

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

DIFERENCIAÇÃO EM SOLUÇÃO HIDROPÔNICA DE GENÓTIPOS DE TRIGO
QUANTO À TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA DE FÓSFORO

Adriano Alves da Silva
Engenheiro Agrônomo (UFRGS)

Dissertação apresentada como um dos
requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Fitotecnia
Área de Concentração Plantas de Lavoura

Porto Alegre (RS), Brasil
Março, 2007

Dedico à minha família:

meus pais

Paulo Regis Ferreira da Silva e Sueli Alves da Silva

minha irmã

Alessandra Alves da Silva

minha avó

Zeferina Duarte Alves

minha noiva

Christina Venzke Simões de Lima

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e por todas as pessoas que colocou ao meu lado iluminando meu caminho.

Aos meus pais, Paulo e Sueli, que sempre me apoiaram em tudo que eu fiz e são responsáveis por tudo que sou hoje.

À Carla Andréa Delatorre, pela orientação, amizade, compreensão, ensinamentos, simplesmente uma pessoa com um conhecimento ímpar.

Ao Professor Cláudio Mário Mundstock, por todo ensinamento transmitido e pela amizade, com certeza uma peça fundamental da minha formação profissional.

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Trigo – Embrapa, em especial ao pesquisador PhD. Euclides Minella pelo apoio na realização do trabalho e pela disponibilidade para auxiliar em tudo que foi necessário.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Plantas de Lavoura, em especial aos laboratoristas Fábio e Jonatan pela amizade e competência no desempenho de suas atividades.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq, pelo apoio financeiro.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação, em especial aos amigos Francelli, Tatiane Boff e Paulo Roberto.

Às bolsistas de iniciação científica Ingrid Arns e Cliciane Bertoldi pela grande ajuda, amizade e dedicação na execução dos experimentos.

Aos meus grandes amigos que sempre me deram apoio desde o tempo de graduação, Alexandre Piana, Rafael Peruzzo e Osmar Conte.

À minha noiva Christina que atuou ao meu lado como bolsista, amiga, psicóloga e me deu todo apoio e amor sempre que precisei.

À minha irmã Alessandra e ao meu cunhado Hudson pela amizade e companheirismo nos momentos de descanso.

A um grande professor, orientador e amigo que sempre esteve do meu lado e em quem sempre me espelhei, meu pai.

Agradeço a todas as pessoas que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

DIFERENCIAÇÃO EM SOLUÇÃO HIDROPÔNICA DE GENÓTIPOS DE TRIGO QUANTO À TOLERÂNCIA À DEFICIÊNCIA DE FÓSFORO

Autor: Adriano Alves da Silva

Orientadora: Professora Carla Andréa Delatorre

RESUMO

O fósforo (P) é um dos elementos mais críticos para a produção agrícola, pois apesar de ser requerido em quantidades significativas para o adequado desenvolvimento das culturas, sua disponibilidade é limitada devido a sua relativa escassez edáfica, elevada retenção por parte da matriz do solo, falta de reposição natural e à progressiva escassez das fontes naturais. A utilização de cultivares tolerantes é uma alternativa para redução do custo de produção, diminuição da contaminação do ambiente e maximização da produtividade das culturas. A diferenciação de genótipos quanto à sua tolerância à deficiência de P_i permitirá investigar os mecanismos atuantes neste processo adaptativo de tolerância, permitindo no futuro a identificação dos genes envolvidos nestes processos e sua manipulação. O objetivo deste trabalho foi diferenciar em solução hidropônica cultivares de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de P. Foram realizados três estudos. No primeiro, avaliou-se o efeito da retirada do endosperma na resposta de plântulas de trigo à limitação de P. No segundo estudo foram avaliadas características de plântulas submetidas a diferentes doses de P, dos cultivares de trigo Anahuac, sensível, e Toropi, tolerante quanto à tolerância à deficiência de P em solo. No terceiro estudo, repetiu-se a avaliação de plântulas a doses de P também em seis linhagens recombinantes, selecionadas com base nos seus comportamentos em solo. O endosperma da semente de trigo possui reservas de fósforo que impedem a observação de diferenças morfofisiológicas em resposta à limitação deste no ambiente, em estádios iniciais de desenvolvimento. Com a remoção do endosperma da semente é possível diferenciar genótipos de trigo quanto à tolerância à deficiência de fósforo em solução nutritiva, aos dez dias após a germinação. A diferenciação de genótipos de trigo quanto à tolerância à deficiência de fósforo em solução nutritiva é possível de ser realizada através do cálculo da razão entre a concentração de fosfato livre na parte aérea obtidos nas doses de 10 e 1000 μM de P, sendo que para os genótipos tolerantes esta razão fica próxima a um e nos genótipos sensíveis próxima a 0,5. A quantidade de fosfato livre na parte aérea ou total na plântula também podem ser utilizadas. O cultivar Toropi e os genótipos NYW 865-016, NYW 865-081 e NYW 865-086 são mais tolerantes à deficiência de fósforo em solução nutritiva quando comparados ao cultivar Anahuac e os genótipos NYW 865-034 e NYW 865-073.

^{1/}DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM FITOTECNIA, FACULDADE DE AGRONOMIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, PORTO ALEGRE, RS, BRASIL (75p.) MARÇO, 2007.

DIFFERENTIATION IN HYDROPONIC SOLUTION OF WHEAT GENOTYPES IN RELATION TO TOLERANCE TO PHOSPHORUS STARVATION

Author: Adriano Alves da Silva

Adviser: Carla Andréa Delatorre

ABSTRACT

Phosphorus (P) is one of the most critical elements for the agricultural production. Besides the high P requirement for adequate crop growth and development, its availability to plants is limited due to its relative soil starvation, high retention by soil matrix, lack of natural reposition, and gradual scarcity of the natural sources. Use of tolerant cultivars is an alternative in reducing production costs, environmental contamination and increasing crop yield. The differentiation between P deficiency tolerant and sensitive genotypes is required for further mechanism investigation, which might allow gene discovery and trait manipulation. This work aimed to differentiate, in hydroponic solution, wheat genotypes with contrasting Pi deficiency tolerance. Three studies were carried out. In the first one, the effect of endosperm removal on wheat seedling Pi response was evaluated. In the second study, two wheat cultivars contrasting in the response to P starvation in the field, Anahuac (sensitive) and Toropi (tolerant) were evaluated at different P availability conditions. In the third study, six recombinant inbred lines selected based on their field performance were evaluated in hydroponics. The wheat endosperm contains enough P to mask the seedling P response. The endosperm removal allows differentiation of P tolerance in 10 days-old seedlings. The ratios between shoot free Pi concentration at 10 and 1000 μM Pi doses can identify the tolerant genotypes. Tolerant genotypes have a ratio around one and sensitive ones have around 0.5 ratio. The total amount of free phosphate in the shoot or in the whole plant can also be used. Toropi and the inbred lines NYW 865-016, NYW 865-081 and NYW 865-086 are more tolerant than Anahuac and the inbred lines NYW 865-034 e NYW 865-073.

^{1/}MASTER OF SCIENCE DISSERTATION IN AGRONOMY, FACULDADE DE AGRONOMIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, PORTO ALEGRE, RS, BRAZIL (75p.) MARCH, 2007.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. O fósforo (P) no solo.....	4
2.2. O fósforo na planta.....	5
2.3. Tolerância à deficiência de Pi.....	6
2.3.1. Capacidade de aquisição de fósforo.....	8
2.3.2. Eficiência de absorção.....	9
2.3.3. Eficiência de uso de Pi.....	11
2.4. Metodologias para diferenciação de genótipos quanto à tolerância à deficiência de Pi.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Genótipos testados.....	16
3.2. Condições de crescimento e coleta das plântulas e determinações realizadas..	17
3.3. Estudo I - Efeito da retirada do endosperma da semente no desenvolvimento inicial de plântulas de trigo em resposta a presença e ausência de fósforo em solução nutritiva.....	20
3.4. Estudo II - Diferenciação em hidroponia de genótipos de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de P a campo.....	21
3.5. Estudo III - Validação do uso de hidroponia para identificação de genótipos de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de fósforo em linhagens recombinantes.....	22
4. RESULTADOS.....	23
4.1. Estudo I - Efeito da retirada do endosperma da semente no desenvolvimento inicial de plântulas de trigo em resposta a presença e ausência de fósforo em solução nutritiva.....	23
4.1.1. Pesos seco de raízes, parte aérea e razão peso seco de raízes/parte aérea.....	23
4.1.2. Teor e quantidade fosfato livre (Pi) nas raízes e na parte aérea.....	26
4.1.3. Eficiências de absorção e translocação de fósforo.....	29
4.2. Estudo II - Diferenciação em hidroponia de genótipos de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de P a campo.....	32
4.2.1. Pesos seco de raízes, parte aérea e razão peso seco de raízes/parte aérea	32
4.2.2. Teor e quantidade fosfato livre (Pi) nas raízes e na parte aérea.....	33
	36

4.2.3. Eficiências de absorção e translocação de fósforo.....	
4.3. Estudo III - Validação do uso de hidroponia para identificação de genótipos de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de fósforo em linhagens recombinantes.....	38
4.3.1. Pesos seco de raízes, parte aérea e razão peso seco de raízes/parte aérea	42
4.3.2. Teor e quantidade fosfato livre (Pi) nas raízes e na parte aérea.....	50
4.3.3. Eficiências de absorção e translocação de fósforo.....	52
5. DISCUSSÃO.....	66
6. CONCLUSÕES.....	67
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
10. VITA.....	

RELAÇÃO DE TABELAS

Página

TABELA 1. Genótipo, concentrações de fosfato (Pi) na solução nutritiva, manutenção ou remoção do endosperma e data de coleta e análise dos dados nos experimentos I, II, III e IV do Estudo I.....	21
TABELA 2. Coeficientes de variação e probabilidade das variáveis avaliadas no Estudo I, com e sem fósforo (P) na solução nutritiva, nos experimentos com e sem retirada do endosperma da semente do cultivar de trigo Anahuac, na avaliação realizada aos cinco dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2005.....	24
TABELA 3. Coeficientes de variação e probabilidade das variáveis avaliadas no Estudo I, com e sem fósforo (P) na solução nutritiva, nos experimentos com e sem retirada do endosperma da semente do cultivar de trigo Anahuac, na avaliação realizada aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2005.....	25
TABELA 4. Coeficientes de variação e probabilidade das variáveis avaliadas no Estudo II em função dos cultivares de trigo e de doses de fósforo aplicadas em solução nutritiva. Porto Alegre-RS, 2006.....	32
TABELA 5. Coeficientes de variação e probabilidade das variáveis avaliadas no Estudo III em função dos cultivares de trigo e de doses de fósforo aplicadas em solução nutritiva. Porto Alegre-RS, 2006.....	38

RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

<p>FIGURA 1. Fotos do experimento: a) Visão geral do controle de temperatura, da iluminação e da aeração mantidas constantes durante todo o experimento; b) plântulas no recipiente de crescimento aos cinco dias após a germinação; c) plântulas aos dez dias após a germinação sem o endosperma, na ocasião da coleta.....</p>	18
<p>FIGURA 2. Peso seco de raízes (branco) e de parte aérea (preto) do cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.....</p>	25
<p>FIGURA 3. Razão entre peso seco raízes/parte aérea no cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.....</p>	26
<p>FIGURA 4. Teores de fosfato livre (Pi) nas raízes e na parte aérea no cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.....</p>	28
<p>FIGURA 5. Quantidade de fosfato livre (Pi) acumulado nas raízes, na parte aérea e total plântula no cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.....</p>	30
<p>FIGURA 6. Eficiências de absorção e translocação de fósforo (P) no cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.....</p>	31
<p>FIGURA 7. Peso seco de raízes dos cultivares de trigo Anahuac e Toropi, na média de quatro doses de fósforo (P) utilizadas em solução nutritiva (a); peso seco de parte aérea em função dos cultivares Anahuac (branco) e Toropi (preto) e de doses de P (c); razão peso seco de raízes/parte aérea dos dois cultivares, na média de quatro doses de fósforo (b) e em função das doses de P na média dos cultivares (d), aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....</p>	33
<p>FIGURA 8. Teor de fosfato livre (Pi) nas raízes de trigo em função de doses de fósforo (P) utilizadas na solução nutritiva, na média dos cultivares Anahuac e Toropi (a) e teor de Pi na parte aérea (b) em função dos cultivares de trigo Anahuac (branco) e Toropi (preto) e de doses de P, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....</p>	34

2006.....	
FIGURA 9. Quantidade de fosfato livre (Pi) nas raízes de trigo em função de doses de fósforo (P) utilizadas na solução nutritiva, na média dos cultivares Anahuac e Toropi (a) e quantidade de Pi na parte aérea (b) e total na plântula (c) em função dos cultivares de trigo Anahuac (branco) e Toropi (preto) e de doses de P aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	36
FIGURA 10. Eficiências de absorção (a) e de translocação (b) de fósforo (P) dos cultivares de trigo Anahuac (branco) e Toropi (preto) em função de doses de P utilizadas em solução nutritiva aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	37
FIGURA 11. Peso seco de raízes do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a esta quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	39
FIGURA 12. Peso seco de parte aérea do cultivar de trigo Anahuac e de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034 (34), NYW 865-073 (73)), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016 (16), NYW 865-081 (81), NYW 865-086 (86)) na média de quatro doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	40
FIGURA 13. Razão peso seco de raízes/parte aérea do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	41
FIGURA 14. Teor de fosfato livre (Pi) nas raízes do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	43

FIGURA 15. Teor de fosfato livre (Pi) na parte aérea do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	45
FIGURA 16. Quantidade de fosfato livre (Pi) nas raízes em trigo na média dos cultivares Anahuac e Toropi e das linhagens recombinantes NYW 865-034 (34), NYW 865-073 (73), NYW 865-016 (16), NYW 865-081 (81), NYW 865-086 (86) em função de doses de fósforo (P) utilizadas na solução nutritiva (a) e na média de doses de P (b), aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	46
FIGURA 17. Quantidade de fosfato livre (Pi) acumulado na parte aérea do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	48
FIGURA 18. Quantidade total de fosfato livre (Pi) acumulado na plântula do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	49
FIGURA 19. Eficiência de absorção de fosfato livre (Pi) pelas plântulas de trigo em função de doses de fósforo (P) utilizadas na solução nutritiva, na média de sete genótipos, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	50
FIGURA 20. Eficiência de translocação de fósforo (P) pela plântula do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.....	51

1. INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum*) é uma cultura importante para o estado do Rio Grande do Sul, tanto como fonte de renda para os agricultores como para estabelecimento e manutenção do sistema de semeadura direta, fornecendo grande quantidade de palha, além de outros benefícios resultantes da sucessão com culturas como a soja, por exemplo.

Para obtenção de elevados rendimentos há necessidade de, entre outros fatores, disponibilizar nutrientes de forma adequada e na quantidade certa. Dentre os macronutrientes que interferem no rendimento das culturas de maneira significativa, está o fósforo (P). A demanda de P pelas plantas para um crescimento ótimo está na faixa de concentração de 2 a 5 g kg⁻¹ de matéria seca produzida. Os solos em condições naturais, em cerca de 80% da América do Sul, apresentam teores de P considerados baixos para o desenvolvimento da maioria das culturas (Sanchez e Salinas, 1981; Novais e Barros, 1997), além de possuírem elevada capacidade de fixação desse nutriente (Leal e Velloso, 1973; Gonçalves *et al.*, 1997), resultando em baixa eficiência da adubação fosfatada (Goedert *et al.*, 1998). O P é um dos elementos mais críticos para a produção agrícola, devido à sua relativa escassez edáfica, elevada retenção por parte da matriz do solo, falta de reposição natural e progressiva escassez das fontes naturais, sendo sua limitação um dos maiores estresses abióticos, afetando o crescimento e o rendimento das culturas.

As plantas absorvem o P na forma de ortofosfato (Pi), extremamente insolúvel em muitos solos devido à reação com outros minerais. Em sistemas intensivos de produção, usam-se largamente fontes inorgânicas e orgânicas de fósforo, mas parte deste Pi aplicado não é recuperada do solo, pois cerca de 80% torna-se adsorvido ou complexado na fração orgânica.

Os adubos fosfatados utilizados para suprir a deficiência natural de Pi dos solos são originários de reservas não renováveis. Devido a este fato, busca-se melhorar o aproveitamento deste nutriente pelas plantas, ou seja, obter rendimentos similares com menor aporte de Pi. A habilidade de produzir, sob baixa disponibilidade de Pi, quantidades de massa seca similares às obtidas sob alta disponibilidade é chamada de tolerância à deficiência de Pi. A utilização de cultivares tolerantes é uma alternativa para redução do custo de produção, diminuição da contaminação do ambiente e maximização da produtividade das culturas. Para isto, é fundamental o conhecimento dos processos que conduzem à tolerância, os quais podem estar relacionados aos sistemas regulatórios de aquisição e uso de P.

Para que este entendimento seja alcançado, é necessária a diferenciação de genótipos quanto à sua tolerância à deficiência de Pi para que, a partir deste material, possa-se investigar os mecanismos envolvidos neste processo adaptativo, permitindo no futuro a identificação dos genes envolvidos nestes processos e sua manipulação.

Objetivo geral

Diferenciar em solução hidropônica genótipos de trigo quanto à tolerância à deficiência de Pi.

Objetivos específicos

1. Identificar o efeito do endosperma sobre a resposta de plântulas a doses de Pi em solução nutritiva;
2. Definir características que possam ser utilizadas nas fases iniciais de desenvolvimento da planta de trigo para diferenciar genótipos quanto à tolerância à deficiência de Pi.
3. Identificar o período mínimo de crescimento no qual é possível diferenciar genótipos em relação ao caráter em estudo.
4. Estabelecer uma metodologia para a identificação expedita de cultivares de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de fósforo no solo.
5. Caracterizar duas variedades de trigo em relação ao caráter em estudo, buscando identificar os possíveis mecanismos envolvidos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O fósforo (P) no solo

A disponibilidade de P no solo é um dos fatores mais limitantes do crescimento das plantas, na maioria dos ecossistemas naturais. Depois do nitrogênio, o P é o macronutriente mais limitante. Embora a quantidade total de P no solo possa ser relativamente alta, na maioria das vezes este nutriente não se encontra em sua forma lábil ou ao alcance da rizosfera. O transporte de P no solo ocorre essencialmente por difusão. A velocidade desse transporte é regulada por diversos fatores, tais como: teor de água no solo, interação de P e colóides e distância a ser percorrida pelo nutriente até atingir as raízes da planta (Bhadoria et al., 1991). Em geral, este tipo de transporte é lento e ineficiente.

As aplicações de fosfato (Pi) ao solo são necessárias nos sistemas de produção agrícola para garantir alto rendimento das culturas. Apesar de receber aplicações maciças de Pi, o solo é, geralmente, deficiente neste nutriente, pois até 80% do total de Pi aplicado torna-se indisponível, devido à imobilização por adsorção. O restante se encontra na fração orgânica, constituída por mais de 170 tipos de moléculas orgânicas que possuem P na sua composição (Holford, 1997). Apesar da grande abundância de P na litosfera, o ortofosfato (Pi) encontra-se, portanto, sob baixa disponibilidade, estando os níveis no solo em torno de 10 μM (Bissani. et al., 2004).

A absorção de Pi do solo ocorre através de um processo de co-transporte com próton (H^+), via um gradiente eletroquímico de membrana gerado com consumo de ATP (Sakano, 1990). Essa teoria baseia-se na despolarização da membrana plasmática e na acidificação do citosol, provocadas pela reposição de Pi à planta sob deficiência de Pi (Ullrich & Novacky, 1990). Em seguida, a repolarização da membrana plasmática é realizada pela H^+ - ATPase, que bombeia prótons para o meio externo, mantendo o pH celular interno e gerando a força motriz para absorção de Pi (Schachtman et al., 1998).

2.2. O fósforo na planta

O fósforo, absorvido na forma de Pi é crucial no metabolismo vegetal, desempenhando papel importante na transferência de energia celular, na respiração e na fotossíntese. É um componente estrutural de macromoléculas, como ácidos nucleicos e fosfolipídios, e da adenosina trifosfato (ATP), sendo um elemento-chave de várias vias metabólicas e reações bioquímicas, tais como inúmeras etapas das vias C3 e C4 dos ciclos de Calvin e da glicólise (Almeida, 2002). A fosforilação de enzimas por ATP, GTP ou ADP é um mecanismo de modulação da atividade enzimática e um fator chave na transdução de sinais (Buchanan et al., 2000). O Pi, portanto, é necessário também para a adequação da planta ao seu desenvolvimento e ao ambiente.

A demanda de Pi para o crescimento ótimo das plantas está na faixa de concentração de 2 a 5 g kg⁻¹ de massa seca (Kerbauy, 2004). Segundo Plaxton (1998), os valores de Pi livre no citoplasma encontram-se na faixa milimolar, por exemplo, 6mM em milho e 4,2 mM em ervilha, porém estes valores podem cair a 0,2 mM sob deficiência de Pi. Níveis de Pi no cloroplasto em torno de 2 e 2,5 mM, são essenciais à obtenção de taxas ótimas de fotossíntese, concentrações abaixo de 1mM inibem o processo. Em condições não limitantes de Pi, os vacúolos estocam 85-95% do Pi total

celular, que funciona como tampão para flutuações no Pi livre citoplasmático. Este mecanismo evita alterações no metabolismo e protege a célula de respostas adaptativas mais caras energeticamente durante as alterações de curta duração nos níveis de Pi no solo.

