al., 2001) para a cultura da aveia, determinaram que fossem testadas outras soluções nutritivas.

A segunda solução nutritiva avaliada foi à proposta por Polle et al. (1978) e adaptada por Oliveira et al. (2002), para avaliação do recrescimento radicular em aveia. Foram realizados dois experimentos (4 e 5) em que foram avaliadas duas doses de alumínio 15 e 20 ppm e os oito genótipos. Como a interação entre genótipos e doses de alumínio não foi significativa, analisou-se cada fator separadamente (Tabela 9).

Os genótipos avaliados com esta solução, em dois experimentos, apresentaram respostas muito próximas aquelas obtidas com a solução anterior. Entretanto, foi obtida uma melhor separação entre genótipos tolerantes e sensíveis, e a precisão dos experimentos foi maior (coeficientes de variação 13.2 e 12.4%).

TABELA 9. Efeito médio de duas doses de alumínio (15 e 20 ppm) sobre o recrescimento médio da raiz principal de oito genótipos de aveia, em dois experimentos (4 e 5) com solução nutritiva proposta por Polle et al. UFRGS, 2002

Genótipos	Experimento 4			Experimento 5		
	Recrescimento (cm)		Reação do Genótipos	Recrescimento (cm)		Reação do Genótipos
UPF 91AI100-1-4	3.65	a	T	2.12	a	T
UFRGS 17	3.02	a b	T	1.58	b	T
UFRGS 911740	2.67	b c	I	0.97	d	I
UFRGS 15	2.28	c d	I	0.96	d	I
UFRGS 911715	1.75	d e	I	1.26	c	I
UFRGS 16	1.22	e f	S	0.83	d	I
UFRGS 93605	1.09	e f	S	0.58	e	S
UFRGS 93598-6	0.94	f	S	0.52	e	S
Médias	2.08 ± 0.27			1.10 ± 0.14		
CV (%)	13.2			12.4		

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%. T= tolerante, I = intermediário e S= sensível.

A diferença no valor do recrescimento das raízes principais de um experimento para outro foi devido a uma maior permanência das plântulas no tanque, na última fase, no experimento 4. No entanto, esta diferença de tempo não interferiu na classificação dos genótipos quanto à tolerância ao alumínio, apenas a UFRGS 16 passou de sensível para intermediária.

Para as diferentes concentrações de alumínio não foram detectadas diferenças significativas em nenhum dos experimentos (Tabela 10), indicando que poderia ser utilizados 15 ppm como dose de alumínio para a discriminação da tolerância em aveia, para os genótipos utilizados neste trabalho.

TABELA 10. Efeito de duas doses de alumínio, 15 e 20 ppm, sobre o recrescimento médio da raiz principal de genótipos de aveia, em dois experimentos com a solução nutritiva proposta por Polle et al. UFRGS 2002

Dose (ppm)	Experimento 4		Experimento 5	
	Recrescimento (cm)		Recrescimento (cm)	
15	2.18	a	1.14	a
20	1.98	a	1.07	a
Médias	2.08 ± 0.27		1.10 ± 0.14	
CV (%)	13.2		12.4	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%.

Com os resultados positivos para a solução nutritiva proposta por Polle et al. 1978, foi avaliado o comportamento dos genótipos em diferentes concentrações de nutrientes e pH, no experimento 6.

TABELA 11. Efeitos da interação entre genótipos, concentração de sais da solução nutritiva e pH, no recrescimento médio da raiz principal de genótipos de aveia, em solução nutritiva proposta por Polle et al. UFRGS, 2002

Genótipos	Concentração	pH	Recrescimento (cm)	
UPF 91AI100-1-4	50	4.0	3.89	a
UPF 91AI100-1-4	100	4.0	3.86	a
UFRGS 17	100	4.0	2.61	b
UFRGS 17	100	5.0	2.51	b
UPF 91AI100-1-4	50	5.0	2.32	b c
UFRGS 17	50	4.0	2.13	c
UFRGS 17	50	5.0	1.69	d
UFRGS 16	50	5.0	1.29	e
UFRGS 16	50	4.0	1.22	e f
UFRGS 16	100	5.0	1.21	e f
UFRGS 16	100	4.0	1.07	e f
UFRGS 93598-6	50	4.0	0.98	e f g
UPF 91AI100-1-4	100	5.0	0.85	f g h
UFRGS 93598-6	100	4.0	0.71	g h
UFRGS 93598-6	100	5.0	0.57	h i
UFRGS 93598-6	50	5.0	0.24	i
Médias			1.67	
CV (%)			21.4	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%.

A interação entre pH e dose da solução nutritiva foi significativa e de modo geral, os genótipos UPF 91AI100-1-4 e UFRGS 17, apresentaram maior recrescimento que os demais em ambas concentrações e pH testados. Apenas na concentração 100% da solução nutritiva e pH 5.0 para UPF 91AI100-1-4 apresentou um recrescimento menor. Por outro lado, o genótipo UFRGS 16 apresentou um recrescimento intermediário e UFRGS 93598 um recrescimento menor (Tabela 11).

O efeito simples da concentração de solução nutritiva demonstrou não haver diferença significativa entre uma concentração de 50% e 100% dos sais que compõem esta solução. Já quando o pH foi elevado de 4.0 para 5.0 houve uma diminuição significativa do recrescimento radicular (Tabela 12).

TABELA 12. Efeitos individuais do pH (4.0 e 5.0) e da concentração de nutrientes da solução nutritiva (50 e 100%), no recrescimento médio da raiz principal de genótipos de aveia, na solução nutritiva proposta por Polle et al. UFRGS, 2002

Concentrações (%)	Recrescimento (cm)		pH	Recrescimento (cm)	
50	1.73	a	4.0	2.01	a
100	1.59	a	5.0	1.27	b
Média	1.67±0.36				
CV (%)	21.39				

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%.

A terceira solução utilizada, para avaliação da tolerância ao alumínio tóxico, proposta por Rhue & Grogan (1976), na qual somente CaCl_2 é fornecido como nutriente das plântulas e a fonte de alumínio o AlCl_3 , foi avaliada, no experimento 7 (Tabela 13).

TABELA 13. Avaliação do efeito principal, genótipos e doses de alumínio (10, 15 e 20 ppm), e da interação destes fatores no recrescimento da raiz principal de genótipos de aveia, na solução nutritiva proposta por Rhue & Grogan. UFRGS, 2002

Genótipos	Doses Al (ppm)						Médias	
	10		15		20			
UPF 91Al100-1-4	1.51	a	1.36	a b	1.21	b c	1.36	a
UFRGS911715	1.21	b c	1.17	c	0.91	d	1.10	b
UFRGS911740	0.63	e f g	0.68	e	0.69	e	0.66	c
UFRGS16	0.65	e f	0.48	g	0.62	e f g	0.58	c d
UFRGS17	0.45	h i j	0.56	e f g h	0.36	i j	0.45	d e
UFRGS15	0.42	h i j	0.37	i j	0.49	f g h i	0.43	d e
UFRGS93605	0.38	i j	0.34	i j	0.30	j	0.34	e
UFRGS93598-6	0.34	i j	0.34	i j	0.29	j	0.32	e
Médias	0.70	A	0.66	A	0.61	A		
CV (%)	12.96							

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas na fila, não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%.

Para o genótipo UFRGS 17 a resposta não foi a mesma que a observada para as soluções nutritivas anteriormente empregadas, tendo uma reação de sensibilidade. Os demais genótipos responderam de forma muito próxima ao observado nas soluções anteriores. O recrescimento, no entanto, foi bem menor que nas outras soluções empregadas, fazendo com que erros de medição do recrescimento possam ser mais importantes na análise dos dados. Na comparação das doses de alumínio não houve diferença significativa entre 10, 15 e 20 ppm de Al, indicando a possibilidade de se utilizar doses mais baixas de Al para comparação da tolerância.

No experimento oito foram comparados os genótipos parentais na dose de 20 ppm de alumínio, na solução nutritiva proposta por Rhue & Grogan (Tabela 14). O genótipo UPF 91Al100-1-4 apresentou um recrescimento médio bem superior aos demais que se comportaram como

sensíveis. O genótipo UFRGS 17 apresentou um recrescimento da raiz principal similar aos genótipos sensíveis indicando que a solução influenciou na resposta deste genótipo quanto à tolerância, e neste caso não foi eficiente na discriminação dos genótipos quanto à tolerância ao alumínio.

TABELA 14. Efeito da dose de 20 ppm de alumínio, sobre o recrescimento da raiz principal de oito genótipos de aveia, na solução nutritiva proposta por Rhue & Grogan. UFRGS, 2002

Genótipos	Recrescimento (cm)	
UPF 91AI100-1-4	3.34	a
UFRGS 911715	0.73	b
UFRGS 15	0.59	b c
UFRGS 16	0.46	b c
UFRGS 93598-6	0.42	c
UFRGS 911740	0.36	c
UFRGS 93605	0.33	c
UFRGS 17	0.31	c
Médias	0.74 ± 0.97	
CV (%)	24.59	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%.

No experimento nove foram comparados os genótipos nas diferentes soluções com 20 ppm de alumínio em pH 4,0 (Tabela 15). A interação entre genótipos e solução nutritiva não foi significativa, deste modo foram analisados os fatores principais (genótipos e solução nutritiva) separadamente.