Por ser um nutriente móvel na planta, os sintomas de deficiência de Pi surgem nas folhas velhas. Sintomas visuais consistem em: redução na expansão, na área e no número de folhas; coloração verde mais escura, porque a expansão da folha é mais lenta que as formações da clorofila e dos cloroplastos; drástica redução na relação parte aérea/raízes; senescência precoce de folhas; atraso na formação dos órgãos reprodutivos e no início da floração e diminuição dos números de flores e sementes.

A deficiência de Pi inicia uma série de modificações fisiológicas e bioquímicas para aumentar a sobrevivência das plantas nessa condição (Raghothama, 2000). Essas alterações, em adição a modificações na arquitetura, permitem às plantas conviverem com a deficiência deste nutriente (Plaxton & Carswell, 1999).

2.3. Tolerância à deficiência de Pi

O termo tolerância em plantas pode ser definido como a capacidade de suportar uma condição adversa ao desenvolvimento normal, ou seja, a ocorrência de estresses abióticos. Um genótipo tolerante à deficiência de Pi é aquele que possuiu a capacidade de, mesmo sob baixa disponibilidade deste nutriente, manter o crescimento e o desenvolvimento similares aos obtidos em uma condição nutricional considerada ideal. Um genótipo sensível por outro lado, é aquele que em condição de baixa disponibilidade de Pi apresenta redução no crescimento e desenvolvimento quando comparado ao seu comportamento sob alta disponibilidade deste nutriente.

A tolerância à deficiência de Pi pode ser devida à quantidade deste mineral utilizada para as reações bioquímicas da planta, à redistribuição para os pontos de crescimento, à mobilização do P armazenado nos vacúolos (Gerloff & Gabelman, 1983), ao tamanho do sistema radicular, à capacidade de aquisição ou à taxa de absorção de Pi por unidade de comprimento radicular (Fernandes, 2001). Do ponto de vista fisiológico, a tolerância se deve à eficiência nutricional, ou seja, refere-se à habilidade do genótipo em absorver o nutriente do solo, distribuí-lo e utilizá-lo internamente na produção de massa seca (Goddard & Hollis, 1984). Estas habilidades são definidas por fatores morfológicos e fisiológicos e pela demanda nutricional da planta (Marschner, 1995).

Em termos práticos, quando o suprimento de Pi do solo é baixo, genótipos com maior capacidade de aquisição, absorção, translocação e conversão de P à massa seca são de grande interesse. Muitos trabalhos demonstraram a variabilidade existente entre espécies e entre cultivares com relação à tolerância à deficiência de Pi. Diferenças entre cultivares de trigo, por exemplo, foram determinadas por diversos autores (Miranda, 1985; Rosa & Camargo, 1990; Soon, 1992 e Abichequer e Bohnen, 1998).

Em função da necessidade de aumento da produção de grãos, visando suprir as demandas alimentares da crescente população mundial, e da crescente escassez das reservas de fósforo, faz-se necessário o desenvolvimento de cultivares mais tolerantes à deficiência deste nutriente com objetivo de minimizar a necessidade de adubação e o custo de produção das lavouras sem que haja redução no rendimento (Abichequer e Bohnen, 1998).

Os fatores envolvidos na tolerância à deficiência de Pi podem ser separados em três grupos: a) capacidade de aquisição de P, b) eficiências de absorção e c) eficiência de uso deste nutriente internamente.

2.3.1 Capacidade de aquisição de fósforo

A capacidade de aquisição de P do solo está relacionada à habilidade da planta em modificar seu sistema radicular, aumentando a superfície de contato raiz-solo e o volume de solo explorado e, em acessar o P que se encontra associado a outros íons ou imobilizado na matéria orgânica.

Raízes mais longas e finas desenvolvem maior superfície de absorção por unidade e por volume de raiz, explorando maior volume de solo, devido à característica de fluxo radial dos nutrientes. A redução da disponibilidade de Pi induz alterações na arquitetura de raiz, causando redução da raiz principal e maior produção de raízes laterais. Os pêlos radiculares são responsáveis pela absorção de cerca de 60% do Pi absorvido em condições de limitação deste nutriente (Gahoonia & Nielsen, 1998), quando se observa aumento no número e no comprimento destes. Essas modificações aumentam a razão da área de superfície de raiz pelo seu volume, produzindo um sistema radicular mais raso e ramificado (Lynch, 1995; Ma et al., 2001). Tipicamente, a disponibilidade de Pi é maior na camada superficial de solos cultivados e nos horizontes superficiais de solos nativos (Lynch & Brown, 1998).

Em algumas espécies, exemplos extremos são encontrados, como a formação na raiz de regiões, com alta densidade de radículas de crescimento determinado e com grande número de pêlos (raízes proteóides), especializadas na síntese e na secreção de ácidos orgânicos (Tadano & Sakai, 1991).

A associação com micorrizas auxilia na aquisição de P em solos que apresentam baixos teores deste e alta capacidade de imobilização de suas formas solúveis (Rausch et al., 2001). O micélio externo do fungo se espalha e se ramifica no solo, aumentando a

superfície de absorção do sistema radicular (Manjunath & Habte, 1990). No entanto, nem todas as espécies vegetais são capazes de desenvolver estas associações.

A aquisição de P ligado a íons, como cálcio, ferro e alumínio é possibilitada pelo aumento da secreção de ácidos orgânicos pelas raízes, os quais ligam-se a estes outros íons liberando Pi. Acredita-se que o incremento da secreção requer aumento na atividade de enzimas relacionadas com a síntese de ácidos orgânicos, incluindo a fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPC), a citrato sintase (CS) e a malato desidrogenase (MDH) (Watt & Evans, 1999). A sinergia desses eventos incrementou em até 20 vezes a absorção de Pi em tremoço (Jones, 1998).

O P presente em compostos orgânicos no solo pode ser obtido a partir da secreção de enzimas hidro e nucleolíticas. A principal classe de enzimas envolvida no processo de quebra de organofosfatos é a das fosfatases ácidas, mas ribonucleases e dnases também são secretadas em resposta a deficiência de Pi (Green, P.J., 2002) Outra classe de enzimas nucleolíticas secretadas pelas plantas é a das fosfodiesterases (Abel et al., 2000).

Estas modificações arquitetônicas e bioquímicas permitem o acesso a P anteriormente indisponível no solo, podendo ser uma forma das plantas, com as mesmas quantidades de Pi no solo, obterem maior quantidade deste nutriente e apresentarem um fenótipo tolerante.

2.3.2 Eficiência de absorção

A eficiência de absorção pode ser entendida como a quantidade de Pi absorvido por unidade de raiz. A quantidade e a cinética dos transportadores de Pi nas células radiculares são os fatores principais no estabelecimento do grau de eficiência de um genótipo. Há dois tipos de transportadores de Pi com cinéticas bastante diferentes, os de

alta e os de baixa afinidade com Pi. Os transportadores de Pi de alta afinidade estão bem caracterizados em *Arabidopsis thaliana*, onde entre os transportadores estudados encontram-se os da família *Ph1* e *Ph2* (Bucher et al., 2001). Todos os 17 membros de *Ph1* são expressos em raízes, sendo 11 expressos exclusivamente nas raízes e pelo menos, 12 são induzidos nas raízes em resposta à limitação de Pi (Muchal et al., 1996; Liu et al., 1998; Daram et al., 1999). Apenas um transportador de Pi com cinética de baixa afinidade foi identificado até o momento, pertencendo à família *Ph2*, o qual não é expresso em tecido radicular (Daram et al., 1999). Entretanto, sugere-se que os transportadores com baixa afinidade permanecem com atividade inalterada, sejam expressos constitutivamente e operem sob elevadas concentrações de Pi disponíveis (Furihata et al., 1992).

È possível que alguns destes genes estejam sendo expressos ou regulados de forma mais eficiente, ou que apresentem cinética diferenciada nos cultivares tolerantes à deficiência de Pi, induzindo maior absorção deste nutriente pelas plântulas em condições de limitação. Maior eficiência de absorção poder conferir tolerância se for manifestada sob baixa disponibilidade de Pi (Lindgren et al., 1977). Porém, é necessário ressaltar que a maior eficiência de absorção sob alta disponibilidade de Pi, nem sempre se correlaciona com maior eficiência sob limitação, portanto podendo não conduzir a tolerância.

Outro ponto a ser destacado é que devido à interação entre os mecanismos das plantas envolvidos com tolerância ao Al tóxico e à deficiência de Pi, fatores de transcrição que possuam atividade em um destes mecanismos, também podem estar envolvidos no outro. Em trabalho realizado com a cultivar de trigo Toropi, Boff (2006) identificou uma seqüência diferencialmente expressa em resposta a exposição ao Al³⁺, denominada AluTr13, que apresentou similaridade com o gene que codifica um fator de transcrição

do tipo bHLH (do inglês, *basic Helix-Loop-Helix*). Como a relação entre as respostas ao Al^{3+} e ao P é muito estreita, existe possibilidade deste gene também estar envolvido na tolerância à deficiência de Pi pela plântula. A maioria dos genes identificados por Boff (2006) corresponde a genes envolvidos em processos fisiológicos já descritos como sendo alvo de toxicidade de Al^{3+} ou de processos que levam à tolerância, no entanto, nada se sabe sobre qual seria o “gene gatilho”. Nesse sentido, segundo Boff (2006), a seqüência AluTr13, expressa pelo genótipo Toropi pode ser considerada como o gene candidato para ativação dos mecanismos de respostas a Al^{3+} , iniciando o processo aclimatatório.

2.3.3 Eficiência de uso de Pi

A eficiência de uso de um nutriente pode ser definida como quantidade de massa seca produzida pela planta por unidade de nutriente no tecido (Lauchli, 1987). A eficiência de uso pode estar relacionada com a capacidade de reciclagem interna deste nutriente, com o desenvolvimento de rotas alternativas, capacidade de transporte no xilema e alocação do mesmo na planta (Graham, 1984) em condições de baixa disponibilidade do mesmo.

A produção de fosfatases intracelulares é considerada parte integrante da resposta bioquímica das plantas à falta de Pi. Estas enzimas liberam Pi de organofosfatos (Duff et al., 1994). Há evidências que as ribonucleases vacuolares induzidas pela deficiência de Pi também atuam como enzimas recicladoras (Löffler et al., 1992; Abel et al., 1990). Com isso, o Pi é remobilizado das folhas mais velhas.

Durante o estresse por deficiência de Pi, reduzem-se os níveis de ATP e de nucleotídeos e as enzimas que não requerem nucleotídeos fosfatados ou fósforo como substrato, são ativadas. Severas limitações de Pi podem desencadear rotas alternativas

em reações dependentes desse elemento e de adenilato na rota respiratória (Plaxton & Carswell, 1999). Os níveis de pirofosfato (PPI) são mantidos durante a deficiência de Pi e podem servir como doadores energéticos alternativos. A composição da membrana lipídica também é alterada sendo os fosfolipídios substituídos por galactolipídios e sulfolipídios nas membranas celulares (Härtel et al., 1999).

A capacidade de translocação de Pi para a parte aérea condiciona seu suprimento aos sítios fotossinteticamente ativos da planta. Segundo Marschner (1995), essa translocação é influenciada pelo estado nutricional das células da raiz (plantas deficientes retêm mais Pi na raiz), pela taxa de transpiração das variedades e pela tolerância ao alumínio (precipita fósforo na raiz). A intensidade da redistribuição nos tecidos vegetais para uso interno pode ser o fator principal na aquisição da tolerância (Whiteaker et al., 1976), proporcionando maior síntese de biomassa (Clarkson e Hanson, 1980).

Nas culturas do sorgo e do trigo tem sido sugerido que a tolerância à deficiência de Pi é devida a eficiência na utilização, estando vinculada à maior capacidade de redistribuição interna (Wieneke, 1990; Horst et al., 1993).

Plantas sob limitação de Pi transportam pouco Pi por grama de massa fresca de raízes para a parte aérea, enquanto plantas com nível interno elevado de Pi transportam numa proporção bem maior, apesar das $V_{m\acute{a}x}$ de absorção terem sido mais elevadas para as plantas com estresse de Pi, sugerindo, portanto, um controle regulatório (Martinez et al., 1993).

2.4. Metodologias para diferenciação de genótipos quanto à tolerância à deficiência de Pi

A diferenciação de genótipos de trigo e outros cereais quanto à tolerância à deficiência de Pi é realizada, atualmente, em solo, seja a campo ou em casa de vegetação (Freitas et al., 1999; Cock et al., 2003; Camargo & Ferreira, 2005; Lana et al., 2006). As características avaliadas neste processo são, principalmente, afilhamento, peso seco de raízes e parte aérea e rendimento de grãos. Este método possui duas limitações principais que são a complexidade de se encontrar solo adequado para realização do experimento e o tempo necessário para realizar as determinações que diferenciarão os genótipos quanto à tolerância à deficiência de P.

O primeiro desafio que surge, para a avaliação sob condições de solo, é a escolha da área a ser utilizada na condução dos ensaios que visam a diferenciação de genótipos. As áreas selecionadas devem apresentar baixo teor de Pi, o que é relativamente comum, tendo em vista que aproximadamente 80% dos solos agricultáveis no mundo apresentam teores considerados baixos para desenvolvimento da maioria das culturas (Sanchez e Salinas, 1981; Novais e Barros, 1997). No entanto, o solo selecionado deve possuir baixo teor de alumínio (Al^{3+}) e baixa acidez, para que não haja complexação do Pi aplicado ao mesmo. O Al^{3+} afeta a absorção de fósforo diretamente pela precipitação de fosfato de alumínio no solo, na superfície da raiz (Gerzabek & Edelbauer, 1986) ou no Espaço Livre Aparente (Wright, 1943; Foy, 1974; Calbo & Cambraia, 1980), impedindo-o de participar de processos de transferência de energia. O Espaço Livre Aparente é constituído pelo Espaço Livre Aquoso, que é facilmente acessado por íons, e pelo Espaço Livre de Donnan, onde ocorrem a troca catiônica e a repulsão aniônica (Machado, 1997).

Além destes aspectos, o solo deve ser homogêneo, o que é bastante difícil em se tratando do nutriente P, que devido à baixa mobilidade tem por característica a formação de zonas ricas e outras regiões sem a presença deste nutriente mesmo em pequenos volumes de solo. Ao se selecionar o solo, este é muitas vezes coletado numa camada de 20 cm e levado à casa de vegetação onde são realizados testes pilotos para correção e determinação de sua adequação para realização de experimentos desta natureza (Ismail, pesquisador do IRRI, Comunicação Verbal, 2006). Quando o solo é definido, este é utilizado por seis a sete anos e descartado. Todo este processo requer muita mão-de-obra e tempo, tendo, portanto, custo muito elevado.

Outro ponto importante a ser abordado relaciona-se às características avaliadas nestes experimentos. As características como peso seco de raiz e parte aérea e perfilhamento, entre outras, são obtidas em estádios já bem adiantados no desenvolvimento da cultura, sendo muito afetadas pelo ambiente.

Apesar da grande complexidade na sua execução, a metodologia descrita acima apresenta resultados satisfatórios na diferenciação de genótipos contrastantes na tolerância à deficiência de Pi. Entretanto, devido às dificuldades e ao tempo necessário para obtenção de dados no sistema atual, faz-se necessário o estudo e o desenvolvimento de metodologias que possam diferenciar genótipos em menor tempo, utilizando menor mão-de-obra e com menores custos operacionais.

Uma alternativa que surge para minimizar estas dificuldades é o uso da hidroponia. Esta técnica vem sendo utilizada na identificação de genótipos de aveia (Sánchez-Chacón et al., 2001, Dornelles et al., 1997) e de trigo (Camargo & Oliveira, 1981) mais tolerantes ao Al tóxico e insensíveis ao ácido giberélico. Ela permite a imediata observação dos danos causados pelo Al^{3+} pela inibição do re-crescimento da raiz, evitando os inconvenientes de uso do solo onde a intensidade de seleção não pode

ser quantitativamente controlada. A intensidade do estresse é melhor controlada pois tanto a força iônica da solução hidropônica quanto a disponibilidade de íons capazes de se ligarem ao Al, especialmente o Pi, podem ser controladas.

Alguns grupos de pesquisa como o IRRI (International Rice Research Institute), das Filipinas, vêm procurando desenvolver uma metodologia que permita diferenciar genótipos de arroz quanto à sua eficiência na aquisição de P do solo com uso de hidroponia. Até o momento, não foi possível definir os procedimentos para se alcançar este objetivo (Ismail, pesquisador do IRRI, Comunicação Verbal, 2006).

Para se definir uma estratégia para obtenção de genótipos mais tolerantes à deficiência de P é necessária a identificação dos mecanismos específicos utilizados pelos genótipos tolerantes à deficiência de P e dos genes envolvidos na aclimação da planta a condições de baixa disponibilidade deste nutriente no solo. Este conhecimento facilitará a seleção de pais no programa de melhoramento, uma vez que mecanismos diferentes poderão ser incluídos buscando piramidização destes em um cultivar.

Para que este objetivo seja cumprido, é necessário, primeiramente, o desenvolvimento de uma metodologia de identificação de genótipos tolerantes à deficiência de Pi e que seja expedita. Com esta ferramenta em mãos, a seleção dos genótipos tolerantes à deficiência de Pi poderá ser feita de maneira mais rápida, em estádios iniciais de desenvolvimento da planta, facilitando e acelerando todo o processo de melhoramento, seja pelo método convencional ou pelo uso da biologia molecular.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram realizados nos Laboratórios de Fisiologia Vegetal e Biologia Molecular Vegetal, do Departamento de Plantas de Lavoura, da Faculdade Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, nos anos de 2005 e 2006.

Para atingir os objetivos propostos foram realizados três estudos com plântulas de trigo em solução hidropônica. No primeiro, foi testado o efeito da retirada do endosperma da semente após a germinação sobre o comportamento de plântulas de trigo sob baixos níveis de P na solução nutritiva. Além disto, neste mesmo estudo, avaliou-se duas épocas de coleta das plântulas de trigo. No segundo estudo, foram utilizadas diferentes doses de P em solução nutritiva, e dois cultivares de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de P em condições de campo. No terceiro estudo foi avaliado o comportamento de linhagens recombinantes oriundas do cruzamento dos pais contrastantes usando a metodologia do segundo estudo, como forma de testar a repetibilidade da análise, uma vez que as linhagens recombinantes contrastam em relação aos mesmos mecanismos de tolerância que os pais, mas são mais similares para outras características.

3.1. Genótipos testados

O material vegetal utilizado foram os cultivares de trigo Anahuac e Toropi, contrastantes quanto à tolerância à deficiência de P no solo, sendo a Anahuac

considerada sensível e a Toropi tolerante. Além destes dois cultivares, também foram utilizadas cinco linhagens recombinantes (F_6) oriundas do cruzamento das mesmas. Estas foram selecionadas com base no seu comportamento em condições de campo, sob baixa e alta disponibilidade de P (Apêndice 1), em ensaio realizado pelo Engenheiro Agrônomo, PhD., Euclides Minella, pesquisador da EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Trigo.

3.2. Condições de crescimento e coleta das plântulas e determinações realizadas

O método empregado para crescimento de plântulas foi o descrito por Camargo & Oliveira (1981), que foi utilizado em trigo por Dornelles (1994) com poucas modificações.

As sementes de tamanho similar foram levadas à geladeira à temperatura de, aproximadamente, 8°C, com objetivo de superar a dormência e uniformizar a germinação. Na seqüência, as sementes foram colocadas em papel especial para germinação, umedecido com água destilada e levadas a BOD a 25°C, permanecendo por, aproximadamente, 72 horas, até à emissão da radícula.

Dez sementes germinadas, com tamanho similar de radícula, foram distribuídas a uma distância aproximada de 2 cm sobre uma tela de plástico adaptada à tampa de um recipiente plástico de 3,0 L de capacidade, contendo solução nutritiva completa ou com limitação de P, cuidando-se para que as raízes ficassem em contato permanente com a solução. Nos Estudos II e III, realizou-se a retirada do endosperma, em todos os tratamentos, já no Estudo I, a retirada do endosperma foi realizada apenas em dois dos quatro experimentos que compuseram este estudo. A retirada do endosperma da

semente foi realizada na transferência das plântulas do papel germinador para os recipientes com solução nutritiva.

Os recipientes contendo as soluções foram colocados em tanques banho-maria, nos quais a água foi mantida à temperatura de 20°C com auxílio de resistências adaptadas ao tanque e de condicionador de ar. As condições de luz foram mantidas constantes e os recipientes contendo a solução foram ligados a um sistema de oxigenação (Figura 1-A e 1C). A solução nutritiva completa foi trocada aos cinco dias da condução de cada experimento e foi composta por: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 4mM; MgSO_4 - 2mM; KNO_3 - 4mM; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 0,435 mM; MnSO_4 - 2 μM ; CuSO_4 - 0,3 μM ; ZnSO_4 - 0,8 μM ; NaCl - 3 μM ; Fe-Geo Fe6 0,9 μM ; Na_2MoO_4 - 0,10 μM e H_3BO_3 - 10 μM .

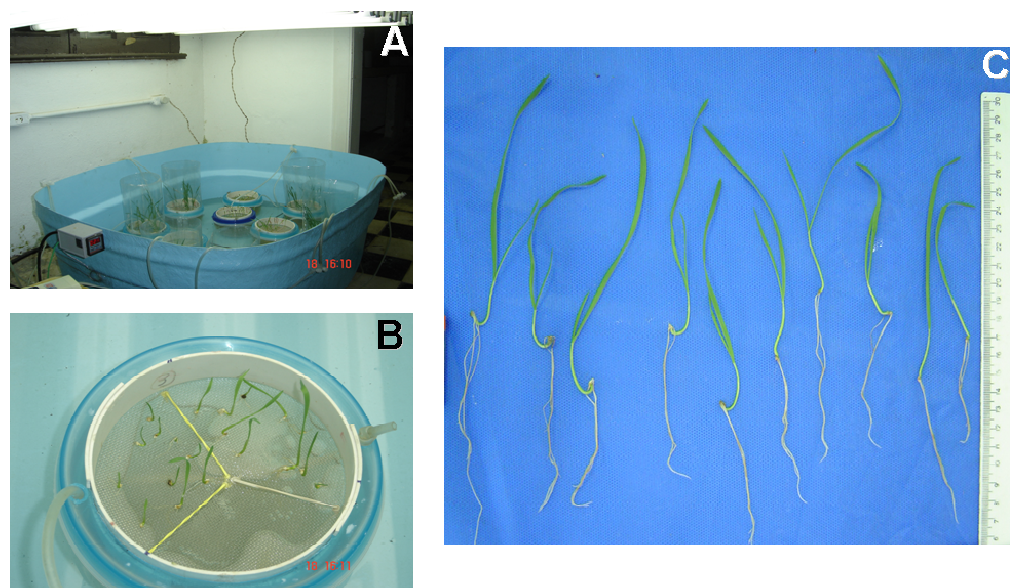


FIGURA 1. Fotos do experimento: a) Visão geral do controle de temperatura, da iluminação e da aeração mantidas constantes durante todo o experimento; b) plântulas no recipiente de crescimento aos cinco dias após a germinação; c) plântulas aos dez dias após a germinação sem o endosperma, na ocasião da coleta.

Dez plântulas por repetição foram coletadas dos recipientes e levadas até uma superfície azul, onde foram fotografadas com máquina digital (Figura 1-B).

As determinações realizadas nos três estudos foram as seguintes: peso seco de raízes e parte aérea, razão peso seco de raízes/parte aérea, teor (concentração) e quantidade de Pi livre nas raízes e na parte aérea e eficiências de absorção e translocação de fósforo.

Para a determinação do peso seco de raízes e parte aérea as plântulas foram seccionadas na ocasião da coleta (10 por repetição), foram secas em estufa de ventilação forçada, a 60°C por 48 horas e pesadas em balança de precisão. Os valores de peso seco foram obtidos a partir da média das plântulas coletadas por repetição. A razão peso seco de raízes/parte aérea foi obtida pela divisão entre os pesos secos de raízes e parte aérea. Já para o cálculo do teor fosfato livre (Pi) nas raízes e na parte aérea as plântulas foram seccionadas em raiz e parte aérea, colocadas em estufa sob temperatura de 60°C até estabilização do peso, maceradas e pesadas. Para análise de Pi livre, aplicou-se a metodologia de AMES (1966). A extração de Pi livre foi realizada em 0.5 ml de TCA 10% (ácido tri-cloro-acético), durante 30 minutos sob temperatura de 4°C. Alíquotas do extrato foram retiradas, acrescentando-se a elas um mix oxi-redutor contendo molibdato de amônio 0,42 % em 1N de H₂SO₄ e ácido ascórbico 15 % (6:1 – v/v). Após uma hora sob temperatura de 37°C, avaliou-se a absorbância em espectrofotômetro ultravioleta-visível, modelo Spectronic Gênesis II, na faixa de 820nm, comparando-se com a curva calibrada (0-1µM de KH₂PO₄). As quantidades de Pi livre nas raízes e parte aérea foram calculadas pela multiplicação do teor de Pi livre obtido pelo peso seco respectivo de cada parte da plântula. A quantidade total de Pi livre foi obtida pela soma das quantidades de Pi obtidas nas raízes e na parte aérea. A eficiência de absorção de P foi obtida pela razão entre a quantidade de Pi livre total e o peso seco de raízes. A

eficiência de translocação de P foi obtida pela razão entre as quantidades de Pi livre na parte aérea e a total na plântula.

Nos três estudos foi utilizado o delineamento blocos completamente casualizados, sendo que, no segundo estudo, eles foram dispostos em fatorial 2x4 e, no terceiro, em fatorial 7x4. Nos três estudos utilizaram-se três repetições. Cada repetição constou da coleta de dez plântulas.

O Estudo I foi composto de quatro experimentos, todos eles seguiram o mesmo delineamento experimental de blocos casualizados e foram analisados de maneira independente.

Na análise estatística, nos três estudos utilizou-se o programa estatístico SAS (*Statistical Analysis System*), sendo os dados obtidos submetidos à análise de variância pelo F teste. A comparação entre médias foi realizada pelo teste Duncan, em nível de 5% de probabilidade.

As doses de P utilizadas na solução nutritiva, as épocas de realização das coletas e os genótipos testados variaram nos três estudos e serão descritos a seguir.

3.3. Estudo I - Efeito da retirada do endosperma da semente no desenvolvimento inicial de plântulas de trigo em resposta a presença e ausência de fósforo em solução nutritiva

Este estudo constituiu da realização de quatro experimentos, em todos eles foi contrastado o efeito da ausência de fósforo e o de baixa disponibilidade deste (10 μ M) sobre as características de planta acima descritas. Nos experimentos I e III o endosperma foi removido após a germinação enquanto nos experimentos II e IV este foi mantido. Nos experimentos I e II as análises foram realizadas cinco dias após a transferência para a hidroponia, e nos demais aos dez dias (Tabela 1).

O cultivar de trigo utilizado nos quatro experimentos foi o Anahuac, sensível à deficiência de Pi em experimentos conduzidos em solo. Este foi escolhido baseado na premissa de que sendo menos tolerante à deficiência de Pi, responderia de maneira mais evidente a presença deste nutriente na solução nutritiva.

TABELA 1. Genótipo, concentrações de fosfato (Pi) na solução nutritiva, manutenção ou remoção do endosperma e data de coleta e análise dos dados nos experimentos I, II, III e IV do Estudo I.

Experimento	Genótipo	Concentrações de Pi	Manutenção do endosperma	Data de coleta e análise
I	Anahuac	0 e 10 μM	Não	Cinco dias
II	Anahuac	0 e 10 μM	Sim	Cinco dias
III	Anahuac	0 e 10 μM	Não	Dez dias
IV	Anahuac	0 e 10 μM	Sim	Dez dias

3.4. Estudo II - Diferenciação em hidroponia de genótipos de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de P a campo

Neste estudo, que compreendeu a execução de um experimento, foram utilizados dois cultivares contrastantes quanto à tolerância à deficiência de P no solo, Toropi e Anahuac.

Os tratamentos consistiram de dois cultivares de trigo, três concentrações de Pi em solução nutritiva (10, 30 e 1000 μM) e um tratamento controle negativo, sem aplicação de Pi na solução nutritiva. A coleta das plântulas foi realizada aos 10 dias após a germinação, seguindo a metodologia descrita no item 3.2. As condições de crescimento das plântulas foram as mesmas descritas nesse item.

3.5. Estudo III - Validação do uso de hidroponia para identificação de genótipos de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de fósforo em linhagens recombinantes

Neste estudo foram testadas os mesmos cultivares do Estudo II e mais cinco linhagens recombinantes F₆ obtidas do cruzamento dos cultivares Toropi, considerado tolerante a deficiência de P, e Anahuac, sensível. Estes genótipos foram selecionados com base no seu comportamento em solo, sob condições de baixa e alta disponibilidade de P, em ensaio realizado pelo Engenheiro Agrônomo, PhD., Euclides Minella, pesquisador da EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, em Passo Fundo-RS (Apêndice 1). Destas linhagens, duas foram selecionadas pela similaridade no seu comportamento em solo com o cultivar Anahuac (NYW 865-034, NYW 865-073) e três pela similaridade ao cultivar Toropi (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086). A similaridade dos genótipos diz respeito à razão das características peso seco da parte aérea na antese e na maturação, peso seco de raízes na maturação, sob condições de baixa e alta disponibilidade de P em solo sob condições de casa de vegetação (Apêndice 1).

Os tratamentos constaram de sete genótipos de trigo (dois cultivares e cinco linhagens) e de três concentrações de Pi em solução nutritiva (10, 30 e 1000 μM) e de um tratamento como controle negativo, sem aplicação de Pi. A coleta das plântulas foi realizada aos 10 dias após a germinação, seguindo a metodologia descrita no item 3.2.

Neste estudo a temperatura do ar foi mais elevada do que nos outros dois estudos (20°C), ficando em torno de 26°C.

4. RESULTADOS

Os resultados serão descritos separadamente para cada um dos três estudos, sendo apresentados na ordem cronológica de sua obtenção.

4.1. Estudo I – Efeito da retirada do endosperma da semente no desenvolvimento inicial de plântulas de trigo em resposta a presença e ausência de fósforo em solução nutritiva

4.1.1. Pesos seco de raízes, parte aérea e razão peso seco de raízes/parte aérea

O crescimento, que representa o incremento de massa seca, pode ser afetado pelos níveis de fósforo disponíveis à plântula e está inicialmente relacionado às reservas existentes nas sementes. Assim, foram avaliados os pesos secos de raízes e parte aérea em resposta a dois níveis de disponibilidade de fósforo em plântulas intactas e em plântulas nas quais o endosperma da semente foi removido após a germinação.

O efeito da presença de fósforo na solução nutritiva no peso seco de raízes e na razão peso seco de raízes/parte aérea foi observado apenas no experimento onde se realizou a retirada do endosperma da semente, na avaliação realizada aos cinco dias após a germinação (Tabelas 2 e 3 e Figura 2). O peso seco de raízes aumentou, no

experimento com remoção do endosperma na dose de 10 μM de P em relação ao tratamento sem aplicação de P, aos cinco dias após a germinação.

De uma maneira geral, os pesos secos de raízes e parte aérea foram menores nos dois experimentos em que o endosperma foi retirado, quando comparados aos dois experimentos em que não houve remoção do mesmo, tanto na avaliação realizada aos cinco como aos 10 dias após a germinação (Figura 2). Não houve efeito da dose de P em solução nutritiva sobre o peso seco da parte aérea em nenhum dos quatro experimentos (Tabela 2 e 3).

TABELA 2. Coeficientes de variação e probabilidade das variáveis avaliadas no Estudo I, com e sem fósforo (P) na solução nutritiva, nos experimentos com e sem retirada do endosperma da semente do cultivar de trigo Anahuac, na avaliação realizada aos cinco dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2005.

Variáveis	Com retirada do endosperma		Sem retirada do endosperma	
	CV ¹ (%)	Doses de P (p ²)	CV (%)	Doses de P (p)
Peso seco das raízes	20,6	0.0377*	16,0	0.7671 ^{ns}
Peso seco da parte aérea	15,6	0.1125 ^{ns}	4,5	0.3337 ^{ns}
Razão peso seco raízes/parte aérea	26,9	0.0477*	12,8	0.7671 ^{ns}
Teor de Pi nas raízes	36,5	0.0460*	62,0	0.0475*
Teor de Pi na parte aérea	12,2	0.1620 ^{ns}	35,3	0.1209 ^{ns}
Quantidade de Pi nas raízes	41,2	0.0435 ^{ns}	70,8	0.2288 ^{ns}
Quantidade de Pi na parte aérea	12,8	0.1086 ^{ns}	38,5	0.1598 ^{ns}
Quantidade total de Pi na plântula	10,4	0.0671 ^{ns}	44,7	0.1768 ^{ns}
Eficiência de absorção de Pi	29,2	0.9464 ^{ns}	36,1	0.1116 ^{ns}
Eficiência de translocação de Pi	18,7	0.3976 ^{ns}	4,2	0.3141 ^{ns}

¹Coeficiente de variação;

²Probabilidade;

*Significativo pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade;

^{ns}Não significativo.

TABELA 3. Coeficientes de variação e probabilidade das variáveis avaliadas no Estudo I, com e sem fósforo (P) na solução nutritiva, nos experimentos com e sem retirada do endosperma da semente do cultivar de trigo Anahuac, na avaliação realizada aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2005.

Variáveis	Com retirada do endosperma		Sem retirada do endosperma	
	CV ¹ (%)	Doses de P (p ²)	CV (%)	Doses de P (p)
Peso seco de raízes	14,7	0.1946 ^{ns}	9,0	0.2390 ^{ns}
Peso seco da parte aérea	18,3	0.1430 ^{ns}	11,8	0.4704 ^{ns}
Razão peso seco raízes/parte aérea	19,7	0.5685 ^{ns}	9,3	0.1114 ^{ns}
Teor de Pi nas raízes	39,9	0.0407*	46,12	0.3270 ^{ns}
Teor de Pi na parte aérea	11,6	0.0358*	41,11	0.3795 ^{ns}
Quantidade de Pi nas raízes	36,0	0.0565 ^{ns}	43,1	0.2378 ^{ns}
Quantidade de Pi na parte aérea	3,0	0.0150*	30,8	0.2291 ^{ns}
Quantidade total de Pi na plântula	5,9	0.0306*	29,8	0.3041 ^{ns}
Eficiência de absorção de Pi	23,2	0.0446*	36,0	0.2408 ^{ns}
Eficiência de translocação de Pi	5,1	0.6639 ^{ns}	6,1	0.1821 ^{ns}

¹Coeficiente de variação;

²Probabilidade;

*Significativo pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade;

^{ns}Não significativo.

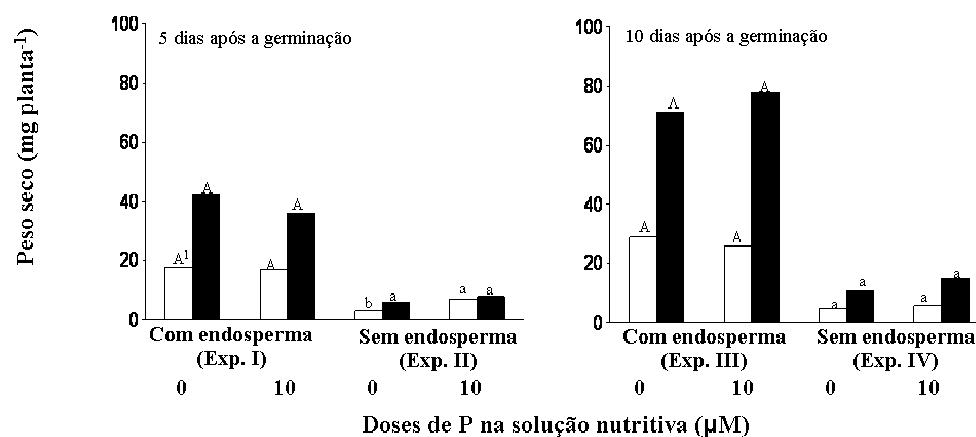


FIGURA 2. Peso seco de raízes (branco) e de parte aérea (preto) do cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.

¹Nas colunas médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparação entre níveis de P, sem a retirada do endosperma da semente) ou pela letra minúscula (comparação entre níveis de P, com a retirada do endosperma da semente) não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

A alometria da plântula tende a alterar-se com as modificações na disponibilidade de P. Em função disto, verificou-se se era possível identificar mudanças neste parâmetro após curtos períodos de crescimento. Somente no experimento com remoção do endosperma da semente, na coleta realizada aos cinco dias, a razão peso seco de

raízes/parte aérea aumentou com a aplicação da dose de 10 μM em relação ao tratamento sem aplicação de P em solução nutritiva. Nos outros três experimentos, não houve diferença para esta característica (Tabelas 2 e 3 e Figura 3).

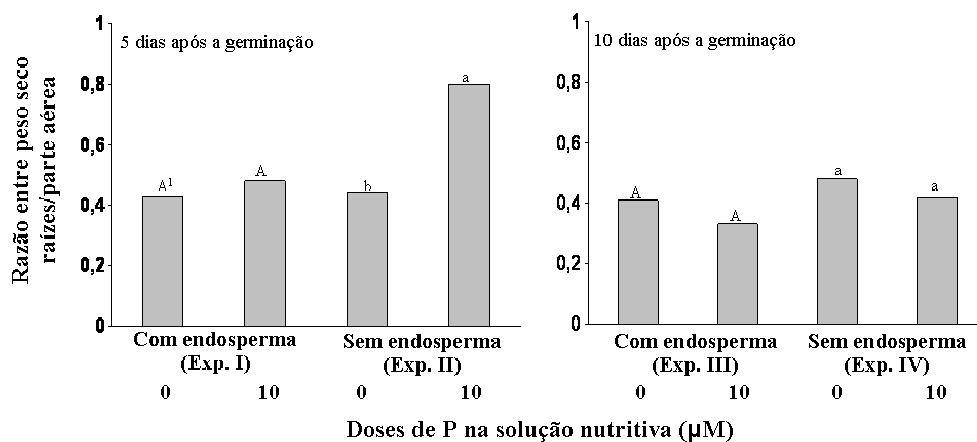


FIGURA 3. Razão entre peso seco raízes/parte aérea no cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.

¹Nas colunas, dentro de cada experimento, médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparação entre níveis de P, sem a retirada do endosperma da semente) ou pela letra minúscula (comparação entre níveis de P, com a retirada do endosperma da semente) não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

4.1.2. Teor e quantidade de fosfato livre (Pi) nas raízes e na parte aérea

As determinações do teor e quantidade de Pi livre nas raízes e na parte aérea são necessárias uma vez que o tempo de desenvolvimento das plântulas é curto e, em função disto, as diferenças fenotípicas entre as plantas podem não se manifestar. Desta forma, o efeito de doses aplicadas de Pi na solução pode ser mais evidente pelas avaliações dos valores deste nutriente na plântula.

O teor de Pi livre nas raízes foi alterado significativamente pela aplicação de P na solução nutritiva nos dois experimentos com retirada do endosperma da semente e no experimento sem retirada do endosperma, na avaliação realizada aos cinco dias após a germinação (Tabelas 2 e 3 e Figura 4). De modo geral, o teor de Pi livre na parte aérea foi superior ao das raízes. Na coleta realizada aos cinco dias, o comportamento das plântulas quanto ao teor de Pi livre nas raízes foi similar nos experimentos com e sem remoção do endosperma da semente, havendo aumento no teor com a aplicação da dose de P de 10 μM na solução nutritiva em relação ao tratamento sem aplicação deste nutriente. Já para a coleta realizada aos 10 dias, houve aumento do teor de Pi livre com a aplicação de 10 μM de P na solução nutritiva apenas no experimento com remoção do endosperma.

O teor de Pi livre na parte aérea foi afetado pelas doses de P na solução nutritiva apenas quando o endosperma foi retirado e a coleta realizada aos 10 dias após a germinação (Tabelas 2 e 3 e Figura 4).

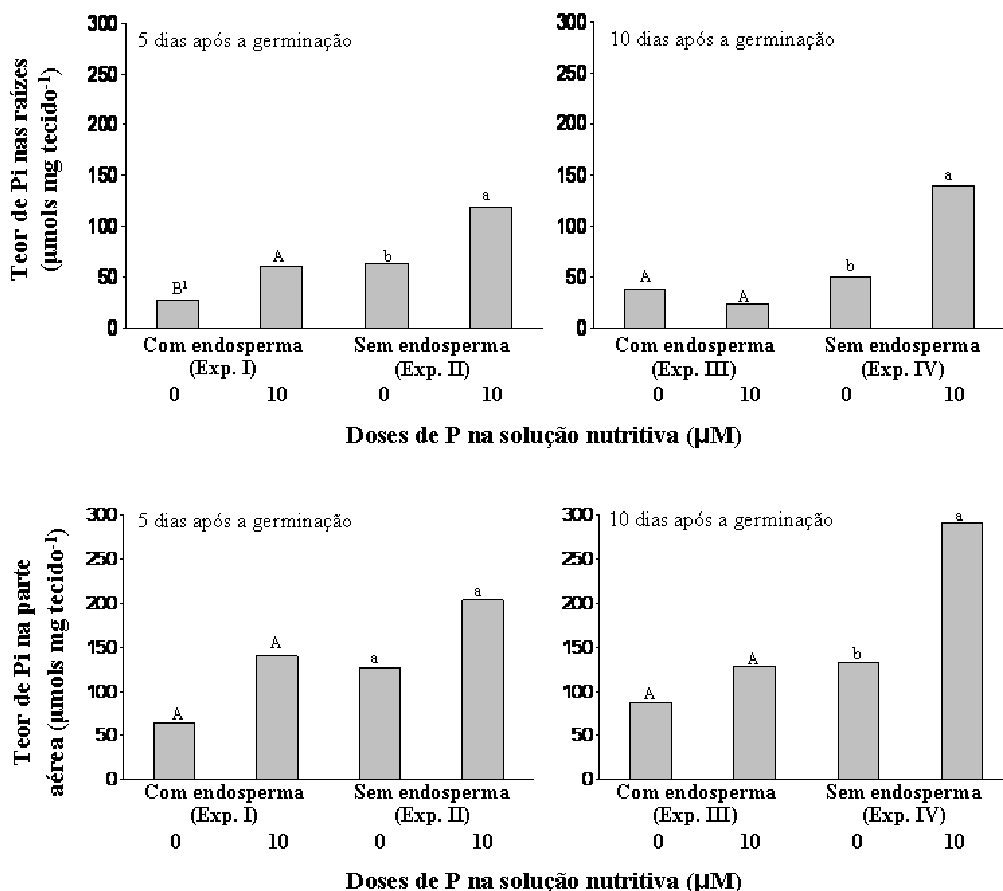


FIGURA 4. Teores de fosfato livre (Pi) nas raízes e na parte aérea no cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.

¹Nas colunas médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparação entre níveis de P, sem a retirada do endosperma da semente) ou pela letra minúscula (comparação entre níveis de P, com a retirada do endosperma da semente) não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando que o teor de Pi nos tecidos relaciona-se indiretamente com o crescimento, foi calculada a quantidade total de Pi livre nos tecidos.