TABELA 15. Avaliação do efeito dos genótipos e soluções nutritivas no recrescimento da raiz principal de genótipos da aveia na dose de 20ppm de alumínio. UFRGS 2002

Genótipos	Solução Nutritiva			Médias		
	Camargo & Oliveira	Polle et al.	Rhue & Grogan			
UPF 91AI100-1-4	2.13	2.09	0.78	1.67	a	
UFRGS 17	1.87	1.70	0.47	1.35	a b	
UFRGS 911715	1.35	1.22	0.23	1.10	a b c	
UFRGS 911740	1.37	1.58	0.36	0.93	b c	
UFRGS 16	0.97	1.04	0.30	0.77	b c	
UFRGS 93605	0.87	0.87	0.19	0.64	c	
UFRGS 93598-6	0.45	0.56	0.26	0.42	c	
Média	1.28	A	1.29	A	0.37	B
CV (%)	52.78					

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e minúscula na fila, não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%.

A solução, contendo somente o cálcio (Rhue e Grogan, 1976), com dose de 20ppm de alumínio foi inferior as demais (Tabela 15) e o genótipo UPF 91AI100-1-4 não teve a mesma resposta que nos dois experimentos anteriores, onde foi tolerante. A interação entre fontes e genótipos não foi significativa, indicando que o efeito dos fatores principais fontes e genótipos, neste caso, foram mais importantes.

Os genótipos UPF 91AI100-1-4 e UFRGS 17 foram os mais tolerantes, e UFRGS 93605 e UFRGS 93598-6 os mais sensíveis. A precisão do experimento foi baixa (52,78%) devido ao fato de terem sido avaliadas duas repetições de cada solução nutritiva, pela falta de espaço físico para a comparação das diferentes soluções ao mesmo tempo.

A solução de Camargo & Oliveira (1991) foi eficiente para discriminar os genótipos quanto a tolerância ao alumínio tóxico, entretanto, a precisão dos resultados foi menor que as demais soluções. Esta menor precisão pode ser causada pela fonte de Al que neste caso foi sulfato de Al. Pequenas mudanças no pH da solução podem provocar precipitação do Al

diminuindo a sua disponibilidade para as plantas provocando variações significativas.

Para a solução de Rhue & Grogan (1976) houve variação na resposta dos genótipos quanto a tolerância ao Al. Outro fator a ser considerado é que o recrescimento observado foi bem menor que os demais métodos. Este menor recrescimento pode ser provocado pela menor disponibilidade de nutrientes já que apenas cálcio é fornecido na solução para as plantas, para manter o pH mais estável, acelerar a elongação radicular e conseqüentemente, aumentar a absorção do Al. Apenas os nutrientes da reserva das semente das plântulas não foram suficientes para promover um bom desenvolvimento radicular. Este menor recrescimento faz com que pequenos erros de medida do recrescimento possam provocar aumento do erro experimental e por conseqüência maior variação nos resultados obtidos.

Já para a solução de Polle et al. (1978) os resultados foram mais consistentes e a precisão dos resultados obtidos foi maior do que para as outras soluções. A fonte de alumínio para esta solução é o cloreto de Al que apresenta uma maior estabilidade que o sulfato de alumínio. Provavelmente, mudanças de pH da solução afetaram menos a disponibilidade do Al na solução fazendo com que a variação fosse menor.

A análise do recrescimento da raiz principal de plântulas de aveia em solução nutritiva, mostrou ser uma forma eficiente na diferenciação de genótipos de aveia tolerantes e sensíveis. O emprego de solução nutritiva na discriminação de genótipos tolerantes e sensíveis ao alumínio tóxico têm sido eficiente na cultura da aveia, (Floss, 1992; Sánchez-Chacón, et al., 2000; Wagner et al., 2001; Gotuzzo et al., 2001; Oliveira, 2002), e em outras

gramíneas tais como, trigo (Camargo & Oliveira, 1981; Camargo, 1984a; Dornelles et al., 1996), sorgo (Baligar et al., 1995); milho (Rhue e Grogan apud Prioli et al. (1985); Lopes et al., 1987; Mazzocato, 2000), cevada (Minella, 1989; Echart, 2001) e arroz (Howeler & Cadavid, 1976). Desta forma, foram avaliadas milhares de plantas em um curto período, evidenciando a vantagem da solução nutritiva em relação à avaliação em solo ácido. Esta vantagem é citada por vários autores em diferentes culturas (Kerridge et al., 1971; Camargo et al., 1984a; Camargo et al., 1990; Li et al., 2000b; Souza, 2001).

Para a determinação dos parâmetros genéticos utilizou-se a solução proposta por Polle (1978) adaptado por Oliveira et al. (2002), para avaliação da tolerância ao alumínio tóxico em aveia, pela maior consistência dos resultados obtidos.

4.2. Análise Genética

4.2.1. Distribuição de freqüência

A determinação do número de genes envolvidos na tolerância ao alumínio tóxico, foi analisada, para 16 cruzamentos, através da distribuição de freqüência do recrescimento radicular, nas gerações obtidas nos cruzamento envolvendo genótipos tolerantes, intermediários e sensíveis. Para alguns cruzamentos não foi possível diferenciar os genótipos quanto à tolerância porque o recrescimento observado foi muito pequeno ou um dos genitores apresentou recrescimento variável (UFRGS 911740), não permitindo assim a separação de genótipos tolerantes e sensíveis (Apêndices 1, 2, 3, 4 e 5).

A amplitude de distribuição do recrescimento da raiz principal, variou de cruzamento para cruzamento fazendo com que o número de classes por cruzamento fossem diferentes. No entanto, os intervalos de classes foram de 0,2 cm para todos os cruzamentos.

Uma maior precisão foi obtida quando foi utilizado um maior número de plantas na avaliação do recrescimento radicular, como nos cruzamentos UFRGS 17 x UFRGS 911715, UFRGS 17 x UFRGS 93598-6, , UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6, UFRGS 17 x UPF 91AI100-1-4 e UFRGS 911715 x UFRGS 93598-6 (Tabelas 17, 18, 19, 20, 21 e 22).

O recrescimento da raiz principal apresentou valores distintos entre os genótipos estudados. O genótipo sensível (UFRGS 93598-6) apresentou uma amplitude de 0.1 a 1.6 cm, o genótipo intermediário (UFRGS 911715) 0.2 a 1.9 cm e os genótipos tolerantes (UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4) um recrescimento de 1.6 a 3.4 cm.

Os limites de classificação das plântulas tolerantes e sensíveis para cada geração e cruzamento, quanto à resposta a toxicidade do alumínio, são apresentados na Tabela 16. Este limite diferiu nos cruzamentos entre UFRGS 911715 x UFRGS 93598-6 e UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6 (geração RC_1F_1), no entanto, a amplitude de variação dos genótipos parentais foi utilizada como definidor destes limites.

TABELA 16. Limites de recrescimento das raízes de plântulas por cruzamento, para a classificação das plântulas de aveia, quanto à toxicidade do alumínio. UFRGS, 2002

Cruzamentos	Recrescimento radicular em cm							
	Geração F_2		Geração F_5		Geração RC_1F_1		Geração RC_2F_1	
	Sensível	Tolerante	Sensível	Tolerante	Sensível	Tolerante	Sensível	Tolerante

UFRGS 17	x	< 1.4	> 1.4	< 1.4	> 1.4		
UFRGS 911715							
UFRGS 17	x	< 1.4	> 1.4	< 1.4	> 1.4	< 1.4	> 1.4
UFRGS 93598-6							
UFRGS 911715	x	< 0.7	> 0.7			< 0.7	> 0.7
UFRGS 93598-6							
UPF 91AI100-1-4	x	< 1.4	> 1.4			< 1.4	> 1.4
x UFRGS 911715							
UPF 91AI100-1-4	x	< 1.4	> 1.4			< 1.2	> 1.2
x UFRGS 93598-6						< 1.4	> 1.4

No cruzamento entre UFRGS 17 x UFRGS 911715 os genitores foram contrastantes quanto ao recrescimento da raiz principal tendo um limite de recrescimento entre 1.6 e 1.8 cm, indicando diversidade fenotípica. Nas gerações segregantes F_2 e F_5 uma distribuição bimodal é observada no limite entre 1.4 e 1.6 cm de recrescimento. O teste de χ^2 para a hipótese da diferença de um gene entre estes genitores, para o caráter, foi aceita em todas as gerações testadas (Tabela 17). As proporções observadas de uma planta sensível para três tolerantes na geração F_2 e 30 plantas sensíveis para 34 tolerantes na geração F_5 indicam a ação de dominância no sentido da tolerância ao alumínio tóxico.

As gerações F_1 e RC_1F_1 apresentaram uma segregação próxima à do pai tolerante, confirmando a ação de dominância no sentido da tolerância para o cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 911715 e a segregação de apenas um gene.

No cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 93598 (Tabela 18), novamente os genitores foram contrastantes com um limite de recrescimento entre 1.4 e 1.6 cm. Na geração F_2 a segregação um planta sensível para três plantas tolerantes não foi confirmada pelo teste χ^2 . A maioria das plantas apresentou um recrescimento muito próximo a 1.4 e 1.6 cm dificultando a

determinação do limite de classificação. Se o limite fosse deslocado para 1.2 cm a relação 1:3 seria satisfeita ($p > 0.30$). No entanto, foi respeitado o limite de recrescimento obtido pelos genitores.

Foram avaliadas para este cruzamento as gerações F_4 e F_5 e a segregação esperada de 7 plantas sensíveis para 9 plantas tolerantes na geração F_4 e na geração F_5 a segregação 34 plantas tolerantes para trinta plantas sensíveis demonstram a existência de um gene de tolerância ao alumínio no genótipo UFRGS 17, com ação de dominância no sentido da tolerância em gerações avançadas.