Nos quatro experimentos, não houve diferença significativa na quantidade de Pi livre acumulado nas raízes (Tabelas 2 e 3 e Figura 5). A quantidade de Pi livre acumulada na parte aérea e a quantidade total de Pi livre na plântula foram maiores com a aplicação de 10 µM de P na solução nutritiva apenas quando o endosperma foi

removido e a coleta das plântulas realizada aos 10 dias após a germinação (Experimento IV) (Tabelas 2 e 3 e Figura 5). Neste experimento, foi possível observar aumento de mais de 200% na quantidade de Pi livre na parte aérea e na total na plântula no tratamento com aplicação de P na solução nutritiva em relação ao tratamento com ausência deste nutriente.

4.1.3. Eficiências de absorção e translocação de fósforo

Observou-se efeito da aplicação de P na solução nutritiva na eficiência de absorção deste nutriente apenas no experimento em que a coleta das plântulas foi realizada aos 10 dias após a germinação, com remoção do endosperma da semente (Tabelas 2 e 3 e Figura 6). Neste experimento, houve aumento de 150% na eficiência de absorção de Pi no tratamento com aplicação de P em solução nutritiva em relação ao tratamento sem aplicação de P.

Não foi observada diferença significativa na eficiência de translocação de Pi em função da aplicação de P na solução nutritiva em nenhum dos quatro experimentos deste estudo (Tabelas 2 e 3 e Figura 6).

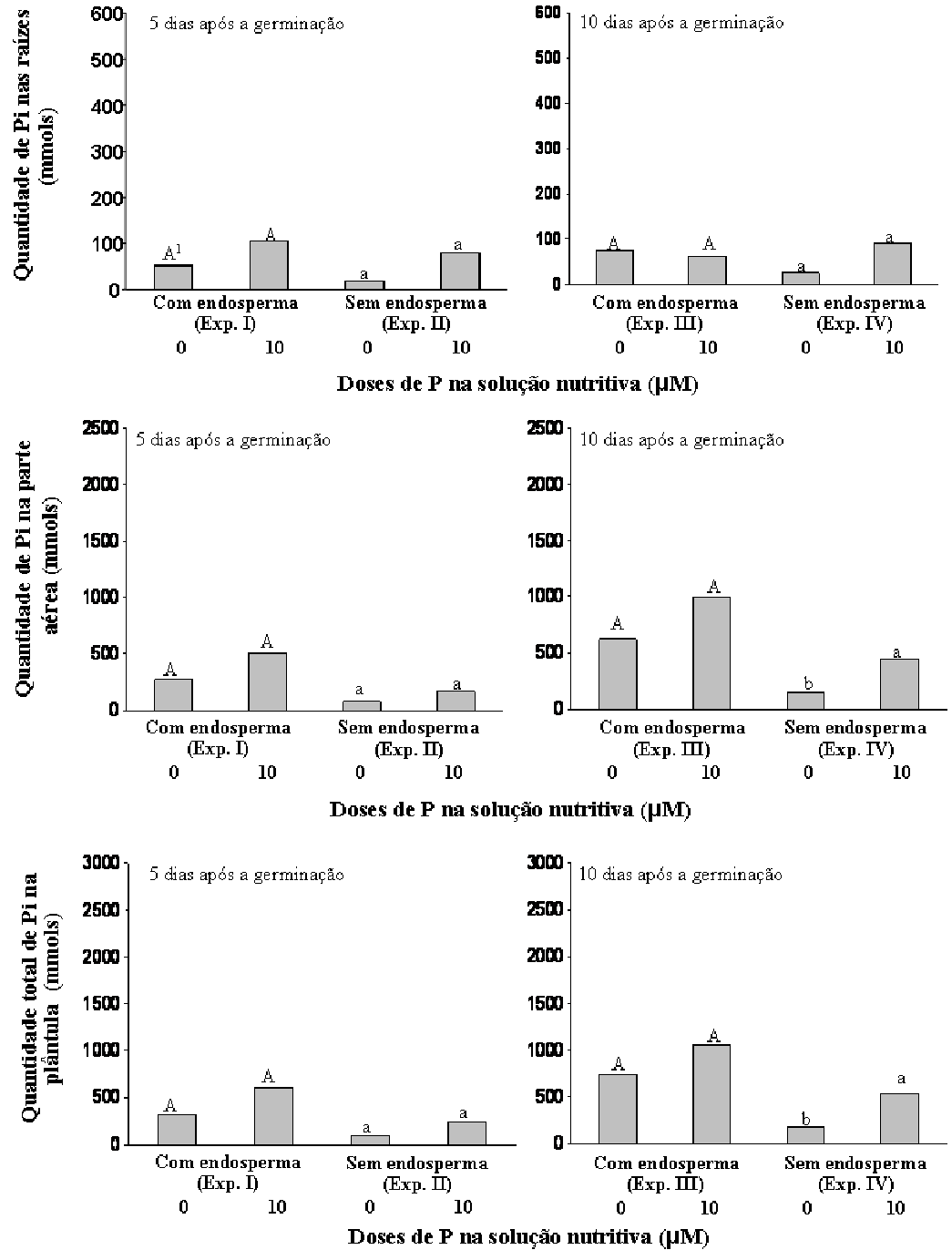


FIGURA 5. Quantidade de fosfato livre (Pi) acumulado nas raízes, na parte aérea e total plântula no cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.

¹Nas colunas médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparação entre níveis de P, sem a retirada do endosperma da semente) ou pela letra minúscula (comparação entre níveis de P, com a retirada do endosperma da semente) não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

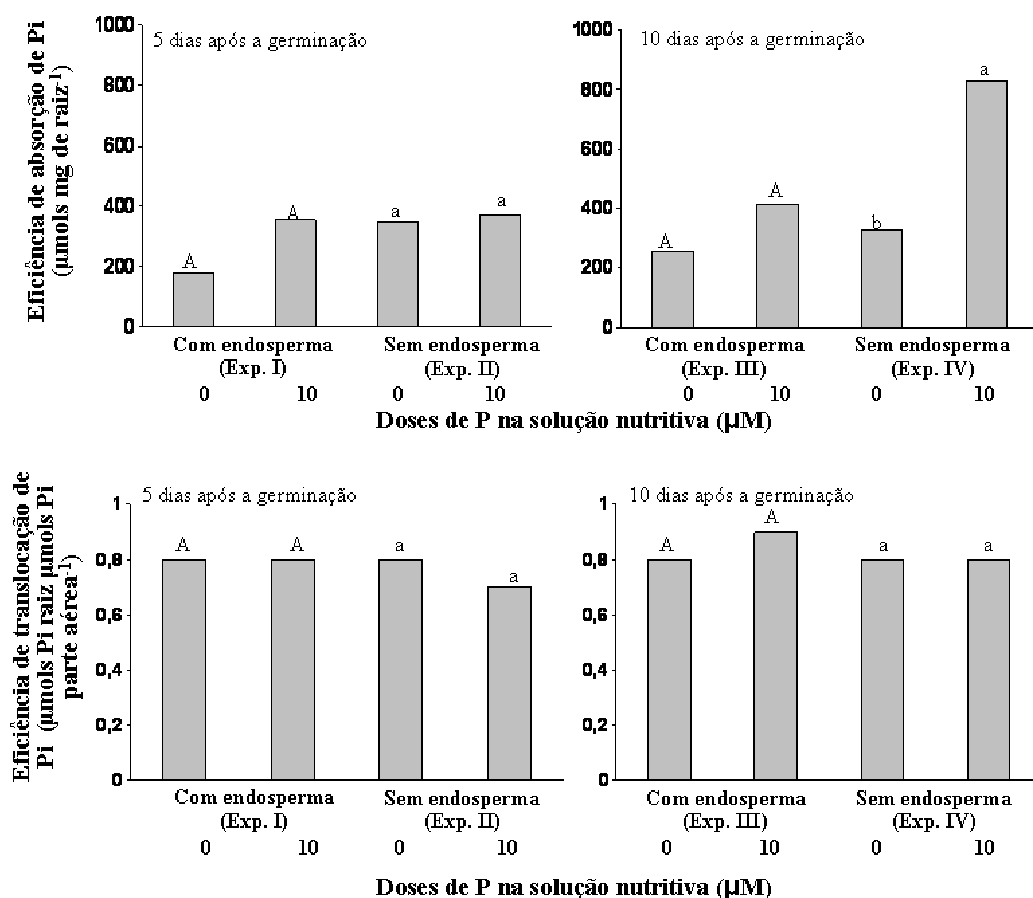


FIGURA 6. Eficiências de absorção e translocação de fósforo (P) no cultivar de trigo Anahuac em quatro experimentos: aos cinco dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma, e aos 10 dias após a germinação, com e sem retirada do endosperma. Porto Alegre-RS, 2005.

¹Nas colunas médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparação entre níveis de P, sem a retirada do endosperma da semente) ou pela letra minúscula (comparação entre níveis de P, com a retirada do endosperma da semente) não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2. Estudo II – Diferenciação em hidroponia de genótipos de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de P a campo

4.2.1. Peso seco de raízes e parte aérea e razão peso seco de raízes/parte aérea

Quanto ao peso seco de raízes houve apenas efeito simples de cultivares (Tabela 4). O cultivar Anahuac, considerado sensível à deficiência de P, apresentou maior peso seco de raízes em relação ao Toropi, independente de dose de P utilizada na solução de nutritiva (Figura 7).

TABELA 4. Coeficientes de variação e probabilidade das variáveis avaliadas no Estudo II em função dos cultivares de trigo e de doses de fósforo aplicadas em solução nutritiva. Porto Alegre-RS, 2006.

Variáveis	CV ¹ (%)	p ²		
		Cultivares	Doses de P	Interação
Peso seco de raízes	23,9	0,0010*	0,5417 ^{ns}	0,7897 ^{ns}
Peso seco da parte aérea	20,3	0,1085 ^{ns}	0,2222 ^{ns}	0,5226 ^{ns}
Razão peso seco de raízes/parte aérea	10,9	<,0001*	<,0001*	0,1045 ^{ns}
Teor de Pi nas raízes	40,6	0,1036 ^{ns}	0,0005*	0,3386 ^{ns}
Teor de Pi na parte aérea	21,3	0,1174 ^{ns}	<,0001*	0,0020*
Quantidade de Pi nas raízes	78,8	0,1010 ^{ns}	0,0488*	0,2177 ^{ns}
Quantidade de Pi na parte aérea	32,6	<,0001*	<,0001*	0,0003*
Quantidade total de Pi na plântula	37,4	0,0225*	0,0014*	0,0281*
Eficiência de absorção de Pi	26,8	0,1123 ^{ns}	<,0001*	0,0203*
Eficiência de translocação de Pi	18,2	0,6857 ^{ns}	0,5938 ^{ns}	0,7385 ^{ns}

¹Coefficiente de variação;

²Probabilidade;

*Significativo pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade;

^{ns}Não significativo

Já para peso seco da parte aérea, não foram significativos os efeitos simples para os fatores cultivares e doses de P e nem a interação entre estes fatores (Tabela 4 e Figura 7). Para razão peso seco de raízes/parte aérea foram significativos os efeitos simples de doses de P na solução nutritiva e de cultivares. A razão peso seco de raízes/parte aérea diminuiu com o incremento da dose de P na solução nutritiva, na média dos dois cultivares testados. Na comparação entre os cultivares, na média de

doses de P, observou-se que Anahuac apresentou razão peso seco de raízes/parte aérea 32% superior a verificada em Toropi (Figura 7).

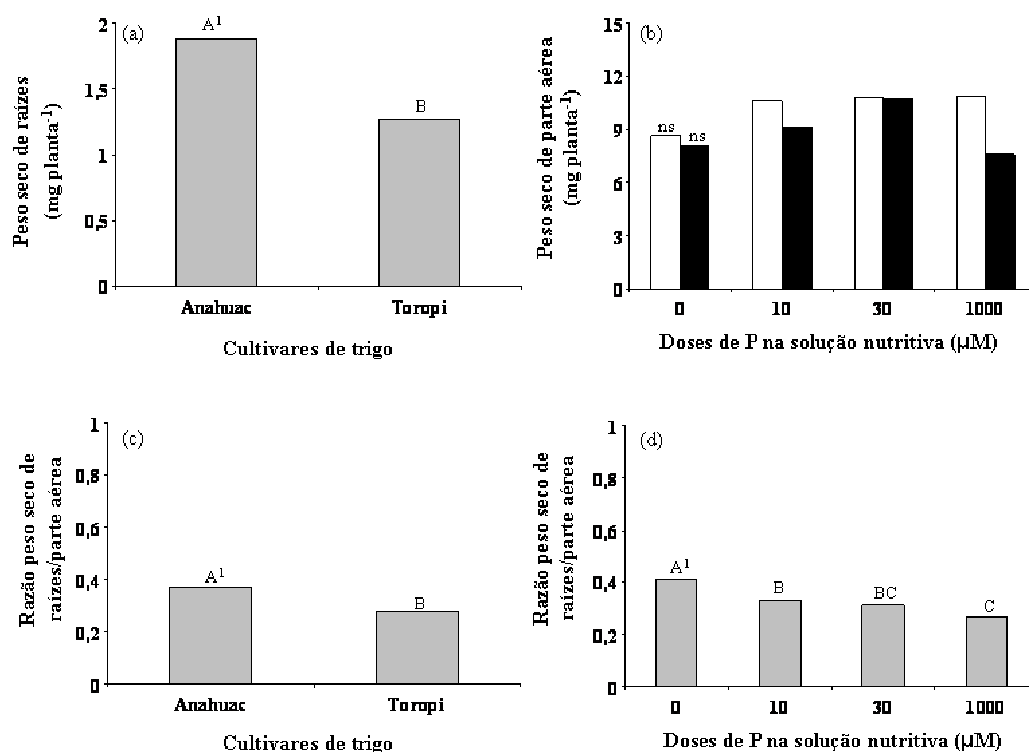


FIGURA 7. Peso seco de raízes dos cultivares de trigo Anahuac e Toropi, na média de quatro doses de fósforo (P) utilizadas em solução nutritiva (a); peso seco de parte aérea em função dos cultivares Anahuac (branco) e Toropi (preto) e de doses de P (c); razão peso seco de raízes/parte aérea dos dois cultivares, na média de quatro doses de fósforo (b) e em função das doses de P na média dos cultivares (d), aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade. ^{ns} Não significativo

4.2.2. Teor e quantidade de fosfato livre (Pi) nas raízes e na parte aérea

Quanto ao teor de Pi livre nas raízes foi significativo o efeito simples de doses de Pi utilizadas na solução (Tabela 4 e Figura 8). O teor de Pi livre nas raízes aumentou com o incremento da dose de Pi na solução nutritiva até a dose de 1000 μM, a exceção da dose de 30 μM, a qual não diferiu da dose de 10 μM, independente do cultivar

testado (Figura 8). As plântulas cultivadas em solução nutritiva com 1000 μM de P, apresentaram teor de Pi nas raízes 109, 80 e 400% superiores às verificadas nos tratamentos com 30, 10 μM e sem aplicação de P na solução nutritiva, respectivamente.

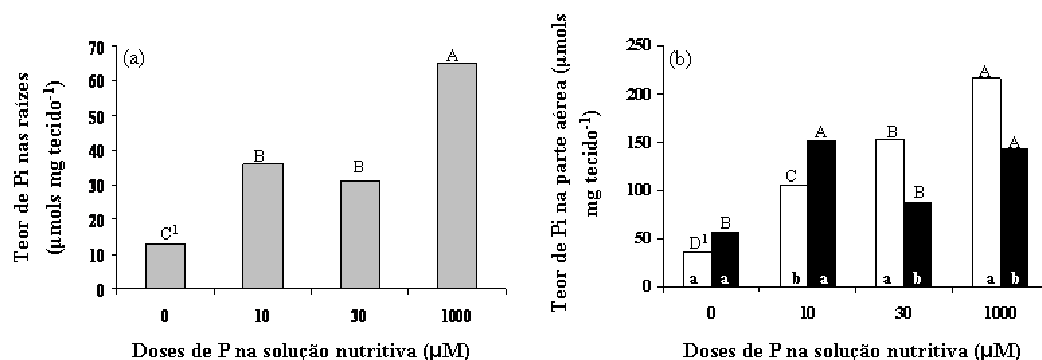


FIGURA 8. Teor de fosfato livre (Pi) nas raízes de trigo em função de doses de fósforo (P) utilizadas na solução nutritiva, na média dos cultivares Anahuac e Toropi (a) e teor de Pi na parte aérea (b) em função dos cultivares de trigo Anahuac (branco) e Toropi (preto) e de doses de P, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas, letras maiúsculas comparam o efeito de doses de P dentro de cada cultivar e as letras minúsculas comparam as cultivares dentro de cada dose de P, sendo que médias seguidas pela mesma letra não entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto ao teor de Pi livre na parte aérea, houve interação entre cultivares e doses de P utilizadas na solução nutritiva (Tabela 4). O cultivar Anahuac, considerado sensível à deficiência de P, aumentou a concentração de Pi livre na parte aérea com o incremento da dose de P utilizada na solução nutritiva até a dose de 1000 μM (Figura 8). Já o cultivar Toropi, tolerante à deficiência de P, apresentou comportamento diferente. A concentração de Pi livre na parte aérea aumentou até à dose de 10 μM , sendo que os tratamentos com doses mais elevadas de P não diferiram estatisticamente entre si. O teor de Pi livre na parte aérea na dose de 30 μM de P na solução não diferiu do observado no tratamento sem aplicação de P em solução nutritiva (Figura 8).

Na comparação entre cultivares, observou-se que Anahuac apresentou maior teor de Pi na parte aérea em relação a Toropi nas doses maiores (30 e 1000 μM) (Figura 8).

Já com a aplicação da menor dose (10 μM) observou-se uma inversão de comportamento, sendo os maiores valores observados no cultivar Toropi.

Na característica quantidade de Pi livre acumulada nas raízes houve apenas efeito simples de doses de P na solução nutritiva (Tabela 4). A quantidade de Pi livre nas raízes aumentou na dose de 1000 μM de P utilizada na solução nutritiva em relação as demais doses, independente do cultivar analisado (Figura 9).

Em relação às quantidades de Pi livre na parte aérea e total na plântula houve interação entre cultivares e doses de Pi utilizadas na solução nutritiva (Tabela 4). O comportamento das plântulas foi similar para estas duas características (Figura 9). O cultivar Anahuac aumentou as quantidades de Pi livre na parte aérea e total na plântula com incremento da dose de P na solução nutritiva até a dose de 1000 μM . Para quantidade de Pi livre na parte aérea, os valores observados com a aplicação da maior dose foram 41, 109 e 661 % superiores aos obtidos nos tratamentos com dose de P em solução nutritiva de 30 e 10 μM e sem aplicação deste nutriente, respectivamente. Já para quantidade total de Pi livre na plântula, estes valores foram 54, 100 e 810 % superiores, respectivamente. Já o cultivar Toropi novamente apresentou comportamento diferenciado. Para estas duas variáveis, este aumentou a concentração de Pi livre até a dose de 10 μM , não havendo resposta a doses mais elevadas de P (Figura 9). As quantidades de Pi na parte aérea e Pi total na plântula na dose de 30 μM de P na solução nutritiva situaram-se em níveis intermediários entre a dose de 10 μM e o tratamento sem aplicação de P na solução nutritiva.

Na comparação entre cultivares na mesma dose de P utilizada na solução, observou-se que Anahuac apresentou maior quantidade de Pi livre na parte aérea em relação a Toropi nas doses de 30 e 1000 μM de P na solução nutritiva. Para a quantidade

de Pi livre total na plântula, esta diferença foi significativa apenas na maior dose de P (Figura 9).

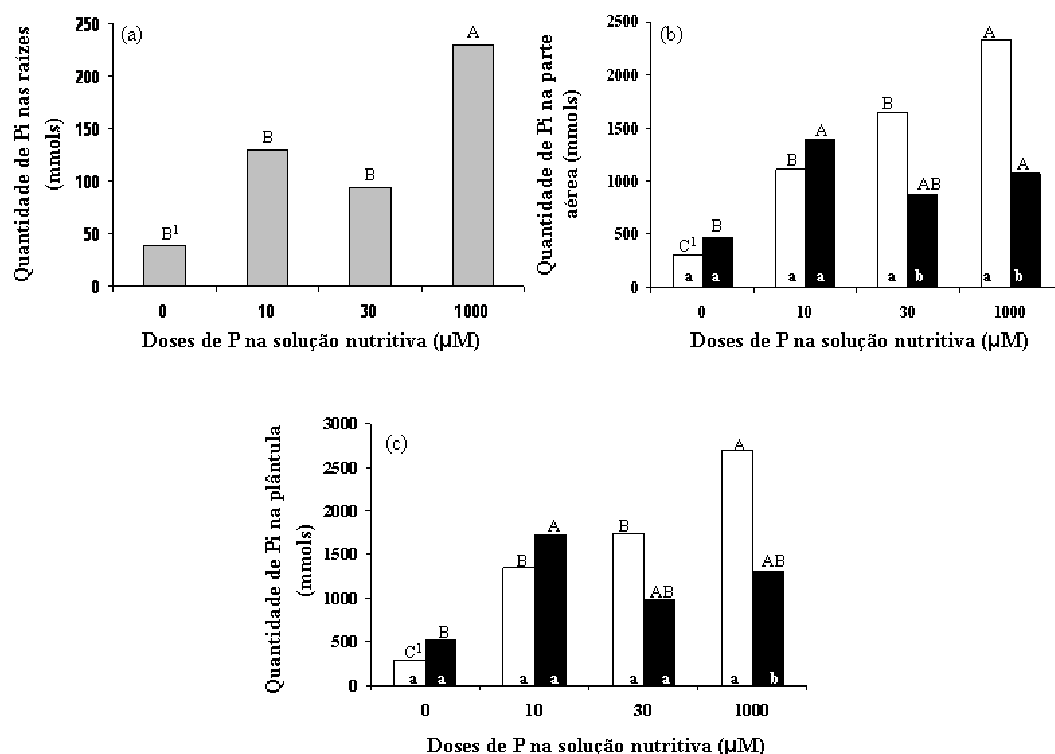


FIGURA 9. Quantidade de fosfato livre (Pi) nas raízes de trigo em função de doses de fósforo (P) utilizadas na solução nutritiva, na média dos cultivares Anahuac e Toropi (a) e quantidade de Pi na parte aérea (b) e total na plântula (c) em função dos cultivares de trigo Anahuac (branco) e Toropi (preto) e de doses de P aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas as letras maiúsculas comparam o efeito de doses de P dentro de cada cultivar e as letras minúsculas comparam as cultivares dentro de cada dose de P, sendo que médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.3. Eficiências de absorção e translocação de fósforo

Para eficiência de absorção de Pi, houve interação entre cultivares e doses de P utilizadas na solução nutritiva (Tabela 4). O cultivar Anahuac aumentou a eficiência de absorção de Pi com incremento da dose de P utilizada na solução nutritiva até a dose de 1000 μM (Figura 10). Já no cultivar Toropi a eficiência de absorção de Pi aumentou com o incremento de Pi na solução nutritiva até à dose de 10 μM , sendo que os

tratamentos com doses mais elevadas de P não diferiram estatisticamente entre si. A eficiência de absorção de Pi na dose de 30 μM de P na solução não diferiu da observada no tratamento sem aplicação de P em solução nutritiva.

Na comparação entre cultivares na mesma dose de P, observou-se que Toropi apresentou maior eficiência de absorção de Pi em relação a Anahuac no tratamento com aplicação de 10 μM (Figura 10).

Para eficiência de translocação de Pi não foram significativos os efeitos simples dos fatores cultivares e doses de P e a interação entre estes fatores (Tabela 4 e Figura 10).

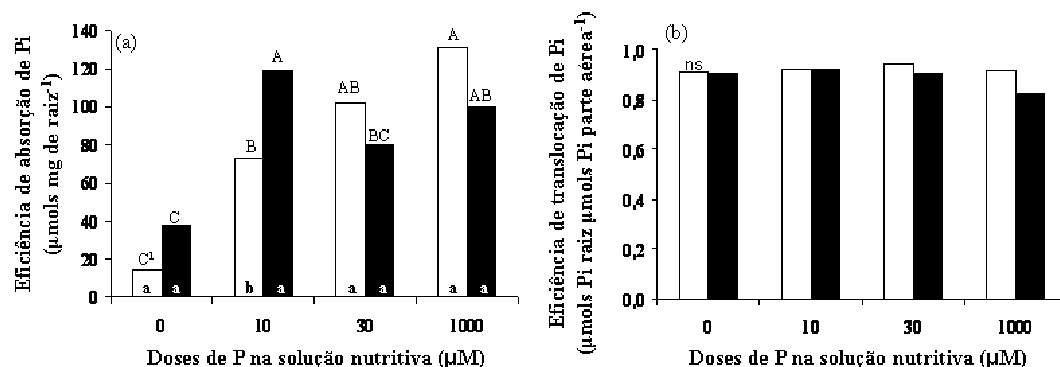


FIGURA 10. Eficiências de absorção (a) e de translocação (b) de fósforo (P) dos cultivares de trigo Anahuac (branco) e Toropi (preto) em função de doses de P utilizadas em solução nutritiva aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas as letras maiúsculas comparam o efeito de doses de P dentro de cada cultivar e, as letras minúsculas comparam as cultivares dentro de cada dose de P, sendo que médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade. ns Não significativo.

4.3. Estudo III –Validação do uso de hidroponia para identificação de genótipos de trigo contrastantes quanto à tolerância à deficiência de fósforo em linhagens recombinantes

4.3.1. Peso seco de raízes e parte aérea e razão peso seco de raízes/parte aérea

Quanto ao peso seco de raízes não foram significativos os efeitos simples para os fatores genótipos e doses de P e a interação entre estes fatores (Tabela 5 e Figura 11).

TABELA 5. Coeficientes de variação e probabilidade das variáveis avaliadas no Estudo III em função dos cultivares de trigo e de doses de fósforo aplicadas em solução nutritiva. Porto Alegre-RS, 2006.

Variáveis	CV ² (%)	p ¹		
		Genótipos	Doses de P	Interação
Peso seco de raízes	51,1	0.2150 ^{ns}	0.3993 ^{ns}	0.9583 ^{ns}
Peso seco da parte aérea	26,0	0.0103*	0.2166 ^{ns}	0.4670 ^{ns}
Razão peso seco de raízes/parte aérea	120,8	0.6010 ^{ns}	0.2012 ^{ns}	0.4828 ^{ns}
Teor de Pi nas raízes	53,4	0.0019*	<.0001*	0.0492*
Teor de Pi na parte aérea	42,5	0.0026*	<.0001*	0.0147*
Quantidade de Pi nas raízes	61,9	0.0476*	<.0001*	0.4349 ^{ns}
Quantidade de Pi na parte aérea	57,9	0.0041*	<.0001*	0.0345*
Quantidade total de Pi na plântula	37,3	0.0638 ^{ns}	<.0001*	0.0489*
Eficiência de absorção de Pi	60,9	0.8359 ^{ns}	0.0007*	0.9002 ^{ns}
Eficiência de translocação de Pi	8,7	0.1737 ^{ns}	0.1924 ^{ns}	0.5472 ^{ns}

¹Probabilidade;

²Coeficiente de variação;

*Significativo pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade;

^{ns}Não significativo.

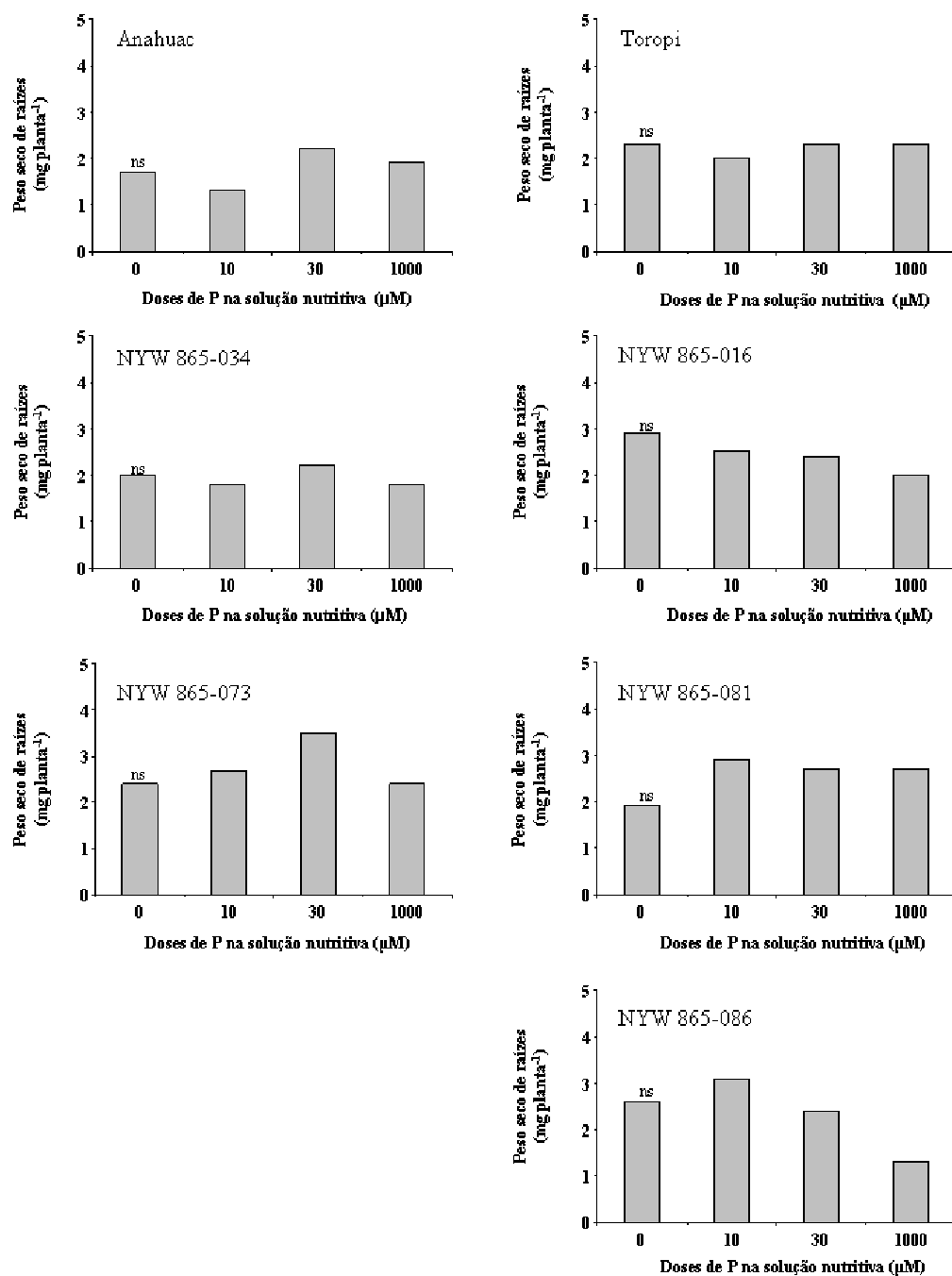


FIGURA 11. Peso seco de raízes do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a esta quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

^{ns}Não significativo pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Já para peso seco da parte aérea houve apenas efeito simples de genótipos (Tabela 5). Os maiores valores para peso seco foram observados nos genótipos NYW 865-073, NYW 865-086, NYW 865-016 e Toropi, sendo que os genótipos Anahuac e NYW 865-081 apresentaram menor peso seco de parte aérea, mas não diferiram estatisticamente do primeiro grupo (Figura 12). O genótipo NYW 865-034 apresentou o menor peso seco de parte aérea, não diferindo de Anahuac e NYW 865-081.

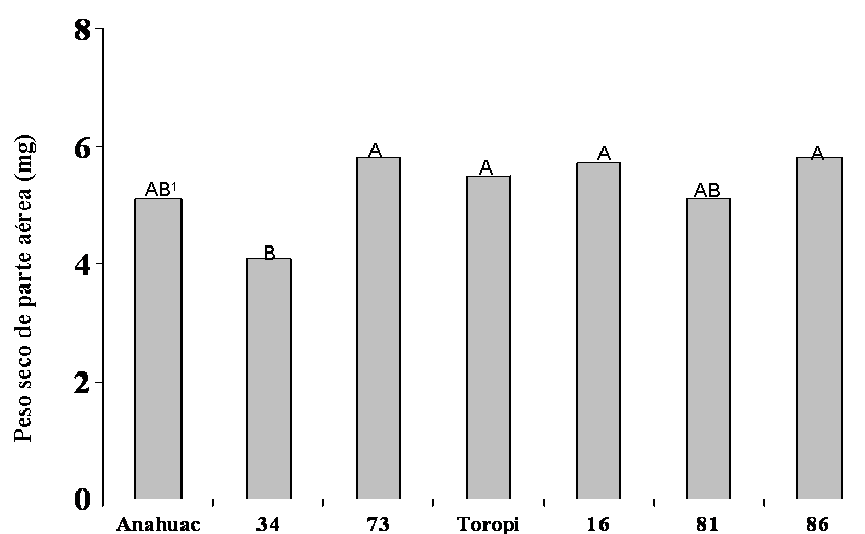


FIGURA 12. Peso seco de parte aérea do cultivar de trigo Anahuac e de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034 (34), NYW 865-073 (73)), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016 (16), NYW 865-081 (81), NYW 865-086 (86)) na média de quatro doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Na característica razão peso seco de raízes/parte aérea não foram significativos os efeitos simples para os fatores cultivares e doses de P e a interação entre estes fatores (Tabela 5 e Figura 13).

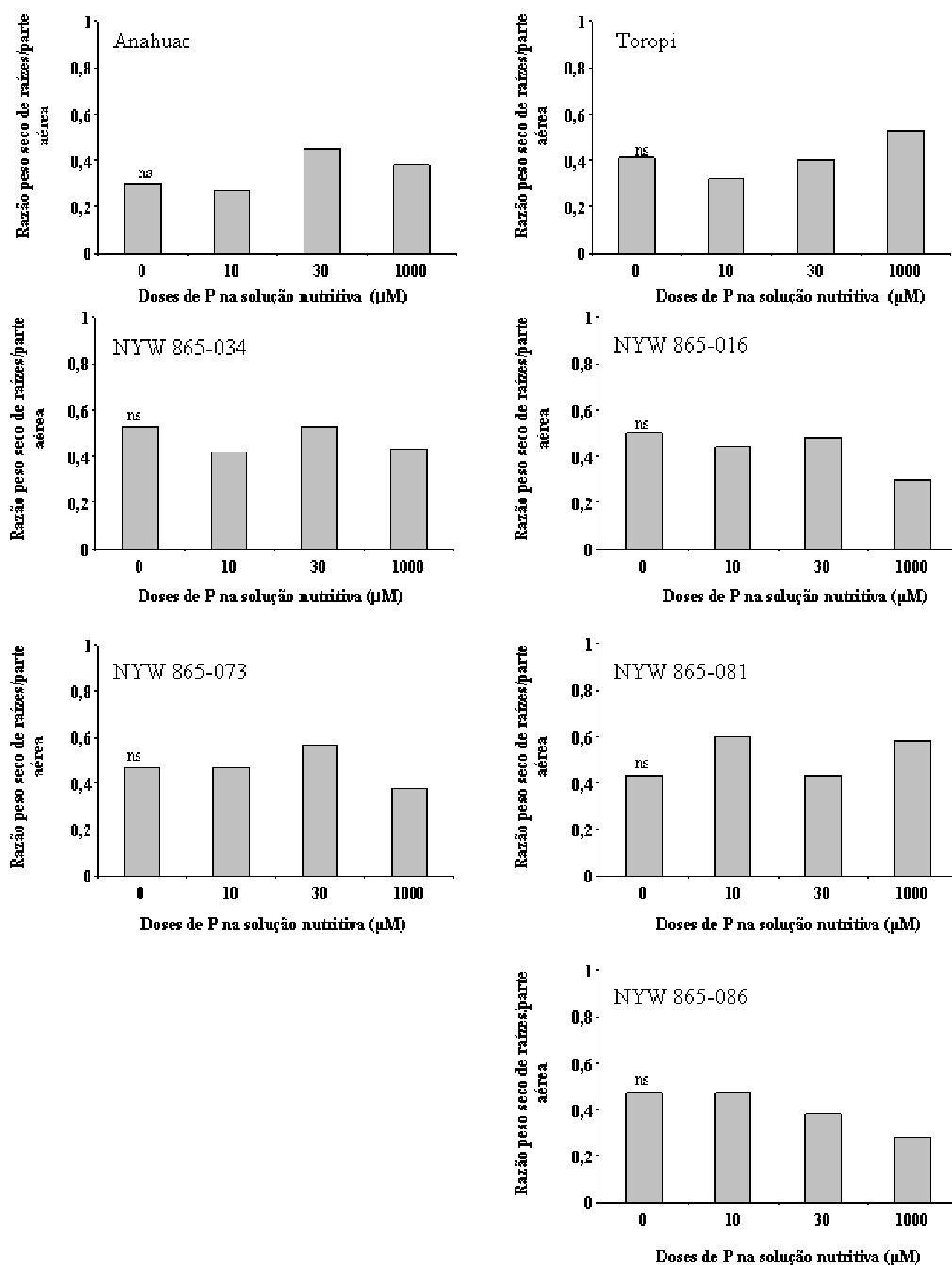


FIGURA 13. Razão peso seco de raízes/parte aérea do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

^{ns}Não significativo pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

4.3.2. Teor e quantidade de fosfato livre (Pi) nas raízes e na parte aérea

Quanto ao teor de Pi livre nas raízes, houve interação entre genótipos e doses de P utilizadas na solução nutritiva (Tabela 5). De uma maneira geral, houve aumento no teor de Pi livre nas raízes com o incremento da dose de P na solução nutritiva, com exceção dos genótipos NYW 865-034 e NYW 865-081 (Figura 14). O genótipo NYW 865-034 apresentou maior teor de Pi livre nas raízes na dose de 1000 μM de P na solução nutritiva, sendo que este valor não diferiu significativamente do valor obtido na dose de 10 μM de P. Já o genótipo NYW 865-081 não apresentou diferença significativa entre doses de P utilizadas em solução nutritiva para esta característica.

Em relação ao teor de Pi livre na parte aérea, foi observada interação entre cultivares e doses de P utilizadas na solução nutritiva (Tabela 5). O cultivar Anahuac manteve o comportamento observado no Estudo II, aumentando o teor de Pi livre na parte aérea com incremento da dose de P utilizada na solução nutritiva até 1000 μM (Figura 15). Este mesmo comportamento foi observado nos outros dois genótipos (NYW 865-034 e NYW 865-073) selecionados pela similaridade a cultivar Anahuac em experimento realizado em Passo Fundo-RS em solo, sob alta e baixa disponibilidade de P. No cultivar Anahuac, os teores de Pi livre na parte aérea na dose de 1000 μM foram 96, 147 e 894 % superiores aos obtidos nos tratamentos com doses de P em solução nutritiva de 30 e 10 μM e sem a presença deste nutriente, respectivamente. Para os outros genótipos similares a Anahuac, NYW 865-034 e NYW 865-073, estes valores foram 124, 88 e 246% e 82, 140 e 1119 % superiores, respectivamente.

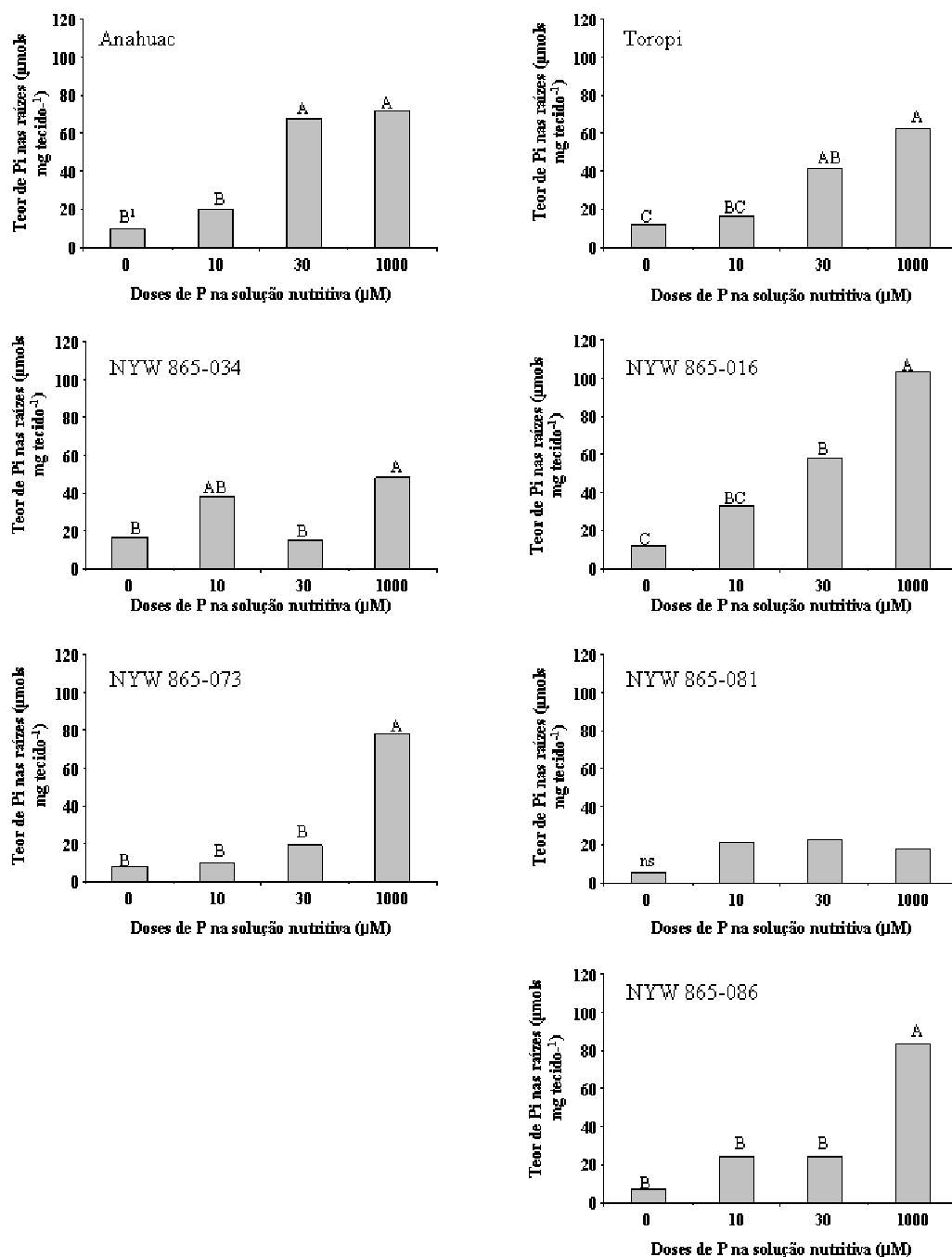


FIGURA 14. Teor de fosfato livre (Pi) nas raízes do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade. ^{ns}Não significativo

O cultivar Toropi também manteve o comportamento observado no Estudo II, não havendo diferença estatística entre as doses 10 e 1000 μM de P na solução nutritiva (Figura 15). Comportamento similar foi observado nos três genótipos selecionados pela similaridade a cultivar Toropi na resposta à deficiência de P sob condições de solo (NYW 865-016, NYW 865-081 e NYW 865-086). Houve redução no teor de Pi livre na parte aérea na dose de 30 μM de P na solução nutritiva no cultivar Toropi (18 %) e na linhagem NYW 865-081 (140 %), quando comparada à dose de 10 μM .