No cruzamento UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 911715, os genitores apresentaram recrescimento contrastante com um limite entre 1.6 e 1.8 cm. Nas gerações F_2 e RC_1F_1 foi testada a hipótese de um gene de diferença, tendo sido aceita (Tabela 19) Estes resultados revelam que a UPF 91AI100-1-4 tem um gene de tolerância ao alumínio tóxico diferente da UFRGS 911715 como já havia ocorrido com a UFRGS 17.

Em outro cruzamento UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6 (Tabela 20) os genitores apresentaram um recrescimento contrastante com um limite máximo de 1.2 cm para o genitor sensível e mínimo de 1.6 cm para o genitor tolerante. O teste de χ^2 para a hipótese da diferença de um gene entre estes genitores, para o caráter, foi aceita em todas as gerações testadas (F_2 , RC_1F_1 e RC_1F_2). Estes resultados novamente revelam que a UPF 91AI100-1-4 apresenta um gene de tolerância ao alumínio tóxico diferente da UFRGS 93598-6, também observado para a UFRGS 17.

No cruzamento entre os dois genitores tolerantes UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4 (Tabela 21), o comportamento nas gerações parentais, F_1 e

RC₂F₁, foi muito semelhante, indicando não haver gene segregando entre os dois genitores, para o caráter em estudo, e que o gene de tolerância presente nestes dois genótipos é o mesmo ou é muito similar. No entanto, na geração F₂ observa-se algumas plantas com um recrescimento menor que os pais indicando a possibilidade de genes com efeito menor estarem atuando ou uma segregação transgressiva para a característica.

No cruzamento entre UFRGS 93598-6 x UFRGS 911715 os genitores apresentaram recrescimento contrastante, tendo uma sobreposição entre 0.9 e 1.1 cm (Tabela 22). Na geração F₂ a segregação de uma plântula sensível para 3 tolerantes novamente está presente, somente o limite de classificação quanto à tolerância foi menor (entre 0.7 e 0.9), devido provavelmente, a menor expressividade do gene de tolerância ao alumínio presente na UFRGS 911715. Na geração RC₁F₂ a segregação esperada seria um gene de tolerância para um gene de sensibilidade, no entanto, as plântulas se comportaram como o pai sensível.

TABELA 17. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 911715 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002

Gerações	UFRGS 17 x UFRGS 911715																	Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	Recrescimento (cm)																				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4	2.6	2.8	3	3.2	3.4				
P ₁								6	21	27	25	18	7	7	6			117	2.32	0.334	0.1113
P ₂			1	12	19	61	54	40	1									188	1.25	0.23	0.0527
F ₁							1	2	3	2	6	6	4		2			26	2.18	0.392	0.1538
F ₂				4	16	44	47	25	36	71	75	61	25	10	5	7	4	430	1.90	0.536	0.2869
RC ₁ F ₁										1	2	1	4	6	6	4	1	25	2.76	0.342	0.1167
F ₅		5	9	18	22	26	19	5	24	30	17	6	2					183	1.43	0.54	0.2950

	Número de Plantas Observadas		Total	Proporção Esperada	Valor de χ^2	Probabilidade (P)*
	Sensível	Tolerante				
F ₂	111	319	430	1:3	0.15	0.70
RC ₁ F ₁	0	26	26	0:1	0.00	1.00
F ₅	99	84	183	30:34	3.70	0.10 - 0.05

* P > 0.05

TABELA 18. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 93598-6 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002

Gerações	UFRGS 17 x UFRGS 93598-6																	Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	Recrescimento (cm)																				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4	2.6	2.8	3	3.2	3.4				
P ₁								1	6	17	27	27	19	8	4	3		112	2.31	0.329	0.1086
P ₂	22	65	17	22	28	16	5	3										178	0.60	0.358	0.1279
F ₁							1	2			3	3	3					12	2.13	0.44	0.1933
F ₂	1	14	19	18	34	38	31	32	59	47	47	46	35	22	16	5	3	467	1.76	0.704	0.4956
F ₄	1	1	5	9	18	23	25	9	14	15	18	18	13	4	2	1		176	1.64	0.631	0.3979
F ₅		6	9	9	17	23	11	10	17	22	14	16	10	6	3	2		175	1.61	0.682	0.4649

	Número de Plantas Observadas		Total	Proporção Esperada	Valor de χ^2	Probabilidade (P) *
	Sensível	Tolerante				
F ₂	155	312	467	1:3	16.47	< 0.01
F ₄	82	94	176	7:9	0.57	0.50 - 0.30
F ₅	75	100	175	30:34	1.13	0.20 - 0.30

* P > 0.05

TABELA 19. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento entre os genótipos UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 911715 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002

Gerações	UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 911715																	Total	Média	Desvio	
	Recrescimento (cm)																Padrão			Variância	
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4	2.6	2.8	3	3.2					3.4
P ₁								1	7	13	18	14	11	3	1	1	69	2.42	0.315	0.0992	
P ₂	1			3	12	15	11	11	3								56	1.22	0.290	0.0843	
F ₁							5	13	21	14	8	5	0	3			69	1.85	0.315	0.0995	
F ₂				10	12	34	30	19	39	59	46	38	15	5	5	3	1	316	1.84	0.525	0.2751
RC ₁ F ₁							2		4	3	5	4	1	2	2		23	2.38	0.452	0.2045	

	Número de Plantas Observadas		Total	Proporção Esperada	Valor de χ^2	Probabilidade (P) *
	Sensível	Tolerante				
F ₂	86	230	316	1:3	0.83	0.50 - 0.30
RC ₁ F ₁	0	23	23	0:1	0.00	1.00

* P > 0.05

TABELA 20. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento entre os genótipos UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002

Gerações	UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6																	Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	Recrescimento (cm)																				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4	2.6	2.8	3	3.2	3.4				
P ₁							1	15	12	9	5	2			1		2	47	2.06	0.389	0.151
P ₂	4	18	11	12	8	1												54	0.56	0.264	0.0699
F ₁							12	8	7	1				1				29	1.76	0.258	0.0668
F ₂		9	12	11	12	17	21	16	56	41	29	20	7	14	4	4		273	1.72	0.6341	0.4021
RC ₁ F ₁							5	9	6		2			1				23	1.66	0.3245	0.1053
RC ₂ F ₁				3	1	1	2	3	5	2								17	1.42	0.4019	0.1615

	Número de Plantas Observadas		Total	Proporção Esperada	Valor de χ^2	Probabilidade (P) *
	Sensível	Tolerante				
F ₂	82	191	273	1:3	3.8	0.10 – 0.05
RC ₁ F ₁	0	23	23	0:1	0.00	1.00
RC ₂ F ₁	7	10	17	1:1	0.52	0.50 – 0.30

* P > 0.05

TABELA 21. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento UFRGS 17 x UPF 91AI100-1-4. UFRGS, 2002

Gerações	UFRGS 17 x UPF 91AI100-1-4																	Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	Recrescimento (cm)																				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4	2.6	2.8	3	3.2	3.4				
P ₁								2	16	22	19	16	12	12	5		1	105	2.23	0.378	0.1427
P ₂									3	14	16	8	18	8	9	3	1	80	2.43	0.392	0.1534
F ₁									3	8	7	8	3	1	1			31	2.21	0.276	0.076
F ₂					1	6	6	40	58	80	66	44	23	14	6	3		347	2.23	0.381	0.1448
RC ₂ F ₁								12	11	20	18	9	11	9	4	1		95	2.35	0.410	0.1684

TABELA 22. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal de plântulas de diferentes gerações, para o cruzamento entre os genótipos UFRGS 93598-6 x UFRGS 911715 e avaliação da segregação pelo teste χ^2 . UFRGS, 2002

UFRGS 93598-6 x UFRGS 911715															
Gerações	Recrescimento (cm)											Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	0.3	0.5	0.7	0.9	1.1	1.3	1.5	1.7	1.9	2.1	2.3				
P ₁	30	8	6	1	3							48	0.41	0.2139	0.0458
P ₂				6	5	8	11	4	5			39	1.33	0.2966	0.0880
F ₁				9	6	7	4	3	2			31	1.23	0.3207	0.1029
F ₂	11	15	23	29	35	18	17	19	15	7	1	190	1.11	0.4784	0.2289
RC ₁ F ₁	10	6	4	3								23	0.47	0.205	0.0420

	Número de Plantas Observadas		Total	Proporção Esperada	Valor de χ^2	Probabilidade (P)*
	Sensível	Tolerante				
F ₂	49	141	190	1:3	0.027	0.90 - 0.80
RC ₁ F ₁	20	3	23	1:1	12.56	< 0.01

* P > 0.05

Na análise conjunta de todos os cruzamentos foi aceita a hipótese de um gene de diferença entre os genitores tolerantes e sensíveis ao alumínio tóxico no solo. A segregação de três plantas tolerantes para uma planta sensível na geração F_2 indica o efeito de dominância nos cruzamentos avaliados. Nas gerações F_4 e F_5 a segregação observada também indica a presença de um gene de tolerância nas gerações mais avançadas.

Genitores	Recrescimento em cm	Genótipos	Diferença
UFRGS 17 UPF 91AI100-1-4	> 1.4	A_2A_2	1 gene
UFRGS 911715	> 0.7 e ≤ 1.4	A_1A_1	
UFRGS 93598-6	> 0.7	aa	

FIGURA 1. Esquema dos genitores quanto ao recrescimento da raiz principal, genótipos e número de genes segregando para a tolerância ao alumínio em aveia. UFRGS, 2002

A Figura 1 sintetiza a hipótese de um gene para tolerância com dois alelos tolerantes (A_1 e A_2) e um sensível (a) para os cruzamentos estudados. Os genitores UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4 não diferiram quanto à tolerância em nenhuma das gerações avaliadas sendo proposto o genótipo A_2A_2 . Estes genitores cruzados com UFRGS 911715 apresentaram um gene de diferença, no entanto, quando UFRGS 911715 foi cruzado com UFRGS 93598-6 apresentou também um gene de diferença e o genótipo proposto foi A_1A_1 . Provavelmente os alelos para tolerância presentes na UFRGS 911715

sejam diferentes, em termos de expressão, dos alelos A_2A_2 presentes nos genótipos tolerantes UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4.

Nos cruzamentos entre o genitor sensível UFRGS 93598-6 e os genitores tolerantes UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4, novamente houve a diferença de um gene e o genótipo proposto para UFRGS 93598-6 foi aa.

Estes resultados indicam que existe um gene de tolerância ao alumínio tóxico nos genótipos UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4, confirmando resultados anteriores para avaliação de genótipos de aveia obtidos por Sánchez-Chacón (1998). Já a ocorrência de alelos múltiplos também foi observada por Wagner (1998).

O limite de classificação obtido (1,4 cm) demonstra que a solução nutritiva utilizada (Polle et al., 1978) foi mais eficiente na discriminação dos genótipos quanto à tolerância ao alumínio tóxico do que em trabalhos anteriores (1,1cm) Sánchez-Chacón (2001) e (0,8 cm) Wagner (1999). Isto se deve ao fato de valores menores provocarem maiores erros na separação de genótipos tolerantes e sensíveis.

A avaliação de gerações mais avançadas (F_4 e F_5) permitiu também que as conclusões quanto ao número de genes envolvidos na tolerância ao alumínio fossem mais precisas. Na geração F_2 pode haver sobreposições de valores devido aos genótipos heterozigotos presentes nesta geração que estarão em bem menor número nas gerações mais avançadas, facilitando a discriminação dos genótipos quanto ao caráter.

Outros trabalhos indicam que um a dois genes são responsáveis pela tolerância em trigo (Camargo, 1984a; Lagos et al., 1991; Camargo et al., 1992; Riede e Anderson 1996; Johnson Junior et al., 1997) e cevada (Tang et al., 2000) e devido a sintonia existente entre estas culturas e a aveia é

possível que os genes de tolerância ao alumínio apresentem alto grau homologia.

4.2.2. Média de gerações

No teste de média de gerações foram avaliados oito cruzamentos, e o modelo com três parâmetros, aditivo-dominante, foi suficiente para explicar os efeitos genéticos presentes nas populações estudadas, indicando que os efeitos epistáticos não foram importantes para o caráter recrescimento da raiz principal nestes cruzamentos (Tabela 16).

A média foi estatisticamente significativa em todos os cruzamentos. A aditividade foi importante na maioria dos cruzamentos, apenas nos cruzamentos UFRGS 17 x UPF 91AI100-1-4, UFRGS 15 x UFRGS 911740 e UFRGS 15 x UFRGS 93598-6, cruzamentos que não foram contrastantes para o recrescimento radicular, não foi significativa. Os cruzamentos UFRGS 15 x UFRGS 93598-6, UFRGS 15 x UFRGS 911740 foram considerados contrastantes em trabalho anterior (Wagner et al., 1999), fato não observado no presente estudo (Apêndice 3). Já a dominância foi significativa nos cruzamentos UFRGS 17 x UFRGS 93598-6, UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6 e UFRGS 911715 x UFRGS 93598-6.

TABELA 23. Médias das gerações P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1F_1 e RC_2F_1 , número de plântulas avaliadas em cada geração (entre parênteses), valores dos efeitos gênicos, do teste de Qui-quadrado (χ^2) e coeficiente de variação, para o caráter recrescimento radicular obtidos para oito cruzamentos de aveia. UFRGS, 2002

Gerações ou Parâmetros	UFRGS17 x UFRGS911715	UFRGS17 x UFRGS93598-6	UFRGS17 x UPF 91AI100-1-4	UFRGS911715 x UFRGS93598-6
P_1	2.76±0.24 (20)	2.47±0.29 (31)	2.56±0.32 (26)	1.33±0.30 (40)
P_2	1.31±0.31 (17)	0.45±0.23 (28)	2.58±0.48 (28)	0.41±0.21 (49)
F_1	2.16±0.42 (26)	2.13±0.44 (12)	2.77±0.29 (22)	1.23±0.32 (34)
F_2	2.07±0.61 (127)	1.75±0.65 (157)	2.43±0.41 (102)	1.11±0.48 (190)
RC_1F_1	2.74±0.34 (25)			
RC_2F_1				
m	2.06**±0.09	1.46**±0.01	2.52**±0.14	0.87**±0.02
[a]	0.75**±0.10	1.01**±0.01	0.01±0.15	0.46**±0.02
[d]	0.24±0.22	0.66*±0.03	0.20±0.21	0.36*±0.04
GL	2	1	1	1
χ^2	0.5249	0.0053	0.2703	0.0136
P	0.77	0.94	0.59	0.91
CV	22.2	5.2	19.9	13.7

GL = graus de liberdade

* significativo ao nível de 5% para o teste t.

P= probabilidade pelo teste Qui-quadrado (> 5%)

**significativo ao nível de 1% para o teste t.

TABELA 23. Continuação.

Gerações ou Parâmetros	UPF 91Al100-1-4 x UFRGS911715	UPF 91Al100-1-4 x UFRGS93598-6	UFRGS15 x UFRGS93598-6	UFRGS15 x UFRGS911740
P ₁	2.56±0.34 (27)	1.94±0.21 (39)	0.40±0.24 (31)	0.51±0.28 (29)
P ₂	1.18±0.38 (26)	0.55±0.28 (44)	0.51±0.23 (28)	1.37±0.44 (29)
F ₁	1.84±0.32 (69)	1.76±0.26 (29)	0.33±0.19 (12)	1.14±0.44 (20)
F ₂	1.93±0.56 (135)	1.56±0.53 (191)	0.45±0.23 (157)	1.21±0.46 (146)
RC ₁ F ₁	2.38±0.45 (23)	1.66±0.32 (23)		
RC ₂ F ₁		1.42±0.40 (17)		
M	1.89**±0.06	1.25**±0.08	0.47*±0.04	0.96*±0.08
[a]	0.71**±0.06	0.65**±0.08	-0.05±0.04	-0.44±0.08
[d]	-0.008±0.10	0.50*±0.15	-0.12±0.06	0.23±0.16
G.L.	2	3	1	1
χ ²	0.1278	0.7139	0.052	0.1067
P	0.94	0.87	0.82	0.74
CV	12.8	31.7	55.3	36.4

GL = graus de liberdade

* significativo ao nível de 5% para o teste t.

P= probabilidade pelo teste Qui- quadrado (> 5%)

**significativo ao nível de 1% para o teste t.

A aditividade apresentou sempre valores maiores que a dominância salientando a importância deste efeito gênico. A significância do modelo com três parâmetros indica que o(s) gene(s) que controla(m) a expressão do caráter atua(m) de forma independente.

A menor magnitude dos efeitos de dominância em todos os cruzamentos analisados não deve ser encarada como um sinal de ausência de dominância, pois a presença da mesma já foi evidenciada na análise de distribuição de frequências. O que pode estar ocorrendo neste caso é que genes de menor efeito que aumentam ou diminuem o caráter estão presentes em ambos os genitores, fazendo com que estes efeitos sejam diminuídos ou anulados.

Os resultados referentes à tolerância a toxicidade do alumínio na cultura da aveia têm indicado que o modelo, com apenas três parâmetros, não é suficiente para explicar a variância genética obtida (Wagner, 1999; Sánchez-Chacón, 1998). Entretanto, neste estudo, o número maior de plântulas e a maior uniformidade do tamanho inicial das raízes das plântulas avaliadas em solução nutritiva, podem ter contribuído para uma melhor estimativa dos efeitos atuantes nas populações estudadas e o modelo com três parâmetros fosse aceito.

4.2.3 Variâncias e herdabilidade

As estimativas das variâncias demonstram que a variância genética foi superior a variância ambiental para a maioria dos cruzamentos, apenas, nos cruzamentos não contrastantes para o caráter, UFRGS 17 x UPF 91AI100-1-4, UFRGS 15 x UFRGS 911740 e UFRGS 15 x UFRGS 93598 a

variância genética foi menor (Tabela 24). Desta forma, os valores de herdabilidade no sentido amplo foram altos para maioria dos cruzamentos.

A variância genética foi decomposta em variância aditiva (0,29) e de dominância (0,06) apenas no cruzamento UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6, por ser o único cruzamento em que foram obtidos os dois retrocruzamentos. Neste cruzamento houve uma superestimativa do valor da variância aditiva provocando uma estimativa da herdabilidade no sentido restrito maior que a unidade (1,04). Estimativas de herdabilidade superiores a unidade tem sido comuns na literatura (Carvalho et. Al., 2002). Esta estimativa, acima da unidade, da variância aditiva pode ser devido à forma de cálculo desta variância, na qual, a variância da geração F_2 é multiplicada por dois, podendo levar a uma superestimação da variância desta geração ou uma subestimação da variância dos retrocruzamentos aumentando a variância aditiva e a herdabilidade no sentido restrito. Outro fator que pode ter contribuído foi o número pequeno de plantas obtidas para as gerações de retrocruzamento.