Para quantidade de Pi livre acumulada nas raízes foram significativos os efeitos simples de doses e genótipos de trigo (Tabela 5). As maiores quantidades de Pi livre nas raízes, na média de doses de P utilizadas na solução nutritiva, foram observadas no cultivar Toropi e na linhagem NYW 865-016, selecionada pela similaridade a este cultivar. Por outro lado, o menor valor foi observado na linhagem NYW 865-081, também selecionada pela similaridade a cultivar Toropi. Os demais genótipos apresentaram comportamento intermediário (Figura 16).

A quantidade de Pi livre nas raízes aumentou com incremento da dose de P na solução nutritiva até 1000 μM , na média dos genótipos de trigo (Figura 16).

Para as quantidades de Pi livre acumulada na parte aérea e total na plântula, houve interação entre genótipos de trigo e doses de Pi utilizadas na solução nutritiva (Tabela 5).

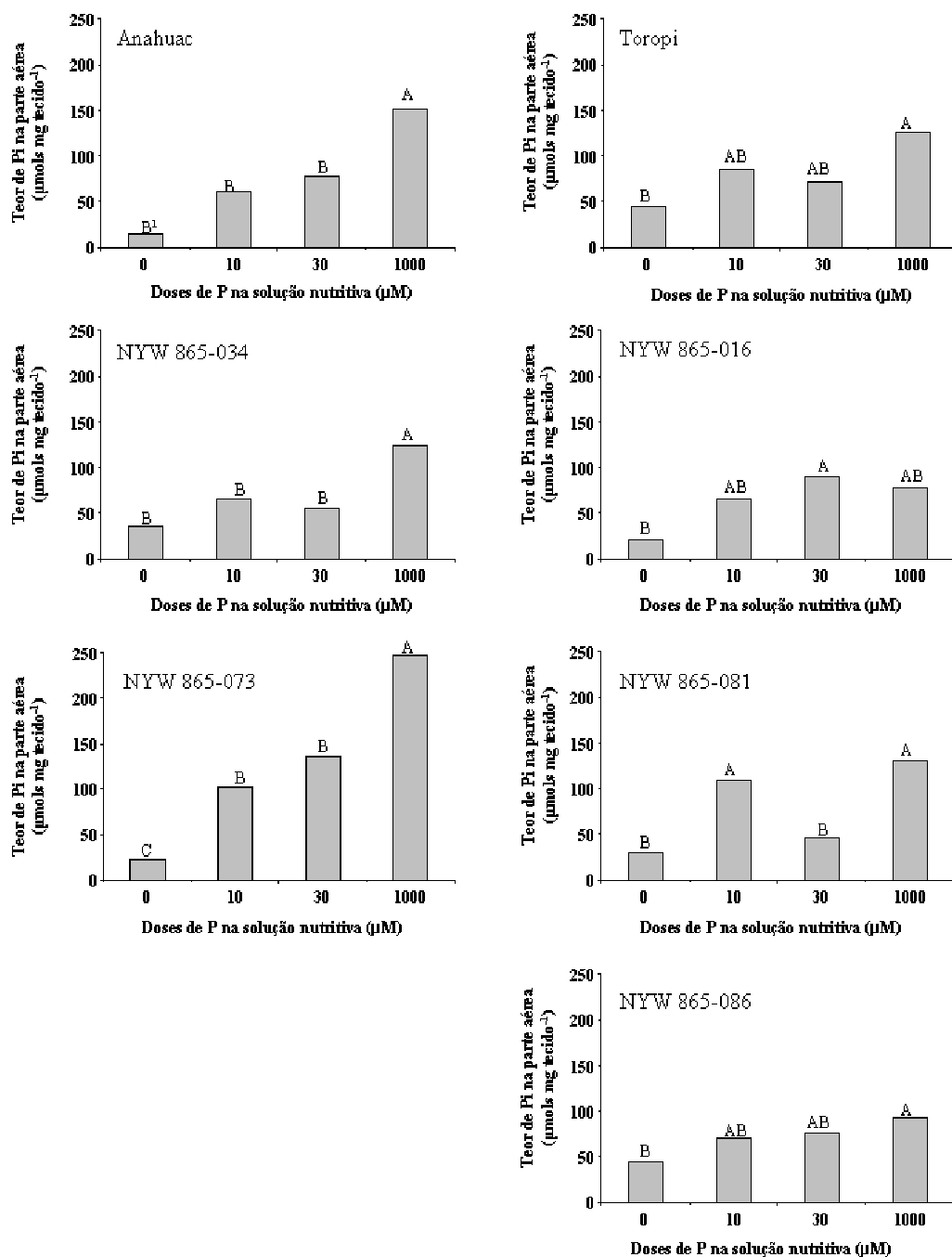


FIGURA 15. Teor de fosfato livre (Pi) na parte aérea do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

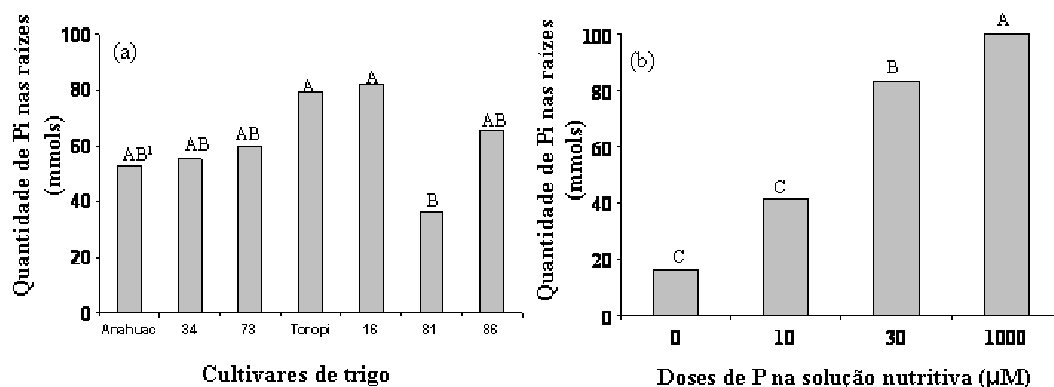


FIGURA 16. Quantidade de fosfato livre (Pi) nas raízes em trigo na média dos cultivares Anahuac e Toropi e das linhagens recombinantes NYW 865-034 (34), NYW 865-073 (73), NYW 865-016 (16), NYW 865-081 (81), NYW 865-086 (86) em função de doses de fósforo (P) utilizadas na solução nutritiva (a) e na média de doses de P (b), aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

O comportamento das plântulas quanto às quantidades de Pi livre na parte aérea e total na plântula foi similar (Figuras 17 e 18). Para estas duas características, os dois genótipos (NYW 865-034 e NYW 865-073) similares ao cultivar Anahuac em solo, comportaram-se de modo similar ao observado no cultivar Anahuac, ou seja, a quantidade de Pi livre na dose de 1000 μM de P aumentou em relação a dose de 10 μM. Apesar de Anahuac ter mantido o comportamento observado no Estudo II, observou-se que a quantidade de Pi livre acumulada no Estudo III foi sempre menor que a do Estudo II (Figuras 9, 17 e 18).

O menor acúmulo de Pi livre na parte aérea das plântulas no Estudo III em relação ao Estudo II não permitiu observar diferença significativa entre doses de P utilizadas na solução nutritiva no cultivar Toropi (Figura 17). Este mesmo comportamento foi observado na linhagem NYW 865-086, similar a Toropi quanto à tolerância à

deficiência de P no solo. Já os outros genótipos (NYW 865-016 e NYW 865-081), similares a Toropi, aumentaram a quantidade de Pi livre na parte aérea somente até à dose de 10 μM de P na solução nutritiva, não havendo resposta a doses mais elevadas.

A quantidade de Pi livre total nas plântulas do cultivar Toropi e da linhagem recombinante NYW 865-081 nas doses 30 μM e 10 μM de P não diferiram estatisticamente entre si (Figura 18).

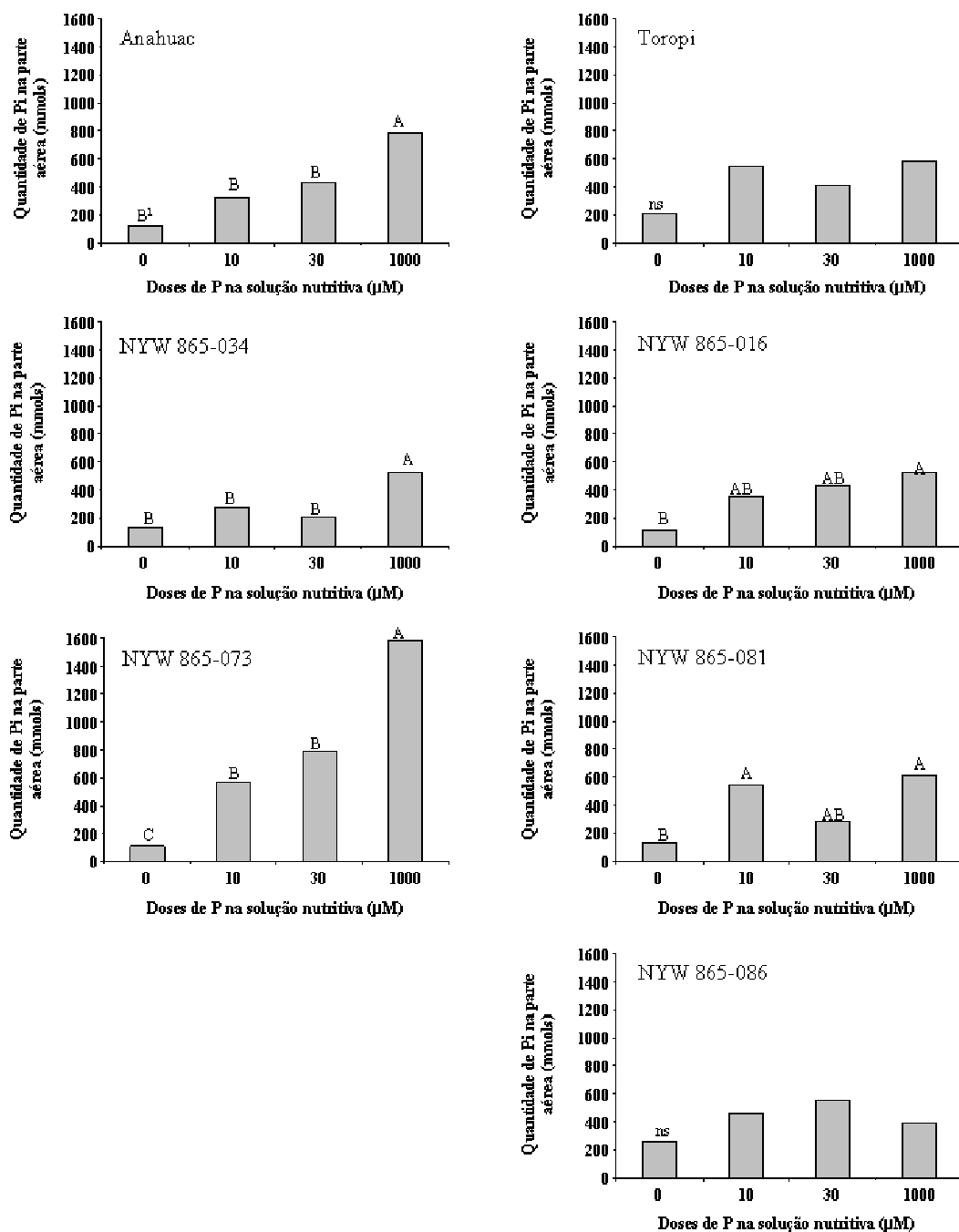


FIGURA 17. Quantidade de fosfato livre (Pi) acumulado na parte aérea do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade. ^{ns}Não significativo

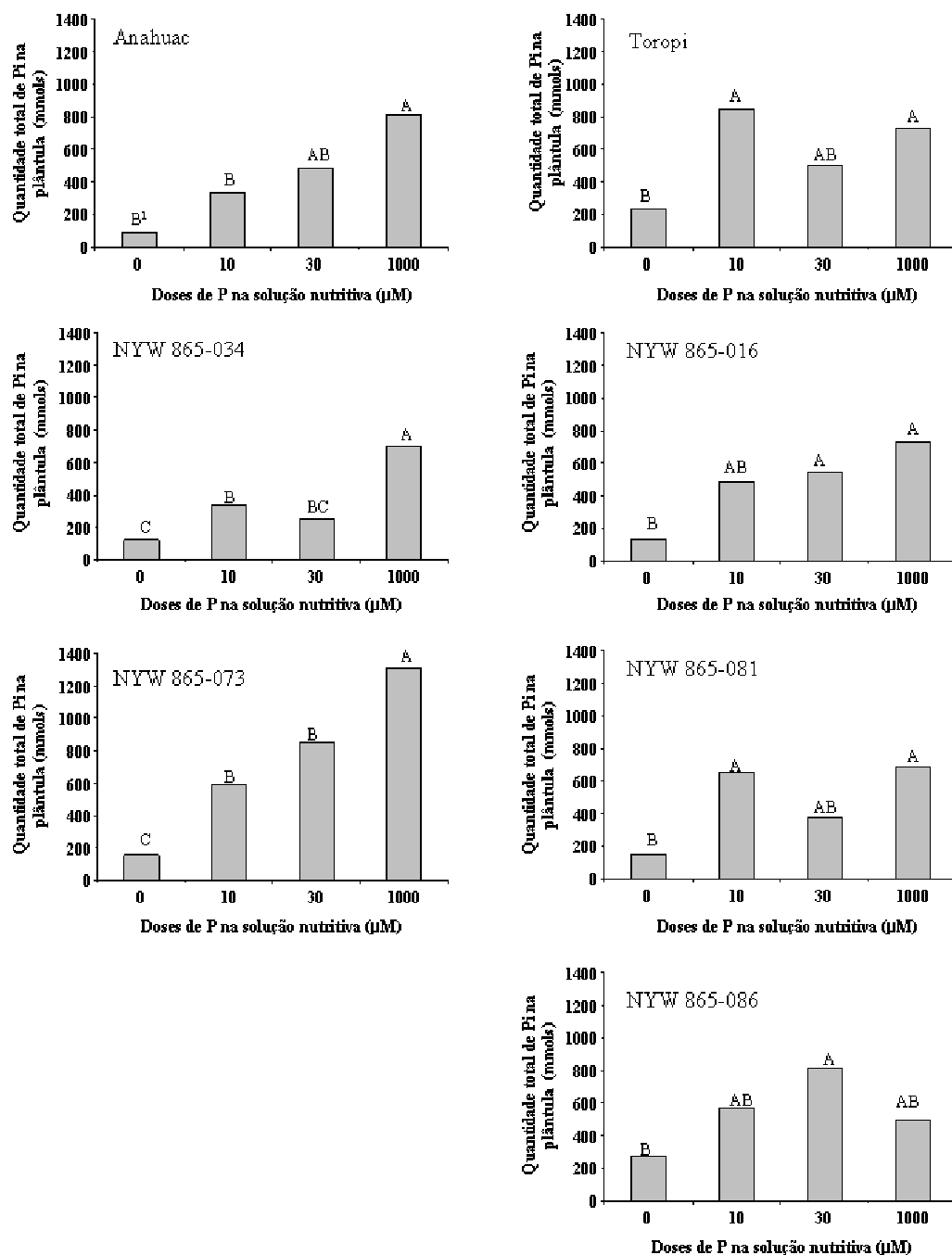


FIGURA 18. Quantidade total de fosfato livre (Pi) acumulado na plântula do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas, as médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

4.3.3. Eficiências de absorção e translocação de fósforo

Para eficiência de absorção de Pi, houve apenas efeito simples de doses de P utilizadas na solução nutritiva (Tabela 5), aumentando com o incremento da dose de P utilizada na solução até a dose de 1000 μM , na média dos genótipos de trigo utilizados (Figura 19).

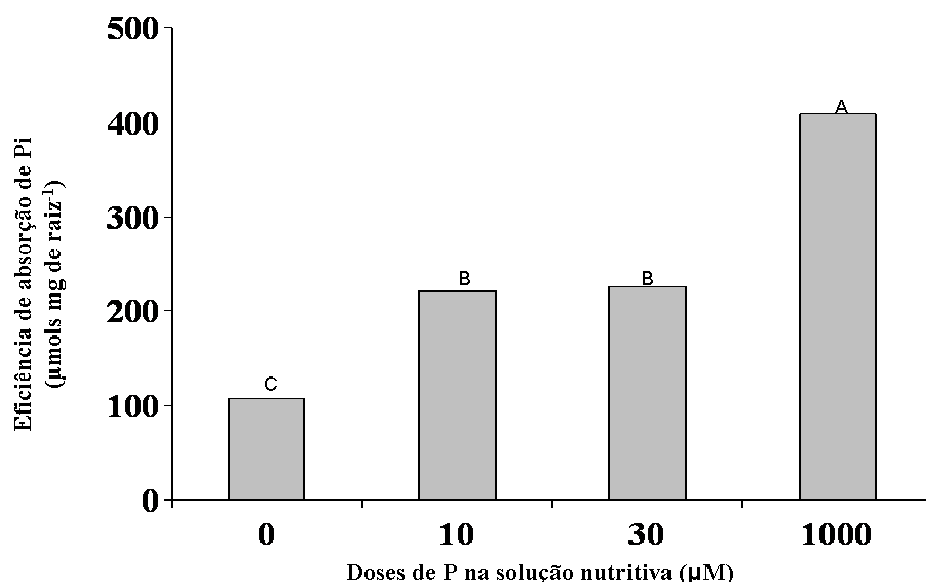


FIGURA 19. Eficiência de absorção de fosfato livre (Pi) pelas plântulas de trigo em função de doses de fósforo (P) utilizadas na solução nutritiva, na média de sete genótipos, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

¹Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Já para eficiência de translocação de Pi, não foram significativos os efeitos simples dos fatores cultivares e doses de P e a interação entre estes fatores (Tabela 5 e Figura 20).

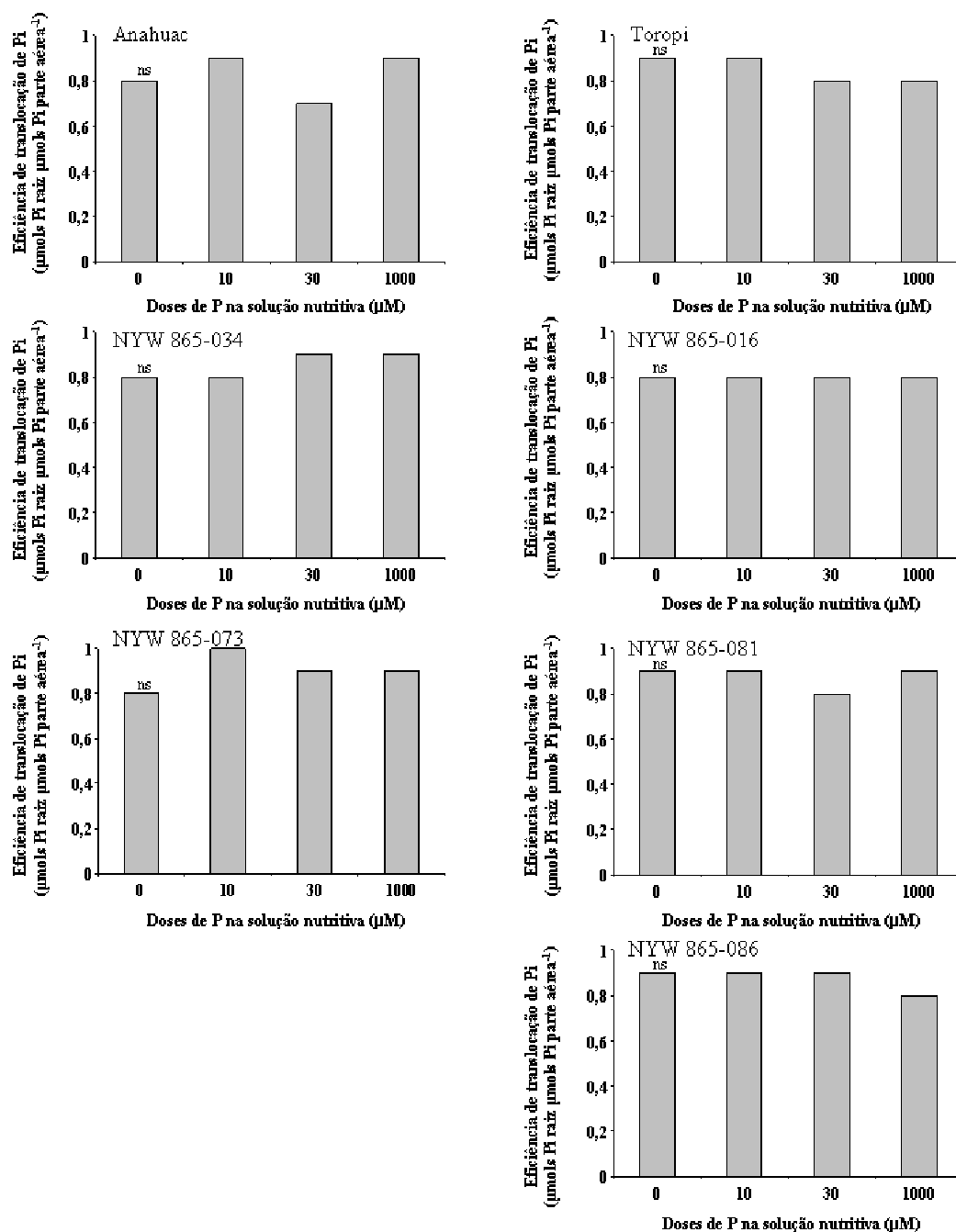


FIGURA 20. Eficiência de translocação de fósforo (P) pela plântula do cultivar de trigo Anahuac, de duas linhagens recombinantes semelhantes a este quanto à tolerância à deficiência de P em solo (NYW 865-034, NYW 865-073), do cultivar Toropi e de três linhagens recombinantes semelhantes (NYW 865-016, NYW 865-081, NYW 865-086) em função de doses de P utilizadas na solução nutritiva, aos 10 dias após a germinação. Porto Alegre-RS, 2006.