TABELA 24. Valores da variância fenotípica (V_P), variância do ambiente (V_E), variância genética (V_G) e herdabilidade no sentido amplo (h_a) para o recrescimento da raiz principal em oito populações de aveia. UFRGS 2002

Cruzamentos	V_P	V_E	V_G	h_a
UFRGS 17 x UFRGS 911715	0.37	0.10	0,27	0.72
UFRGS 17 x UFRGS 93598-6	0.37	0.11	0.26	0.71
UFRGS 17 x UPF 91AI100-1-4	0.17	0.14	0.03	0.17
UFRGS 911715 x UFRGS 93598-6	0.23	0.08	0.15	0.66
UFRGS 911715 x UPF 91AI100-1-4	0.32	0.12	0.20	0.62
UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6	0.28	0.06	0.22	0.77
UFRGS 15 x UFRGS 93598-6	0.05	0.05	0.01	0.09
UFRGS 15 x UFRGS 911740	0.20	0.16	0.03	0.17

Análise dialélica realizada para os cruzamentos entre os genótipos, tolerantes UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4 um intermediário UFRGS 911715 e um sensível UFRGS 93598 (Tabela 25), demonstra que os genótipos diferem entre si com relação à capacidade geral de combinação (CGC) e que os híbridos destes cruzamentos também apresentaram capacidade específica de combinação (CEC) distintas. A significância da CGC e CEC indica a existência de variância gênica aditiva e não aditiva entre os genótipos estudados para o caráter.

Entretanto, os valores da CGC foram bastante superiores aos da CEC, evidenciando que a ação gênica de aditividade foi mais importante que a ação gênica de dominância para os genótipos avaliados, confirmando os resultados obtidos pela análise de média de gerações.

TABELA 25. Análise da variância para capacidade geral e específica de combinação na análise dialélica de quatro genitores e nove cruzamentos. UFRGS, 2002

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrados Médios	F
Trat	9	330,6	36,7	317,9**
CGC	3	315,9	105,3	910,8**
CEC	6	14,8	2,5	21,3**
Resíduo	678	78,4	0,12	
Total	687			

As médias dos genitores e híbridos F_1 para o recrescimento radicular podem ser visualizadas na Tabela 26. O maior recrescimento foi observado para UFRGS 17 que não diferiu do genótipo UPF 91AI100-1-4 e nem do híbrido UFRGS 17 x UFRGS 911715. O menor valor de

recrescimento foi obtido pelo genótipo UFRGS 93598-6 que diferiu dos demais.

TABELA 26. Médias de recrescimento radicular da raiz principal, de plântulas de aveia tratadas com 20ppm de alumínio, de quatro genótipos e seus híbridos F₁. UFRGS, 2002

PAIS	UFRGS 17	UFRGS 911715	UFRGS 93598-6	UPF 91AI100-1-4
UFRGS 17	2,34 a	2,16 a b c	2,13 b c	2,03 c
UFRGS 911715		1,28 e	1,23 e	1,85 d
UFRGS 93598-6			0,46 f	1,70 d
UPF 91AI100-1-4				2,27a b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan a um nível de significância de 5%.

Os valores de recrescimento radicular das gerações F₁ sempre foram superiores ao pai com menor recrescimento e se aproximaram do pai com maior recrescimento indicando a presença de dominância no sentido da tolerância. Nos cruzamentos envolvendo o genótipo UFRGS 17 com o intermediário e sensível, as médias das F₁ foram superiores aos cruzamentos envolvendo a UPF 19AI100-1-4. Estes resultados indicam que existem pequenas diferenças entre o genótipo UFRGS 17 e o genótipo UPF 91AI100-1-4 apesar de apresentarem o mesmo gene para tolerância.

Os valores negativos da CEC indicam a tendência que os cruzamentos não contrastantes tiveram no sentido da sensibilidade ao alumínio tóxico. Já os cruzamentos contrastantes apresentaram valores positivos indicando haver dominância na direção da tolerância ao alumínio tóxico nestes cruzamentos.

A capacidade geral de combinação teve valores positivos para os genótipos tolerantes UFRGS17 e UPF 91AI100-1-4 e negativos para os genótipos intermediário UFRGS 911715 e sensível UFRGS 93598-6. Deste

modo, a aditividade foi um fator significativo nestes cruzamentos indicando que a UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4 podem ser utilizadas como fontes de tolerância ao alumínio (Tabela 27).

Por outro lado, as combinações específicas entre os genótipos UFRGS 17 x UFRGS 93598-6, UFRGS 17 x UFRGS 911715, UPF 91AI100-1-4 x UFRGS 93598-6, UFRGS 911715 x UFRGS 93598, que apresentaram valores positivos para tolerância ao alumínio tóxico, podem ser utilizadas para obtenção de genótipos tolerantes.

TABELA 27. Efeitos da capacidade geral (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) de quatro genótipos de aveia e seus híbridos F_1 para recrescimento da raiz principal. UFRGS, 2002

PAIS	UFRGS 17	UFRGS 911715	UFRGS 93598-6	UPF 91AI100-1-4	CGC
UFRGS 17	-0,033	0,286	0,670	-0,298	0.319
UFRGS 911715		-0,101	0,264	0,020	-0.175
UFRGS 93598-6			-0,100	0,275	-0.588
UPF 91AI100-1-4				-0,014	0.277

Os resultados obtidos neste experimento indicam que tanto a variância aditiva quanto a de dominância estão envolvidas na tolerância ao alumínio tóxico nos genótipos de aveia estudados. Sendo que, a ação gênica aditiva foi a de maior importância nos cruzamentos estudados pela magnitude da CGC em relação a CEC.

A maior importância da ação gênica aditiva obtida na caracterização genética dos genótipos estudados, indica que a seleção de genótipos e a incorporação do caráter em genótipos elites de programas de melhoramento pode ser facilmente alcançada. A herança simples do caráter e

a alta herdabilidade demonstrada nos cruzamentos contrastantes também reforçam esta hipótese.

A seleção de genótipos em populações segregantes poderá ser feita nas primeiras gerações, no entanto, devido à ação gênica de dominância ser também significativa, como observado na análise de distribuição de frequência, esta seleção deverá ser acompanhada de teste de progênie para identificação de linhas homozigotas para o gene de tolerância ao alumínio tóxico.

4.3 Análise Molecular

Dos 19 *primers* estudados, três não amplificaram, nove foram monomórficos e sete foram polimórficos (Tabela 28). No entanto, apenas um *primer* o AM1 apresentou um polimorfismo potencial para a tolerância ao alumínio, pois apenas o genitor e o *bulk* sensíveis apresentaram uma banda à 180pb, contrastando com o genitor tolerante e o *bulk* tolerante. Os outros seis *primers* apresentaram polimorfismo entre os pais mas os *bulks* segregaram como um dos pais.

TABELA 28. Oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) avaliados e seu comportamento para o cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 93598-6, *bulk* sensível e *bulk* tolerante. UFRGS 2002

Primer	Número	Frequência
Polimórficos	7	37%
Não amplificaram	3	16%
Monomórficos	9	47%

Na análise com marcadores por AFLP, foram avaliadas 24 combinações de *primers* (Tabela 29) sendo selecionados os iniciadores que

apresentaram maior polimorfismo para a tolerância ao alumínio. Um total de 12 combinações de *primers* apresentaram polimórficos para a característica, na comparação entre genótipo tolerante e *bulk* tolerante com genótipo sensível e *bulk* sensível. Estas são potenciais combinações de *primers* a serem exploradas no estudo da ligação destas com o gene de tolerância encontrado.

As combinações de *primers* que amplificaram maior número de locos polimórficos (P-AAT/M-CCA, P-ATG/M-CGG e P-ATG/M-CTT) foram analisadas mais detalhadamente. Para as três combinações foi realizado um novo teste no qual foram avaliados individualmente cada uma das linhas presentes nos *bulks* tolerante e sensível.

Foi identificado um polimorfismo para a combinação entre os iniciadores P-ATG/M-CGG. Para esta combinação foi aumentando o número de linhas avaliadas para 44 linhas sensíveis e 50 tolerantes. O locus polimórfico encontrado de aproximadamente 140 pb não apresentou ligação com o gene de tolerância ao alumínio presente no genótipo UFRGS 17.

TABELA 29. Combinações de *primers* utilizados para verificar a ligação com genes de tolerância ao alumínio no cruzamento UFRGS 17 x UFRGS 93598-6. UFRGS 2002

Número	Primer P	Primer M	Número	Primer P	Primer M
***1	P-AAG	M-CTA	*13	P-ATG	M-CTA
***2	P-AAG	M-CAG	*14	P-ATG	M-CAG
***3	P-AAG	M-CGC	*15	P-ATG	M-CGC
***4	P-AAG	M-CCA	*16	P-ATG	M-CCA
***5	P-AAG	M-CGG	*17	P-ATG	M-CGG
***6	P-AAG	M-CTT	*18	P-ATG	M-CTT
*7	P-AAT	M-CTA	***19	P-AAA	M-CTA
**8	P-AAT	M-CAG	*20	P-AAA	M-CAG

***9	P-AAT	M-CGC	**21	P-AAA	M-CGC
*10	P-AAT	M-CCA	*22	P-AAA	M-CCA
*11	P-AAT	M-CGG	**23	P-AAA	M-CGG
*12	P-AAT	M-CTT	*24	P-AAA	M-CTT

* Primers que houve polimorfismo

** Primers monomórficos

*** Primers que não amplificaram.

O uso de marcadores moleculares tem evidenciado a existência de um a poucos genes de tolerância ao alumínio em gramíneas, além da existência de marcadores moleculares muito próximos a genes de tolerância em trigo (Riede & Anderson, 1996; Czembor et al., 2001, Milla & Gustafson, 2001), cevada (Tang et al., 2000) e triticales (Ma et al., 2000). Devido a sintenia existente entre as gramíneas provavelmente estes marcadores podem ser utilizados para verificar a existência de genes de tolerância na cultura da aveia.