^{ns}Não significativo pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

5. DISCUSSÃO

O primeiro ponto a ser destacado nos três estudos realizados neste trabalho diz respeito aos coeficientes de variação (CV) obtidos na análise estatística dos dados obtidos (Tabelas 2 a 5). Os coeficientes variaram de 3,0 a 120,8%, a grande maioria ficando abaixo de 40%, muitos destes valores são considerados altos para a maioria dos experimentos realizados a campo. No entanto, em se tratando de hidroponia, estes CVs são considerados aceitáveis e satisfatórios. Outros trabalhos realizados utilizando esta mesma técnica obtiveram CVs superiores aos encontrados no presente trabalho e os resultados obtidos foram satisfatórios (Nava, 2005 e Sanchez-Chacón, 1998). Valores elevados de CV são intrínsecos à metodologia de crescimento de plântulas sob hidroponia, já que apesar do ambiente ser considerado mais controlado que o campo, as plantas são submetidas há vários estresses e em intensidade variável devido à manipulação intensa.

O primeiro fator avaliado no trabalho foi o efeito da remoção do endosperma da semente na caracterização de um cultivar de trigo (Anahuac) sensível à deficiência de P. Este cultivar foi selecionado partindo do princípio de que sendo pouco tolerante à deficiência de P, responderia de maneira mais expressiva ao incremento da dose deste nutriente na solução hidropônica, sendo sensível a pequenas alterações na dose. Com a remoção do endosperma das plântulas, foi possível observar diferenças significativas no peso seco das raízes (Figura 2) e na razão entre peso seco das raízes e da parte aérea já na avaliação realizada aos cinco dias após a germinação (Figura 3). Porém, a maioria das alterações observadas com a remoção do endosperma e que não poderiam ser

percebidas com a presença do mesmo, se deu na avaliação realizada aos 10 dias após a germinação (Figuras de 2 a 6). As características que responderam significativamente a presença de Pi na solução, apenas nas plantas com endosperma removido na análise aos 10 dias, foram teores de Pi livre nas raízes e na parte aérea (Figura 4), quantidade de Pi livre na parte aérea e na plântula (Figura 5) e eficiência de absorção (Figura 6).

A não remoção do endosperma da semente faz com que o efeito da deficiência de P não seja observado em estádios iniciais de desenvolvimento da plântula. Isto ocorre porque a semente possui grande quantidade de P armazenada nas células do endosperma, que é utilizado pela plântula nestes estádios. Segundo Grant et al. (2001), o suprimento externo de P tem pouco efeito no crescimento de plântulas e o período de tempo requerido para a deficiência de P mostrar efeito nos processos de crescimento da plântula depende da quantidade de sua reserva na semente. Boatwright & Viets (1966) trabalhando em casa de vegetação com sementes de trigo de mesmo tamanho, porém com teores crescentes de P (0,14 a 0,37%), observaram que as plântulas cresciam até 35 dias após a germinação apenas com o P presente na semente. Os dados obtidos por estes autores corroboram com os observados neste trabalho e em um experimento piloto realizado na Faculdade de Agronomia da UFRGS com aveia, sem retirada do endosperma da semente, em que até aos 25 dias após a germinação não foi possível observar diferença entre genótipos contrastantes quanto às eficiências de absorção e uso de Pi em função de doses utilizadas em solução nutritiva (0, 10, 50, 100 e 1000 μM) (Dados não publicados). Desta forma, a partir dos resultados obtidos neste primeiro estudo definiu-se que a retirada do endosperma seria um ponto crucial para que o efeito de doses de P pudesse ser observado em estádios iniciais do desenvolvimento da plântula de trigo cultivada sob hidroponia.

O segundo ponto a ser definido na metodologia refere-se às doses de fósforo a serem utilizadas na diferenciação de genótipos. Foi realizado um experimento piloto com sementes de aveia, das quais se retirou o endosperma após a germinação. Foram testadas cinco doses de P em solução nutritiva (0, 10, 50, 100 e 1000 μM). Foi possível observar que, a partir de 50 μM , não houve diferença significativa entre doses de P para nenhuma das características avaliadas. Isto quer dizer que concentrações de P limitantes para a aveia estão abaixo de 50 μM . Portanto, nos experimentos seguintes com trigo foram utilizadas as doses de 10 e 30 μM , além dos controles negativos (0 μM) e positivo (1000 μM). A dose de 10 μM aproxima-se das quantidades encontradas em solos naturais (Bissani et al., 2004). Espécies silvestres, como a planta modelo *arabidopsis*, iniciam respostas de resgate da deficiência de Pi apenas em doses menores que 50 μM .

A partir da definição destes dois pontos, ou seja, a retirada do endosperma e as doses de P a serem utilizadas, testou-se esta metodologia em pais contrastantes quanto à tolerância à deficiência de P em solos. Toropi e Anahuac são cultivares bastante distintos, Toropi possui maior estatura e ciclo mais longo e, em condições naturais de solo mostra-se tolerante a acidez, ao alumínio tóxico e a baixo fósforo. Ao analisar a tolerância ao alumínio destes materiais em solução hidropônica remove-se qualquer traço de P para impedir a ligação destes (Boff, 2006). Sugere-se, portanto que o mecanismo de tolerância ao alumínio possa estar relacionado ao mecanismo que confere tolerância à deficiência de P.

As primeiras características avaliadas foram os pesos secos de raízes e de parte aérea. Não foi possível realizar a diferenciação entre os genótipos com estas características. Como citado anteriormente, houve grande variabilidade entre

experimentos e dentro dos mesmos, fazendo com que o comportamento dos genótipos não mantivesse um padrão nos três estudos (Figuras 7, 11 e 12).

No primeiro experimento (Figura 2), o cultivar Anahuac, considerado sensível à deficiência de P, aumentou o peso seco da raiz na presença de P no tratamento com remoção do endosperma, já aos cinco dias após a germinação (Tabela 4). Este mesmo comportamento não foi observado aos 10 dias após a germinação e nem nos Estudos II e III nos quais este cultivar também foi testado aos dez dias após a germinação. Nos demais experimentos, houve grande variação nas respostas, caracterizando baixa repetibilidade para esta característica.

De uma maneira geral, o cultivar Anahuac apresentou maiores pesos secos de raízes e parte aérea quando comparado ao cultivar Toropi. Poderia-se supor que Anahuac apresente maior estatura de planta que a Toropi, característica dependente do “background” genético do cultivar. No entanto, este dado não corrobora com o obtido em casa de vegetação por Minella (Apêndice 1), em que o cultivar Toropi apresentou maiores pesos secos de raízes e parte aérea, independente de dose de P utilizada. As diferenças podem ser devidas ao pouco tempo de crescimento das plântulas no experimento de hidroponia e à característica de precocidade de Anahuac. No experimento em casa de vegetação, não foi realizada amostragem nos estádios iniciais de crescimento, não sendo possível comparar com os resultados obtidos em hidroponia. Observou-se que, no experimento em solo, com alta disponibilidade de P, a diferença entre o peso seco da parte aérea entre os cultivares Toropi e Anahuac aumenta com a evolução do desenvolvimento das plantas (Apêndice 1). Isto pode sugerir que esta diferença seja bem menor em estádios iniciais ou que, até mesmo, o cultivar Anahuac apresente maior peso seco no início do seu desenvolvimento que o Toropi, como foi observado sob hidroponia.

Grandes diferenças no peso seco de plântula são difíceis de serem observadas nos estádios iniciais de desenvolvimento. A resposta da planta à limitação de P demora alguns dias para ser externada na forma de raízes laterais ou em variações no peso seco de raízes e parte aérea. Em tremoço, que é uma espécie muito sensível à deficiência de P, começa-se a observar alterações em nível microscópico na emergência de raízes laterais aos oito dias após a supressão deste nutriente da solução nutritiva (Allan et al., 1996). Em *Arabidopsis thaliana*, que é uma espécie de crescimento extremamente rápido e que completa seu ciclo de vida em apenas seis semanas, Leyser et al. (2002) observaram alterações em termos de comprimento de raiz principal em função de doses de P aos 8 dias após a germinação. Sánchez-Calderón et al. (2005) observaram nesta espécie esta mesma diferença já aos seis dias após a germinação. Além do pouco tempo de crescimento até o início de coleta de dados, o alto coeficiente de variação (CV) inerente ao uso da hidroponia dificulta a observação de diferenças nestas características entre os genótipos testados.

Quando se analisa a razão peso seco de raízes/parte aérea, observa-se o mesmo comportamento, ou seja, o CV é alto e a repetibilidade é baixa. No primeiro estudo, esta razão aumentou na dose de 10 μ M no tratamento com retirada do endosperma em relação ao tratamento sem aplicação de P, aos cinco dias após a germinação (Figura 3). No segundo estudo, o comportamento foi diferente, havendo redução na razão com o incremento da dose de P, na média de dois cultivares (Figura 7), similar ao encontrado na literatura para outras espécies, onde a raiz é menos afetada que a parte aérea pela limitação de Pi. Já no terceiro estudo, a razão peso seco de raízes/parte aérea não diferiu estatisticamente para nenhuma variável analisada. Esta inconsistência nos resultados é devida à grande variação encontrada nos dados de pesos seco de raízes e parte aérea.

Já as características teor e quantidade de fósforo livre acumulada na plântula mostraram-se medidas consistentes. Nos três estudos, foram analisados os teores e as quantidades de Pi livre nas raízes e na parte aérea e a quantidade total de Pi livre na plântula, obtendo-se grande repetibilidade dos resultados (Figuras 4, 5, 8, 9, 14, 15, 16, 17 e 18).

Os teores de Pi livre obtidos nas raízes foram, aproximadamente, três vezes inferiores aos obtidos na parte aérea (Figuras 4 e 8). Esta grande diferença entre os órgãos nos teores de Pi livre também foi observada por Delatorre (2002) e Pinto (2005) em trabalhos realizados com *Arabidopsis thaliana*. No entanto, o teor e a quantidade de Pi livre nas raízes não foram bons parâmetros para diferenciar Toropi e Anahuac, pois apresentaram comportamento similar em todos os estudos (Figuras 8, 9, 14 e 16).

O teor e a quantidade de Pi livre na parte aérea e total na plântula apresentaram comportamento distinto entre Toropi e Anahuac, sendo possível diferenciá-los (Figuras 8 e 9). Foi possível separar os demais genótipos com similaridade a estas duas cultivares quanto à sua tolerância à deficiência de P usando estas características (Figuras 15, 17 e 18), e corroborando os resultados obtidos por Minella em solo (Apêndice 1).

Os cultivares Anahuac e Toropi apresentam comportamento diferente quanto à tolerância à deficiência de P em solo, segundo os dados obtidos por Minella (Apêndice 1). O cultivar Toropi é mais tolerante à deficiência de P que o cultivar Anahuac, sendo que o primeiro não responde em termos de rendimento de massa seca, à utilização de doses elevadas no solo, enquanto Anahuac acumula mais massa seca com maior disponibilidade de P. Isto pode ser melhor observado quando se calcula a razão entre as características avaliadas, sob baixa e alta disponibilidade de fósforo (Apêndice 1). O cultivar Toropi apresenta valores próximos a 1,0, enquanto o Anahuac possui sempre valores menores (Apêndice 1). Este mesmo comportamento pôde ser observado em

hidroponia na avaliação realizada aos 10 dias após a germinação, não em relação à massa seca, mas em relação ao teor e quantidade de Pi livre na parte aérea e total na plântula. Nos Estudos II e III, o cultivar Anahuac aumentou os valores destas características da menor (10 μM) para maior (1000 μM) dose de P na solução hidropônica (Figuras 8, 9, 15, 17 e 18). Quando se comparam as doses de 10 e 1000 μM , observam-se aumentos de mais de 100% no teor e na quantidade de Pi livre na parte aérea das plântulas de Anahuac nos estudos realizados. Desta forma, dividindo-se os valores encontrados na menor dose pelos valores da dose maior, obtêm-se razão menor que 0.5 (Figuras 8, 9, 15, 17 e 18). Já o cultivar Toropi apresenta teores e concentrações de Pi livre na parte aérea e total na plântula similares entre as doses de 10 e 1000 μM (Figuras 8, 9, 15, 17 e 18), ou seja, possivelmente na dose de 10 μM de P, a plântula já consegue manter seu metabolismo funcionando plenamente. Não está clara a forma com que o teor de Pi livre na parte aérea, aos dez dias após a germinação, relaciona-se à quantidade de massa seca acumulada na antese ou na maturação. Talvez, os teores de Pi livre na parte aérea sejam reflexo da regulação que determina maior eficiência no uso de Pi pela plântula.

Os dados obtidos sugerem que as diferenças na tolerância à deficiência de Pi nestes genótipos podem estar relacionadas à maior habilidade de regular o transporte de Pi das raízes para a parte aérea. Toropi parece ser capaz de manter constantes os teores de Pi livre na parte aérea, apresentando concentração de Pi livre superior a Anahuac na dose de 10 μM e inferior nas doses de 30 e 1000 μM (Figura 8). As concentrações de Pi livre na parte aérea não são consequência somente da habilidade de translocação da planta, mas também da capacidade de extração e absorção e principalmente da eficiência de uso de Pi.

A limitação de P é percebida por dois tipos de sensores, um local, no sistema radicular avaliando o meio externo, e outro “sistêmico”, avaliando o status de Pi da planta como um todo (Abel et al., 2002). Este sistêmico possivelmente avalia a manutenção dos teores de Pi livre no citossol ou no cloroplasto e define o transporte de Pi para a parte aérea, além de induzir mecanismos de resgate da limitação. Se a planta for eficiente no uso de Pi possivelmente os teores de Pi livre são mantidos apesar do menor aporte de Pi do solo. Sabe-se que o transporte para a parte aérea é regulado, como comprovam os mutantes de arábido *pho2* (Dong et al., 1998) e *At4* (Shin et al., 2006), ambos acumulando Pi livre em excesso na parte aérea e sendo incapazes de tolerar a limitação de Pi no solo. Estes defeitos devem alterar a percepção e a regulação do nível de Pi na parte aérea (Hamburguer et al., 2002 e Dong et al., 1998). Pho2 pode ser algum sensor indireto ou membro da cadeia de transdução dos níveis de Pi na parte aérea, envolvido na regulação do transporte de Pi da raiz à parte aérea. Proteínas com esta função e expressas de forma diferencial ou com características cinéticas diferentes, podem estar envolvidas no comportamento diferencial observado entre Toropi e Anahuac.

Uma das hipóteses que pode ser levantada a respeito de Toropi refere-se a maior eficiência de uso de Pi, a qual não foi avaliada neste trabalho diretamente. No entanto, a estabilidade da concentração de Pi livre na parte aérea nas doses de 10 e 1000 μM a sugere. Análises de conteúdo de P total, bem como da atividade de enzimas de rotas alternativas, ou composição dos lipídeos de membrana, poderiam auxiliar na confirmação desta hipótese, análises estas bem mais complexas.

A maior tolerância de um genótipo estar relacionada ao melhor controle de transporte de Pi para a parte aérea e maior eficiência de utilização na parte aérea faz sentido quando se considera que é na parte aérea que ocorre a fotossíntese e a definição

da alocação de carboidratos que mantém o crescimento da plântula. Quando existe limitação e exaustão do Pi acumulado nos vacúolos, as plântulas passam a armazenar praticamente todo o Pi livre no citoplasma e nos cloroplastos (Marschner, 1995). A regulação no transporte de Pi para a parte aérea condiciona o suprimento, deste nutriente, aos sítios fotossinteticamente ativos da plântula, mantendo o crescimento e o desenvolvimento adequados.

Possivelmente, outros genótipos possam basear sua tolerância em maior capacidade de extração de P do meio. Este mecanismo não pôde ser avaliado no presente trabalho, pois em hidroponia não é possível analisar o efeito de modificações arquitetônicas das raízes, devido ao fluxo de massa que se estabelece pela aeração constante. O efeito de quelantes e de enzimas secretadas também fica reduzido devido à possibilidade de diluição no grande volume líquido.

Além disto, o fósforo disponibilizado na solução hidropônica encontrava-se na forma inorgânica, que pode ser prontamente absorvida pelas plântulas, fazendo com que o efeito de enzimas, como as fosfatases ácidas, e de quelantes como os ácidos orgânicos, seja ainda menor. Este problema poderia ser contornado se o P fornecido na solução nutritiva estivesse na forma orgânica, como ácidos nucleicos, por exemplo. Porém, o processo de purificação de ácidos nucleicos é extremamente dispendioso e seria necessária grande quantidade destes ácidos, já que para se atingir a dose de 1 mM de Pi são necessários 0,6 mg de ácidos nucleicos por ml de solução (Chen et al., 2000). Outra opção para solucionar este problema seria a utilização de fitato. No entanto, o fitato comercial disponível apresenta grande quantidade de fosfato livre e a separação deste é extremamente complexa.

Assim, a metodologia testada na presente pesquisa, diferencia os indivíduos com base nas eficiências de absorção e/ou de uso de Pi.

O mesmo comportamento quanto ao teor e às quantidades de Pi livre na parte aérea e total foi observado nas linhagens recombinantes selecionadas pela similaridade de comportamento em solo com os dois pais (Anahuac e Toropi). Em outras palavras, as linhagens NYW 865-034 e NYW 865-073 apresentaram resultados similares aos do cultivar Anahuac e as linhagens NYW 865-016, NYW 865-081 e NYW 865-086 foram similares ao Toropi (Figura 15, 17 e 18), corroborando com os resultados obtidos em solo por Minella em relação à massa seca (Apêndice 1).

Este comportamento diferenciado entre os dois grupos de genótipos pode estar ocorrendo devido à maior eficiência de transporte de P das raízes para a parte aérea, que pode estar relacionada à quantidade e ao tipo de transportadores de fosfato presentes em cada cultivar nos tecidos que dão acesso ao transporte de longa distância.

Existem dois sistemas de transporte de Pi nas células, o de baixa e o de alta afinidade (Bialeski, 1973). O sistema de baixa afinidade parece ser expresso de maneira constitutiva, enquanto o sistema de alta afinidade tem membros induzidos em condições de baixa disponibilidade de Pi no sistema (Raghothama, 1999; Daram et al., 1999). Sendo assim, pode-se hipotetizar que, o cultivar Toropi e as linhagens recombinantes semelhantes a este na resposta ao P, possuam maior capacidade de regulação destes sistemas, principalmente o de alta afinidade, fazendo com que, mesmo numa condição de baixa disponibilidade de P, elas transportem e absorvam mais Pi e por consequência apresentem rendimento similar ao obtido sob alta disponibilidade deste nutriente.

Seguindo esta hipótese, os genótipos mais tolerantes à deficiência de P estariam induzindo a expressão de genes que codificam transportadores de alta afinidade de Pi e, desta forma, teriam maior capacidade para transportar este nutriente. Isto também poderia explicar o cultivar Toropi apresentar maior teor de Pi livre na parte aérea que o Anahuac nas doses mais baixas de P (Figura 8). Esta hipótese poderia ser testada

comparando a expressão de transportadores de Pi de alta afinidade nos dois genótipos sob limitação de P, porém em trigo estas proteínas ainda não foram identificadas. Outra forma de testar a hipótese seria quantificar a taxa de transporte nos cultivares usando Pi radioativamente marcado. Esperaria-se que Toropi possuísse maior número de transportadores de alta afinidade e, por conseguinte maior taxa de transporte de Pi em comparação a Anahuac.

Como discutido anteriormente, os resultados obtidos nos três estudos sugerem que o fator que determina maior tolerância à deficiência de P em Toropi esteja relacionado à eficiência de uso de Pi, a qual engloba também o transporte de Pi das raízes para a parte aérea, através de transportadores de Pi envolvidos no carregamento deste nutriente para o xilema para que seja conduzido à parte aérea e no descarregamento deste nas células. Hamburguer et al. (2002) identificaram em *Arabidopsis thaliana*, através do estudo de mutantes, um gene denominado *Pho1* que codifica justamente uma proteína de carregamento de P para o xilema.