Alguns destes marcadores foram utilizados no presente trabalho, mas nenhum deles apresentou ligação com o gene de resistência ao alumínio presente nas populações avaliadas, indicando diferenças com as demais gramíneas.

5. CONCLUSÕES

- o emprego de solução nutritiva mostrou ser uma técnica eficiente para selecionar genótipos de aveia quanto à tolerância ao alumínio tóxico, sendo a solução proposta por Polle et al. (1978) a mais eficiente;

- o caráter tolerância ao alumínio em aveia é geneticamente herdável controlado por um gene com alelos múltiplos para a tolerância ao alumínio tóxico;

- a herdabilidade, no sentido amplo, do caráter foi alta;

- os genótipos UFRGS 17 e UPF 91AI100-1-4 apresentam um gene de tolerância ao alumínio tóxico e devem ser utilizados como fontes preferenciais para o caráter;

- considerando os *primers* avaliados não foram identificados marcadores moleculares associados ao caráter.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLARD, R.W. **Principles of plant breeding**. 3. ed. New York: J. Wiley, 1960. 485p.

ANIOL, A.M. Induction of aluminum tolerance in wheat by low doses of aluminum in nutrition solution. **Plant Physiology**, Bethesda, v.75, p.551-555, 1984.

ANIOL, A.M. Physiological aspects of Aluminium tolerance associated with the long arm of chromosome 2D of the wheat (*Triticum aestivum* L.) genome. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.91, p.510-516, 1995.

BAIER, A.C.; SOMERS, D.J.; GUSTAFSON, J.P. Aluminium tolerance in wheat hydroponic evaluations with field and soil performances. **Plant Breeding**, Berlin, v.114, p.291-296, 1995.

BALIGAR, V.C. et al. Aluminum effects on plant and nutrient uptake parameters of soil and solution grown sorghum genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, v.18, n.11, p. 2325-2338, 1995.

BECKER, J.; HEUN, M. Mapping of digested and undigested random amplified microsatellite polymorphisms in barley. **Genome**, Ottawa, v.38, p.991-998, 1995.

BELL, C.J.; ECKER, J.R. Assignment of 30 microsatellite loci to the linkage map of *Arabidopsis*. **Genome**, Ottawa, v.19, p.137-144, 1994.

BERGAMASCHI, H.; GUADAGNIN, M.R. **Agroclima da Estação Experimental Agronômica/UFRGS**. Porto Alegre: Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da UFRGS, 1990. 60p.

BERTAGNOLI, P.F.; FEDERIZZI, L.C. Cruzamentos artificiais em aveia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.4, p.601-606, 1994.

BONA, L. et al. Aluminum tolerance of segregating wheat populations in acid soil and nutrient solution. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.25, p.327-339, 1994.

BRONDANI, C.; PAIVA E. Análise de “RFLP” da tolerância à toxidez do alumínio no cromossomo 2 do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.8, p.575-579, 1996.

CALBA, H. et al. Agarose as a suitable substrate for use in the study of Al dynamics in the rhizosphere. **Plant and soil**, Wageningen, v.178, p.67-74, 1996.

CAMARGO, C.E.O. A concentração de fósforo na tolerância de cultivares de trigo à toxicidade de alumínio em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v.44, n.1, p.49-64, 1985.

CAMARGO, C.E.O. Efeito da temperatura da solução nutritiva na tolerância ao alumínio de cultivares de trigo. **Bragantia**, Campinas, v.42, n.6, p.51-63, 1983.

CAMARGO, C.E.O. Melhoramento do trigo: VI. Hereditariedade da tolerância a três concentrações de alumínio em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v.43, n.2, p.279-291, 1984a.

CAMARGO, C.E.O. O pH das soluções nutritivas no comportamento de cultivares de trigo à toxicidade de alumínio. **Bragantia**, Campinas, v.43, n.2, p.327-335, 1984b.

CAMARGO, C.E.O.; OLIVEIRA, O.F. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia**, Campinas, v.40, n.3, p.21-31, 1981.

CAMARGO, C.E.O. et al. Melhoramento de trigo XXVI. Avaliação de linhagens com tolerância à toxicidade de Al, Mn e Fe em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v.50, n.2., p.247-260, 1991.

CAMARGO, C.E.O. et al. Melhoramento do Trigo: XXVII. Estimativas de variância, herdabilidade e correlações em populações híbridas para produção de grãos, tolerância à toxicidade de alumínio e altura das plantas. **Bragantia**, Campinas, v.51, n.1, p.21-30, 1992.

CAMARGO, C.E.O.; FELÍCIO, J.C. Tolerância de cultivares de trigo, triticale e centeio em diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v.43, n.1, p.9-16, 1984.

CARVALHO, F.I.F. et al. **Estimativas e implicações da herdabilidade como estratégia de seleção**. Pelotas; Ed. UFPel, 2001. 99p.

CARVALHO, F.I.F. et al. Potencial genético da aveia, como produtora de grãos, no sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p.71-82, 1987.

CLARK, R.B.; DUNCAN, R.R. Selection of plants to tolerate soil salinity, acidity, and mineral deficiencies. **International Crop Science I**, Madison, cap. 48. p.371-379, 1993.

CZEMBOR, P.; WIEWIÓRA, M.; CZEMBOR, H.J. Linkage of microsatellite markers to an aluminium tolerance gene in wheat. In: EUCARPIA CONGRESS, 16, 2001, Edinburgh. Scotland. **Abstracts...** Edinburgh: [s.n.], 2001.

DEGENHARDT, J. et al. Aluminum resistance in the *arabidopsis* mutant alr-104 is caused by an aluminum-induced increase in rhizosphere pH. **Plant Physiology**, Bethesda, v.117, p.19-27, 1998.

DELHAIZE, E. et al. Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) – I. Uptake and distribution of aluminum in roots apices. **Plant Physiology**, Bethesda, v.103, p.685-693, 1993.

DEVINE, T.E. et al. Development of alfalfa strains with differential tolerance to aluminum toxicity. **Plant Soil**, Wageningen, v.44, n.1, p.73-79, 1976.

DORNELLES, A.L.C. et al. Avaliação de genótipos de trigo hexaplóides quanto a tolerância à toxicidade do alumínio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.26, n.1, p.19-22, 1996.

DORNELLES, A.L.C. **O uso da cultura de tecidos na geração de variabilidade para tolerância à toxicidade do alumínio e sensibilidade ao ácido giberélico em trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 1994. 102f. Tese (Doutorado em Plantas de Lavoura) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1994.

ECHART, C.L. **Controle genético e mapeamento do gene de tolerância ao alumínio em cevada**. 2001. 100f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

ECKERT, M.I. et al. Aluminum toxicity in barley (*Hordeum vulgare* L.) root tips. **Brazilian Journal of Genetics**, Brasília, v.19, n.3, p.429-433, 1996.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1999. 412p.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; WRIGHT, R.J. Aluminum toxicity in crop plants. **Soil Science Plant Analysis**, New York, v.23, p.303-319, 1992.

FAGERIA, N.K.; WRIGHT, R.J.; BALIGAR, V.C. Rice cultivars response to aluminum in nutrient solution. **Soil Science Plant Analysis**, New York, v.19, n.7-12, p.1133-1142, 1988.

FEDERIZZI, L.C. et al. Variabilidade fenotípica de diferentes caracteres da panícula em aveia (*Avena sativa* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, p.223-229, 1995.

FERNANDES, M.S.; ROSSIELLO, R.O.P.; ARRUDA, M.L.R. Relações entre capacidade de troca de cátions de raízes e toxidez de alumínio em duas gramíneas forrageiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, n.5, p.931-637, 1984.

FERREIRA, de R.P. et al. Herança da tolerância à toxidez de alumínio em arroz baseada em análise de médias e variâncias. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.5, p.509-515, 1997.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220p. (Documento, 20).

FLEMING, A.L.; FOY, C.D. Root structure reflects differential aluminum tolerance in wheat varieties. **Agronomy Journal**, Madison, v.60, n.2, p.172-176, 1968.

FLOSS, E.L. **Avaliação da toxicidade do alumínio em genótipos de aveia**. Piracicaba: ESALQ, 1992. 296 f. Tese (Doutorado em Agronomia-Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

FOY C.D. Physiological effects of hydrogen, aluminum, and manganese toxicities in acid soil In: ADAMS F. (ed.) **Soil acidity and liming**. 2 ed. Madison: American Society of Agronomy, Madison, 1984. p.57-97.

FOY, C.D. Differential aluminum and manganese tolerance of plant species and varieties in soils. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 150-155, 1976.

FOY, C.D. Plant adaptation to acid, aluminum-toxic soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.19, p.959-987, 1988.

FOY, C.D. **The plant root and its environments**. Charlottesville: E.W. Carson, 1974. p.601-642: Effects of aluminum on plant growth.

FOY, C.D.; BROWN, J.C. Toxic factors in acid soils: II. Differential aluminum tolerance of plant species. **Soil Science Society Proceedings**, Madison, v.28, p.27-32, 1964.

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

FOY, C.D.; FLEMING, A.L. Aluminum tolerance of two wheat genotypes related to nitrate reductase activities. **Journal of Plants Nutrition**, New York, v.5, p.1113-1133, 1982.

FOY, C.D.; FLEMING, A.L. The physiology of plant tolerance to excess available aluminum and manganese in acid soils. In: JUNG, G.A. **Crop tolerance to sub optimal land condition**. Madison: The soil Science Society American, 1978. p.301-338.

FOY, C.D.; FLEMING, A.L.; SCHWARTZ, J.W. Opposite aluminum and manganese tolerance of two wheat varieties. **Agronomy Journal**, Madison, v.65, p.123-126, 1973.

FURLANI, P.R. Efeitos fisiológicos do alumínio em plantas. In: SIMPÓSIO AVANÇADO DE SOLOS E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 2, 1989, Piracicaba. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1989, p.73-90.

FURLANI, P.R.; FURLANI, A.M.C. Tolerância a alumínio e eficiência a fósforo em milho e arroz: características independentes. **Bragantia**, Campinas, v.50, n.2, p. 331-340, 1991.

GOTUZZO, C. et al. Tolerância de genótipos de aveia submetidos a diferentes doses de cloreto de alumínio em solução nutritiva. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 21, 2001, Lages. **Resultados experimentais...** Lages: Comissão Brasileira de Pesquisa de Aveia, 2001, p.97-99.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallell crossing systems. **Australian Journal Biology Science**, East Melbourn, v.9, p.463-493, 1956.

HOWELER, R.H.; CADAVID, L.F. Screening of rice cultivars for tolerance to aluminum toxicity in nutrient solutions as compared with a field screening method. **Agronomy Journal**, Madison, v.68, p.551-555, 1976.

HUANG, J.W. et al. Aluminum interactions with voltage-dependent calcium transport in plasma membrane vesicles isolated from roots of aluminum-sensitive and -resistant wheat cultivars. **Plant Physiology**, Bethesda, v.110, p.561-569, 1996.

JOHNSON JUNIOR, J.P.; CARVER, B.F.; BALIGAR, V.C. Expression of aluminum tolerance transferred from atlas 66 to hard winter wheat. **Crop Science**, Madison, v.37, p.103-108, 1997.

KERRIDGE, P.C.; DAWSON, M.D.; MOORE, D.P. Separation of degrees of aluminum tolerance in wheat. **Agronomy Journal**, Madison, v.63, p.586-590, 1971.

KERRIDGE, P.C.; KRONSTAND, W.E. Evidence of genetic resistance to aluminum toxicity in wheat (*Triticum aestivum* Vill. Host.). **Agronomy Journal**, Madison, v.60, n.6, p.710-711, 1968.

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

KOLLMEIER, M. et al. Aluminum activates a citrate-permeable anion channel in the aluminum-sensitive zone of the maize root apex. A comparison between an aluminum-sensitive and an aluminum-resistant cultivar. **Plant Physiology**, Bethesda, v.126, p.397-410, 2001.

LAFEVER, H.H; CAMPBELL, L.G. Inheritance of aluminum tolerance in wheat. **Canadian Journal of Genetic and Cytology**, Ottawa, v.20, p.355-364, 1978.

LAFEVER, H.H; CAMPBELL, L.G.; FOY, C.D. Differential response of wheat cultivar to Al. **Agronomy Journal**, Madison, v.69, n.4, p.563-568, 1977.

LAGOS, M.B. et al. Genetics and monosomic analysis of aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Revista Brasileira de Genética**, Brasília, v.14, n.4, p.1011-1020, 1991.

LARSEN, P.B. et al. Aluminum-resistant *arabidopsis* mutants that exhibit altered patterns of aluminum accumulation and organic acid release from roots. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 117, p.9-17, 1998.

LI, C.D.; ROSSNAGEL, B.G.; SCOLES, G.J. The development of oat microsatellites markers and their use in identifying relationships among *Avena* species and oat cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**. v.101, p.1259-1268, 2000a.

LI, X.F.; MA, J.F.; MATSUMOTO H. Pattern of aluminum-induced secretion of organic acids differs between rye and wheat. **Plant Physiology**, Bethesda. v. 123, p. 1537-1544, 2000b.

LIMA, M., MIRANDA FILHO, J.B.; FURLANI, P.R. Diallel cross among inbred lines of maize differing in aluminum tolerance. **Brazilian Journal of Genetics**. v.18, n.3, p. 579-584, 1995.

LOPES, M.A. et al. Avaliação de populações de milho e seus cruzamentos para tolerância à toxidez de alumínio em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p.257-263, 1987.

LUO, M.C.; DVORAK, J. Molecular mapping of an aluminum tolerance locus on chromosome 4D of Chinese spring wheat. **Euphytica**, Wageningen, v.91, p.31-35, 1996.

MA, J.F.; HIRADATE, S.; MATSUMOTO, H. High aluminum resistance in buckwheat. **Plant Physiology**, Bethesda, v.117, p.753-759, 1998.

MA, J.F.; TAKETA, S.; YANG, Z.M. Aluminum tolerance genes on the short arm of chromosome 3r are linked to organic acid release in triticale. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 122, p. 687-694, 2000.

MA, Z.Q. et al. RFLP markers linked to two Hessian fly-resistance genes in wheat (*Triticum aestivum* L.) from *triticum tauschii* (coss.) Schmal. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.85, p.750-754, 1993.

MATHER, K.; JINKS, J.L. **Biometrical genetics**. 3. ed. Cambridge: University Press, 1982. 396p.

MAZZOCATO, A.C. **Tolerância ao alumínio em genótipos de milho (*Zea mays* L.)**. 69f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

MILACH, S.C.K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S.C.K. (ed.) **Marcadores moleculares de plantas**. Porto Alegre: S.C.K. Milach, 1998. p.17-30.

MILLA, M.A.; GUSTAFSON, J.P. Genetic and physical characterization of chromosome 4DL in wheat. **Genome**, Ottawa, v.44, p.883-892, 2001.

MINELLA, E. **Aluminum tolerance in barley: inheritance, chromosome location, genetic relationship of sources of sources of diverse origins, and breeding implications**. Cornell: Cornell University, 1989. 70f. Tese (Doutorado) – Cornell University, Cornell, 1989.

MINELLA, E.; SORRELLS M.E. Aluminum tolerance in barley: genetic relationship among genotypes of diverse origin. **Crop science**, Madison, v.32, p.593-598, 1992.

MUGWIRA, L.M.; et al. Aluminum tolerance of triticale and wheat cultivar developed in different regions. **Agronomy Journal**, Madison, v.73, n.3, p.470-475, 1981.

MURPHY, J.P.; HOFFMAN, L.A. Origin, history and production of oat, In: MARSHALL, H.G.; SORREL, M.E (Co-ed.). **Oat Science and Technology**, Madison: Crop Science Society of American, 1992. p.1-28.

NELSON, J.C. **ITMI wheat mapping workshop** – Laboratory manual. Cornell: Cornell University, 1993.

NODARI, R.O.; CARVALHO, F.I.F.; FEDERIZZI, L.C. Bases genéticas da herança do caráter tolerância ao cretamento em genótipos de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n.2, p.269-280, 1982.

OLIVEIRA, P.H. et al. Estudo da herança genética da tolerância ao alumínio tóxico em um cruzamento de aveia nas gerações F₂ e F₅. In: REUNIÃO DA

COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 22, 2002, Passo Fundo. **Resultados experimentais...** Passo Fundo: Comissão Brasileira de Pesquisa de Aveia, 2002. p.384-386.

PIÑEROS, M.A. et al. The physiology and biophysics of an aluminum tolerance mechanism based on root citrate exudation in maize. **Plant Physiology**, Bethesda, v.129, p.1194-1206, 2002.

PIÑEROS, M.A.; KOCHIAN, L.V. A patch-clamp study on the physiology of aluminum toxicity and aluminum tolerance in maize. Identification and characterization of Al³⁺-induced anion channels. **Plant Physiology**, Bethesda, v.125, p.292-305. 2001.

POLLE, C.R.; 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, p.823-827, 1978.

PRESTES, A.M.; KONZAK, C.F.; HENDRIX, J.W. An improved seedling culture method for screening wheat for tolerance to toxic levels of aluminum. **Agronomy Abstract**, Madison, p.60, 1975.

PRIOLI, S.M.A.P. et al. Seleção da tolerância à toxidez de alumínio em milho (*Zea mays* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v.32, n.183, p.441-451, 1985.

RIEDE, C.R.; ANDERSON, J.A. Linkage of RFLP markers to an aluminum tolerance gene in wheat. **Crop Science**, Madison, v.36, p.905-909, 1996.

SALET R.L. et al. Atividade de alumínio na solução de um solo no sistema de plantio direto. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 10, 1994, Florianópolis. **Resumos...** Florianópolis: SBCS, 1994. p.224.

SAMUELS, T.D.; KÜÇÜKAKYÜZ, K.; RINCÓN-ZACHARY, M. Al partitioning patterns and root growth as related to Al sensitivity and Al tolerance in wheat. **Plant Physiology**, Bethesda. v.113, p.527-534, 1997.

SÁNCHEZ-CHACÓN, C.D. et al. Variabilidade genética e herança da tolerância à toxicidade do alumínio em aveia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.9, p.1797-1808, 2000.

SÁNCHEZ-CHACÓN, C.D. **Herança da tolerância e sensibilidade à tolerância do alumínio em aveia (*Avena sativa* L.)**. 1998. 73f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

SHUMAN, L.M.; WILSON, D.O.; DUNCAN, R.R. Screening wheat and sorghum cultivars for aluminum sensitivity at low aluminum levels. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.16, p.2383-2395, 1993.

SIBOV, S.T. et al. Two genes control aluminum tolerance in maize: genetic and molecular mapping analyses. **Genome**, Ottawa, v.42, p.475-482, 1999.

SOUZA, L.A.C. Reação de genótipos de soja ao alumínio em hidroponia e no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.10, 2001.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw-Hill, 1960. 481p.

TANG, Y. et al. Identification of RFLP markers linked to the barley aluminum tolerance gene *Alp*. **Crop Science**, Madison, v.40, p.778-782, 2000.

TANKSLEY, S.D. et al. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. **Bio/Technology**, New York, v.7, p.257-264, 1989.

TEMNYKH, S. et al. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oriza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.88, p.1-6, 1994.

TORRES, G.A. et al. A search for RFLP markers to identify genes for aluminum tolerance in maize. **Brazilian Journal of Genetics**, Brasília, v.20, n.3, p.459-465, 1997.

VOS, P. et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, New York, v.23, p.4407-4414, 1995.

WAGNER C.W. **Herança da tolerância à toxicidade do alumínio em aveia**. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

WAGNER C.W; MILACH, S.C.K.; FEDERIZZI L.C. Genetic inheritance of aluminum tolerance in oat. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Brasília v.1, n.1, p.22-26, 2001.

WU, P. et al. Genetic control of seedling tolerance to aluminum toxicity in rice. **Euphytica**, Wageningen, v.97, p.289-293, 1997.

YAMAMOTO, Y. et al. Aluminum tolerance acquired during phosphate starvation in cultured tobacco cells. **Plant Physiology**, Bethesda, v.112, p.217-227, 1996.

ZANATTA, A.C.A.; MUNDSTOCK, C.M. Efeito de níveis de fósforo e alumínio sobre estruturas vegetativas do sistema aéreo de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.9, p.1365-1379, 1991.

ZHANG, W.H.; RYAN, P.R.; TYERMAN, T.D. Malate-permeable channels and cation channels activated by aluminum in the apical cells of wheat roots. **Plant Physiology**, Bethesda, v.125, p.1459-1472. 2001.

ZHENG, S.J.; MA, J.F.; MATSUMOTO, H. High aluminum resistance in buckwheat. **Plant Physiology**, Bethesda, v.117, p.745-751, 1998.

7. APÊNDICES

APÊNDICE 1. Distribuição de freqüência para o recrescimento da raiz principal plântulas de diferentes gerações para os cruzamentos entre os genótipos UFRGS 17 x UFRGS 16 e os genótipos UFRGS 17 x UFRGS 911740. UFRGS, 2002

Gerações	UFRGS 17 x UFRGS 16																	Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	Recrescimento (cm)																				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4	2.6	2.8	3	3.2	3.4				
P ₁					1	10	15	31	22	19	10	7	1	2				118	1.6	0.297	0.088
P ₂	4	10	9	2														25	0.43	0.173	0.03
F ₂	3	16	4	3	9	5	1	2	2		1						1	46	0.75	0.479	0.229

Gerações	UFRGS 17 x UFRGS 911740																	Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	Recrescimento (cm)																				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4	2.6	2.8	3	3.2	3.4				
P ₁					1	10	15	31	22	19	10	7	1	2				118	1.6	0.297	0.088
P ₂	1	8	1	1	2	4	6	11	7	6	3	2	1					53	1.42	0.682	0.4646
F ₂	3	47	11	3	7	7	13	12	23	18	18	9	11	7	8	3	2	202	1.52	0.923	0.8523

APÊNDICE 2. Distribuição de frequência para o caráter tolerância à toxicidade do alumínio em aveia, de diferentes gerações, para os cruzamentos entre os genótipos UFRGS 15 x UFRGS 16 e UFRGS 15 x UFRGS 911715. UFRGS, 2002

UFRGS 15 x UFRGS 16																		
Gerações	Recrescimento (cm)													Total	Média	Desvio Padrão	Variância	
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4						
P ₁	2	8	12	4	1	1				1					29	0.57	0.303	0.092
P ₂		5	10	3	3	1				1				4	27	0.91	0.691	0.477
F ₂	4	22	27	43	41	18	12	4	6						177	0.84	0.347	0.121

UFRGS 15 x UFRGS 911715																			
Gerações	Recrescimento (cm)															Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4	2.6	2.8	3				
P ₁	2	8	1	3	7	2	3	1	1							28	0.80	0.449	0.202
P ₂		3	1	7	5	6	3	3		1		1				30	1.04	0.446	0.199
F ₁				3	11	8	4	1	1				1			29	1.15	0.345	0.119
F ₂		4	10	17	30	24	19	10	12	13	2	4	2		2	147	1.26	0.523	0.274

APÊNDICE 3. Distribuição de freqüência para o caráter tolerância à toxicidade do alumínio em aveia, de diferentes gerações, para os cruzamentos entre os genótipos UFRGS 15 x UFRGS 93598-6 e UFRGS 15 x UFRGS 911740. UFRGS, 2002

UFRGS 15 x UFRGS 93598										
Geração	Recrescimento (cm)						Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2				
P ₁	8	8	4	2		1	23	0.4	0.239	0.0571
P ₂	6	6	5	10			27	0.51	0.23	0.053
F ₁		5	1	1			7	0.33	0.189	0.0356
F ₂	27	71	22	27	8	1	156	0.45	0.231	0.0534

UFRGS 15 x UFRGS 911740																							
Geração	Recrescimento (cm)																			Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2	2.2	2.4	2.6	2.8	3	3.2	3.4	3.6	3.8				
P ₁					1		6	1	2											10	1.69	0.183	0.034
P ₂							1	1			2		3	2	1					10	2.75	0.278	0.077
F ₁												3	6	6	3	1				19	2.94	0.264	0.070
F ₂	1	2	1	8	3	4	7	5	6	8	1	7	6	4		2	2			67	1.92	0.781	0.611
RC ₂ F ₁				2						1	2	2	1	3		1		2	1	15	2.75	0.556	0.309

APÊNDICE 4. Distribuição de freqüência para o caráter tolerância à toxicidade do alumínio em aveia, de diferentes gerações, para os cruzamentos entre os genótipos UFRGS 93605 x UFRGS 911715 e os genótipos UFRGS 93605 x UFRGS 911740. UFRGS, 2002

UFRGS 93605 x UFRGS 911715														
Gerações	Recrescimento (cm)										Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2				
P ₁	4	1	8	1							14	0.42	0.2007	0.0403
P ₂	1		1	7	5	2	1	1		2	20	0.96	0.4327	0.1872
F ₂	1	15	28	43	30	8	2	2	1		130	0.76	0.2687	0.0722

UFRGS 93605 x UFRGS 911740														
Gerações	Recrescimento (cm)										Total	Média	Desvio Padrão	Variância
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2				
P ₁		2	18	6	3	1					30	0.62	0.1832	0.0336
P ₂		6	5	4	1	5	4	2		1	28	0.9	0.4456	0.1985
F ₂	4	18	18	25	14	15	10	3	5		112	0.83	0.3953	0.1563

APENDICE 5. Distribuição de frequência para o caráter tolerância à toxicidade do alumínio em aveia, de diferentes gerações, para os cruzamentos entre os genótipos UFRGS 93605 x UFRGS 93598-6 e os genótipos UFRGS 93605 x UFRGS 16. UFRGS, 2002

UFRGS 93605 x UFRGS 93598-6											
Gerações	Recrescimento (cm)					Total	Média	Desvio Padrão	Variância		
	0.2	0.4	0.6	0.8	1						
P ₁	16	9	4			29	0.28	0.1185	0.014		
P ₂	25	5				30	0.18	0.0699	0.0049		
F ₂	76	50	14	2	2	144	0.29	0.1536	0.0236		

UFRGS 93605 x UFRGS 16												
Gerações	Recrescimento (cm)							Total	Média	Desvio Padrão	Variância	
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4					1.6
P ₁	14		2					16	0.21	0.1237	0.0153	
P ₂		4	5	3	4		1	17	0.7	0.2739	0.075	
F ₂	29	37	30	17	17	4	2	3	139	0.55	0.3222	0.1038

8. VITA

Paulo Henrique de Oliveira, filho de Murilo de Oliveira e Angela Guimarães de Oliveira, nasceu em 26 de agosto de 1966, em Erechim, Rio Grande do Sul.

Estudou no colégio São José, onde completou seu primeiro grau, e na Escola Agrotécnica Federal de Sertão, onde completou o curso de Técnico em Agropecuária. Em 1985 ingressou na Faculdade de Agronomia da UPF e em 1986 ingressou na Universidade Federal de Santa Maria, onde completou sua graduação como Engenheiro Agrônomo em dezembro de 1990.

Em março de 1991 ingressou no Curso de Mestrado em Agronomia na Área de Concentração Produção Vegetal da Universidade Federal de Santa Maria, o qual concluiu em novembro de 1994.

Em março de 1993 ingressou na EMATER-Paraná, trabalhando como extensionista até julho de 1994, de onde saiu para ingressar no CEFET-PR/UNED de Pato Branco como professor do Curso de Agronomia, onde ministra as disciplinas de estatística e experimentação agrícola até hoje.

Em março de 1998, iniciou seu Curso de Doutorado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na área de Concentração de Plantas de Lavoura.