Outra característica analisada neste trabalho foi a eficiência de absorção de Pi pela plântula, que indica a quantidade de Pi que a plântula consegue absorver da solução nutritiva por mg de peso seco de raízes. Foi observada diferença entre Toropi e Anahuac na eficiência de absorção de Pi apenas na dose de 10 μM , onde Toropi foi superior (Figura 10). Este dado suporta a hipótese do mecanismo de tolerância também envolver maior capacidade de absorção em baixa disponibilidade de P. No Estudo III, o comportamento do cultivar Anahuac se confirmou, maior eficiência de absorção em maiores doses, e o mesmo ocorreu nas linhagens recombinantes similares a este (Figura 19). Já o cultivar Toropi não respondeu da mesma maneira observada no Estudo II, houve diferença significativa entre as doses de 10 e 1000 μM de P na solução nutritiva (Figura 19). Uma das hipóteses para a mudança de comportamento é o efeito da

temperatura mais elevada durante o desenvolvimento das plântulas no último estudo. Uma temperatura 5 a 8 graus mais alta pode ser suficiente para causar estresse em um cereal de inverno como o trigo. Este segundo estresse provavelmente interferiu na aclimação a Pi, além de alterar outras características da plântula, como a alometria (Figuras 7 e 13), por exemplo. O aumento na temperatura fez com que as diferenças entre os tratamentos diminuíssem, já que a plântula estava submetida a outro estresse, além da deficiência de P *per se*. Redução na tolerância a um estresse em decorrência do aumento da temperatura do ar foi também observada por Limberger (2006) quando avaliou a tolerância ao Al⁺³ em aveia.

A eficiência de absorção de Pi no cultivar Toropi foi menor na dose de 30 µM do que em 10 µM (Figura 10), como observado em outras das características analisadas. Comportamento similar também foi observado nos outros genótipos similares a cultivar Toropi. Este efeito sugere que a dose limite de P que desencadearia o processo de resposta à deficiência de P, seja inferior 30 µM de P. Na dose de 30 µM, os genótipos tolerantes avaliados apresentam redução nas características teor e quantidades de Pi livre na parte aérea e total na plântula (Figuras 8, 9, 15, 17 e 18). Isto pode estar ocorrendo devido ao fato de que nesta dose não ocorra indução de genes que codificam transportadores de alta afinidade, por exemplo, e o transporte de Pi esteja sendo feito, na sua maioria, por transportadores de baixa afinidade ou por um menor número de transportadores de alta. Sendo assim, a quantidade de Pi na solução é baixa para que o transporte por este tipo de transportadores seja eficiente, reduzindo os valores das características citadas acima. Apesar da dose de 10 µM representar menos Pi disponível na solução, os transportadores de alta afinidade estariam sendo expressos e isto aumentaria a eficiência no transporte de Pi, apresentando valores superiores nestas mesmas características. Sob deficiência de P, os transportadores de alta afinidade

conseguem capturar maiores quantidades de Pi da solução em comparação aos transportadores de baixa afinidade. Sob condição de alta disponibilidade de P, os transportadores de baixa afinidade teriam maior capacidade de absorver este nutriente, pois haveria grande quantidade deste no meio e a velocidade de absorção de Pi por estes transportadores é superior quando comparada a dos transportadores de alta afinidade. Outro tipo de regulação transcricional pode estar envolvida, como a indução de genes que codificam fatores de transcrição, que poderiam afetar vários passos do processo de aclimatação à limitação de Pi. Os fatores de transcrição são proteínas que, quando expressas, se ligam ao DNA de células eucarióticas para permitir que haja uma ligação entre a enzima RNA-polimerase e o DNA, permitindo assim a transcrição e a futura tradução de uma ou muitas proteínas. Nesse sentido, alguns genes que codificam fatores de transcrição foram identificados como causa da tolerância à deficiência de P em *arabidopsis* (Rubio et al., 2001) e em arroz (Yi et al., 2005). A superexpressão do fator de transcrição isolado em arroz, *OsPTF1*, altera a expressão de 158 genes e aumenta o número de afilhos, a quantidade de Pi acumulado na plântula, o peso de panículas e os pesos seco da parte aérea e raízes (Yi et al., 2005). Durante a realização do presente trabalho, desenhou-se primers baseados na seqüência de nucleotídeos descrita por Yi et al. (2005) e se testou com o DNA genômico do cultivar de trigo Toropi, mas o resultado da reação de amplificação foi negativo. Diferenças nos nucleotídeos no local de pareamento das seqüências iniciadoras podem ser a causa da não amplificação, sendo que as técnicas de hibridização podem ser mais eficazes na identificação de genes ortólogos.

Em resumo, usando a metodologia aqui apresentada e avaliando o teor ou a quantidade de Pi livre na parte aérea e total da plântula nas doses de 10 e 1000 μM foi possível diferenciar os genótipos considerados contrastantes quanto à tolerância à

deficiência de P no solo. Entre estas duas doses, os cultivares mais tolerantes não apresentam diferença estatística (razão próxima a 1,0) enquanto os cultivares sensíveis à deficiência de P seguem aumentando os valores de teor e quantidade de Pi livre na parte aérea e na plântula até a maior dose (razão menor que 0,5).

6. CONCLUSÕES

O endosperma da semente de trigo possui reservas de fósforo que impedem a observação de diferenças morfofisiológicas em resposta à limitação deste no ambiente, em estádios iniciais de desenvolvimento.

Com a remoção do endosperma da semente é possível diferenciar genótipos de trigo quanto à tolerância à deficiência de fósforo em solução nutritiva, aos dez dias após a germinação.

A diferenciação de genótipos de trigo quanto à tolerância à deficiência de fósforo em solução nutritiva é possível de ser realizada através do cálculo da razão entre os valores de teor e quantidade de fosfato livre na parte aérea ou quantidade total deste na plântula obtidos nas doses de 10 e 1000 μM de P, sendo que para os genótipos tolerantes esta razão fica próxima a um e nos genótipos sensíveis próxima a 0,5.

O cultivar Toropi e os genótipos NYW 865-016, NYW 865-081 e NYW 865-086 são mais tolerantes à deficiência de fósforo em solução nutritiva quando comparados ao cultivar Anahuac e os genótipos NYW 865-034 e NYW 865-073.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, S.; BLUME, B.; GLUND, K. Evidence for RNA-oligonucleotides in plant vacuoles isolated from cultured tomato cells. **Plant Physiology**, Rockville, v.94, n.9, p.1163-117,1990.

ABEL, S. et al. Induction of an extracellular cyclic nucleotide phosphodiesterase as an accessory ribonucleolytic activity during phosphate starvation of cultured tomato cells. **Plant Physiology**, Rockville, v.122, n.2, p.543-552, 2000.

ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22, n.1, p.21-26, 1998.

ALLAN, D.L.; JOHNSON, J.F.; VANCE, C.P. Plant Phosphorus Deficiency in *Lupinus albus*: Altered lateral Root Development and Enhanced Expression of Phosphoenolpyruvate Carboxylase. **Plant Physiology**, Stanford, v.112, p.31-41, 1996.

ALMEIDA, R.S. **Identificação e caracterização de genes de transportadores de fósforo em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2002. 76 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

AMES, B.N. Assay of inorganic phosphate, total orthophosphate and phosphatases. In: NEUFELD, E.; GINSBURG, V. **Methods in Enzymology**. San Diego: Elsevier Academic Press, 1966. v.8, p.115-118.

BHADORIA, P.B. et al. Soil phosphate diffusion coefficients: their dependence on phosphorus concentration and buffer power. **Soil Science Society**, Stanford, v. 55, p.56–60, 1991.

BIELESKI, R.L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. **Annual Review of Plant Physiology**, Stanford, v.24, p.225-252, 1973.

BISSANI, C. A.; GIANELLO, C.; TEDESCO, J.M.; CAMARGO, F. O. C. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre: Gênese, 2004. 328p.

BOATWRIGHT G.O.; VIETS Jr., F.G. Phosphorus absorption during various growth stages of spring wheat and intermediate wheatgrass. **Agronomy Journal**, Madison, v.58, p.185-188, 1966.

BOFF, T. **Tolerância ao alumínio em trigo: identificação e caracterização molecular de genes.** 2006. 112 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

BUCHANAN, B.B.; GRUISSSEN, W.; JONES, R.L. **Biochemistry & molecular biology of plants.** Rockville: American Society of Plants Physiologists, 2000. 1367p.

BUCHER, M.; RAUSCH, C.; DARAM, P. Molecular and biochemical mechanism of phosphorus uptake into plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v.164, p.209-217, 2001.

CALBO, A.G.; CAMBRAIA, J. Efeito do alumínio sobre a composição mineral de dois cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Revista Ceres**, Viçosa, v.27, n.152, p.369-378, 1980.

CAMARGO, C.E.O.; FERREIRA FILHO, A.W.P. Influência da concentração de fósforo e da temperatura das soluções nutritivas no crescimento das raízes primárias de Trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.11, p.279-284, 2005.

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.

CHEN, D.L.; DELATORRE, C.A.; BAKKER, A; ABEL, S. Conditional identification of phosphate-starvation-response mutants in *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.1, n.211, p.13-22, 2000.

CLARKSON, D.T.; HANSON, J.B. The mineral nutrition of higher plants. **Plant Physiology**, Rockville, v.31, p.239-298, 1980.

COCK, W.R.S.; TARDIN, F.D.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; SCAPIM, C.A.; AMARAL, J.F.T.; CUNHA, G.M.; BRESSAN-SMITH, R.E.; PINTO, R.J.B. Seleção de genótipos de alface eficientes na absorção do fósforo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.25, p.59-64, 2003.

DARAM, P. et al. *Pho2; 1* encodes a low-affinity phosphate transporter from *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, Rockville, v.11, p.2153-2166, 1999.

DELATORRE, C.A. **Phosphate-deficiency response: understanding the signaling pathway.** 2002. 158 f. Tese (Doutorado em Biologia de plantas -) – Universidade da California, Davis, 2002.

DONG, B.; RENGEL, Z.; DELHAIZE, E. Uptake and translocation of phosphate by *pho2* mutant and wilt-type seedlings of *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, Heidelberg, v.205, n.2, p.251-256, 1998.

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. 102 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação

em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1994.

DORNELLES, A.L.C. et al. Avaliação simultânea para tolerância ao alumínio e sensibilidade ao ácido giberélico em trigo hexaplóide. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.9, p.893-896, 1997.

DUFF, S.M.G.; SARATH, G.; PLAXTON, W.C. The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.90, p.791-800, 1994.

FERNANDES, C. **Eficiência de diferentes cultivares de híbridos de milho quanto a utilização de fósforo em solos de Cerrado**. 2001. 51 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

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

FREITAS, J.G.; CANTARELLA, H.; CAMARGO, C.E.O.; FERREIRA FILHO, A.W.P.; FELICIO, J.C.; JÚNIOR, A.P.; RAMOS, V.J. Efeito do calcário e do fósforo na produtividade de grãos e seus componentes nos cultivares de trigo. **Bragantia**, Campinas, v.58, p.375-386, 1999.

FURIHATA, T.; SUZUKI, M.; SAKURAI, H. Kinetic characterization of two phosphate uptake systems with different affinities in suspension-cultured *Catharanthus roseus* protoplast. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 33, p.1151-1157, 1992.

GAHOONIA T.S.; NIELSEN, N.E. Direct evidence of participation of root hairs in phosphorus (^{32}P) uptake from soil. **Plant Soil**, Dordrecht, v.198, n.2, p.147-152, 1998.

GERLOFF, G.C.; GABELMAN, W.H. Genetic basis of inorganic plant nutrition. In: LÄUCHLI, A.; BIELESKI, R.L. (eds.). **Inorganic plant nutrition**. New York: Springer – Verlag, 1983. p.453-480.

GERZABEK, M.H.; EDELBAUER, A. Aluminium-Toxizität bei Mais (*Zea mays*, L.). Einfluss des Aluminiums auf Substanzbildung und Nährstoffgehalt. **Die Bodenkultur**, Viena, v.37, p.309-319, 1986.

GODDARD, R.E.; HOLLIS, C.A. The genetic basis of forest tree nutrition. In: NAMBIAR, E.K.S. (eds.). **Nutrition of plantation forest**. London: Academic Press, 1984. p.237-258.

GOEDERT, W.J. et al. Nutrient use efficiency in Brazilian acid soils: Nutrient management and plant efficiency. In: MONIZ, A.C. et al. (Ed.). **Plant-Soil Interactions at low pH: sustainable agriculture and forest production**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. p.29-38.

GONÇALVES, J.L.M. et al. Cinética de adsorção de fósforo em solos de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.9, p.107-111, 1997.

GRAHAM, R.D. Breeding for nutritional characteristics in cereals. **Plant Nutrition**, Dordrecht, v.1, p.57-101, 1984.

GRANT, C.A., et al. A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, v.1, n.95, p.1-5, 2001.

GREEN, P.J.; LEBRASSEUR, N.D.; MACINTOSH, G.C.; PÉREZ-AMADOR, M.A.; SAITOH, M. Local and systemic wound-induction of RNase and nuclease activities in *Arabidopsis*: RNS1 as a marker for a JA-independent systemic signaling pathway. **Plant Journal**, Oxford, v.4, p. 393-403, 2002.

HAMBURGUER, D. Et al. Identification and characterization of the *Arabidopsis* PHO1 gene involved in phosphate loading to the xylem. **The Plant Cell**, Rockville, v.14, n.4, p.889-902, 2002.

HÄRTEL, H.; DÖRMANN P.; BENNING, C. DGD 1-independent biosynthesis of extraplastidic galactolipids after phosphate deprivation in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Michigan, v.97, n.19, p.10649-10654, 1999.

HOLFORD, L.C.R. Soil phosphorus: its measurement and its uptake by plants. **Australian Journal of Soil Research**, Sidney, v.35, p.227-239, 1997.

HORST, W.J. *et al.* Genotypic differences in phosphorus efficiency of wheat. In: BARROW, N.J. (ed.). **Plant nutrition – from genetic engineering to field practice**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993, 367-370.

JONES, D.L. Organic acids in the rhizosphere: a critical review. **Plant Soil**, Dordrecht, v.205, p.25-44, 1998.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: UFRGS, 2004.

LANA, R.M.Q.; ZANÃO JÚNIOR, L.A.; CORREIA, N.M.; LANA, A.M.Q. Variabilidade entre genótipos de feijoeiro na eficiência no uso do fósforo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, p.778-784, 2006.

LAUCHLI, A. Soil science in the next twenty five years: does a biotechnology play a role? **Soil Science Society of America Journal**, Stanford, v.51, p.1405-1409, 1987.

LEAL, J.R.; VELLOSO, A.C.X. Adsorção de fósforo em latossolos sob vegetação de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.8, p.81-88, 1973.

LEYSER, O. et al. Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 29, p.151-760, 2002.

LIMBERGER, E. **Identificação de genes responsivos ao alumínio tóxico em aveia branca (*Avena sativa*)**. 2006. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-

Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

LINDEGREN, D.T. et al. Variability of phosphorus uptake and translocation in *Phaseolus vulgaris* L. under phosphorus stress. **Journal American Society Horticulture Science**, Alexandria, v.102, p.674-677, 1977.

LIU, C.M. et al. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissue by phosphorus. **Plant Physiology**, Rockville, v.116, p.91-99, 1998.

LÖFFLER, A. et al. Phosphate-regulated induction of intracellular ribonucleases in cultured tomato (*Lycopersicon esculentum*) cells. **Plant Physiology**, Rockville, v.98, n.4, p.1472-1478, 1992.

LYNCH, J. Root architecture and plant productivity. **Plant Physiology**, Rockville, v.109, n.1, p.7-13, 1995.

LYNCH, J.; BROWN, K.M. Regulation of root architecture by phosphorus availability. In: LYNCH, J.P.; DEIKMAN, J. (Ed.). **Phosphorus in plant biology: regulatory roles in molecular, cellular, organismic and ecosystem processes**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1998. p.148-156.

MA, Z.; BIELENBERG, D.G.; BROWN, K.M.; LYNCH, J.P. Regulation of root hair density by phosphorus availability in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Environment**, Oxford, v.24, n.4, p.459-467, 2001.

MACHADO, P.L.O.A. **Considerações gerais sobre a toxicidade do alumínio nas plantas**. Rio de Janeiro: Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 22p.

MANJUNATH, A.; HABTE, M. Establishment of soil solution P levels for studies involving vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.21, n. 7/8, p. 557-566, 1990.

MARSCHNER, H. **Functional of mineral nutrients: macronutrients**. In: MINERAL nutrition of higher plants. London: Academic Press, 1995. 330p.

MARTINEZ, H.E.P.; NOVAIS, R.F.; SACRAMENTO, L.V.S do; RODRIGUES, L.A. Comportamento de variedades de soja cultivadas sob diferentes níveis de fósforo: translocação do fósforo absorvido e eficiência nutricional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v 17, n.2, p.239-244,1993.

MIRANDA, L.N. **Aluminum-phosphate interactions in relation to wheat growth**. Reading, 1985, 169 f. Tese (Doutorado) - University of Reading, UR, Inglaterra, 1985.

MUCHAL, U.S.; PARDO, J.M.; RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana*. **Plant Biology**, Rockville, v.93, n.19, p.10519-10523, 1996.

NAVA, I.C. **Estratégias de avaliação e herança da tolerância ao alumínio em linhagens recombinantes de aveia (*Avena sativa* L.)**. 2005. 92 f. Dissertação

(Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F. Sustainable agriculture and forestry production systems on acid silts: Phosphorus as a case-study. In: MONIZ, A.C. *et al.* (Ed.). **Plant-Soil Interactions at low pH: sustainable agriculture and forest production**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. p.29-38.

PINTO, K.G. **Caracterização de mutantes condicionais de *Arabidopsis thaliana* em organofosfatos**. 2005. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

PLAXTON, W.C. Metabolic aspects of phosphate starvation in plants. In: LYNCH, J.P. and DEIKMAN, J. (Ed.). **Phosphorus in plant biology: regulatory roles in molecular, cellular, organismic and ecosystem processes**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1998. p.229-241.

PLAXTON, W.C.; CARSWELL, M.C. Metabolic aspects of the phosphate starvation response in plants. In: LERNER, H.R. (Ed.). **Plants Responses to Environmental Stresses: From Phytochromes to Genome Reorganization**. New York: Marcel Dekker, 1999. p.349-372.

RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate acquisition. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biological**, Palo Alto, v.50, p.665-693, 1999.

RAGHOTHAMA, K.G. Phosphate transport and signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, Londres, v.3, n.3, p.182-187, 2000.

RAUSCH, C. et al. A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato. **Nature**, London, v.414, n.6862, p.462-466, 2001.

ROSA, O.S.; CAMARGO, C.E.O. Wheat breeding for better efficiency in phosphorus use. In: SAUNDERS, D.A., (ed.). **Wheat for the nontraditional warm areas: a proceeding of the international conference**. Foz do Iguaçu: United Nations Development Programme International Maize and Wheat Improvement Center, 1990. p.333-351.

RUBIO, V. et al. A conserved MYB transcription factor involved in phosphate starvation signaling both in vascular plants and in unicellular algae. **Genes & Development**, Woodbury, v.15, p.2122-2133, 2001.

SAKANO, K. Proton/phosphate stoichiometry in uptake of inorganic phosphate by cultured cells of *Catharanthus roseus* (L.) G. **Plant Physiology**, Rockville, v.93, n.2, p.797-801, 1990.

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

SÁNCHEZ-CHACÓN, C.D. et al. Avaliação de cultivares elite de aveia hexaplóide quanto à toxicidade do alumínio em cultivo hidropônico. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 21., Lages, 2001. **Anais: Resultados Experimentais**. Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina, 2001. p.90-91.

SÁNCHEZ-CALDERÓN, L. et al. Phosphate starvation induces a determinate developmental program in the roots of *Arabidopsis thaliana*. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v.46, p.174-184, 2005.

SÁNCHEZ, P.A.; SALINAS, J.G. Low input technology for managing oxisoils and ultisoils in Tropical America. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.34, p.279-398, 1981.

SCHACHTMAN, D.P.; REID, R.J.; ALING, S.M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology**, Rockville, v.116, n.2, p.447-453, 1998.

SHIN, H.; SHIN, H.S.; CHEN, R.; HARRISON, M.J. Loss of *At4* function impacts phosphate distribution between the roots and the shoots during phosphate starvation. **The Plant Journal**, Oxford, v.5, p.712-726, 2006.

SOON, Y.K. Differential response of wheat genotypes to phosphorus in acid soils. **Journal of Plant Nutrition**, Dordrecht, 15:513-526, 1992.

TADANO, T.; SAKAI, H. Secretion of acid phosphatase by the roots of several crops species under phosphorus-deficient conditions. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokio, v.37, n.1, p.129-140, 1991.

ULLRICH, C.; NOVACKY, A. Extra- and intracellular pH and membrane potential changes induced by K⁺, Cl⁻, H₂PO₄⁻ and NO₃ uptake and fusicoccin in root hairs of *Limnobium stoloniferum*. **Plant Physiology**, Rockville, v.94, p.1561-1567, 1990.

WATT, M.; EVANS, J.R. Proteoid roots: physiology and development. **Plant Physiology**, Rockville, v.121, n.2, p.317-323, 1999.

WIENEKE, J. Phosphorus efficiency and phosphorus remobilization in two sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cultivars. **Plant Soil**, Dordrecht, v.23, p.139-145, 1990.

WHITEAKER, G. et al. Intraspecific differences in growth of beans at stress levels of phosphorus. **Journal American Society Horticulture Science**, Alexandria, v.101, p.472-475, 1976.

WRIGHT, K.E. Internal precipitation of phosphorus in relation to aluminum toxicity. **Plant Physiology**, Rockville, v.18, p.708-712, 1943.

YI, K. et al. *OsPtF1*, a novel transcriptional factor involved in tolerance to phosphate starvation in rice. **Plant Physiology**, Rockville, v.138, p.2087-2096, 2005.

APÊNDICE 1. Peso seco da parte aérea de genótipos de trigo na antese (PSA) e na maturação (PSM), peso seco de raízes na maturação (PSR), sob condições de baixa e alta disponibilidade de fósforo (P) a campo e razão entre baixa e alta disponibilidade de P para cada parâmetro analisado. Passo Fundo¹.

Genótipo	Disponibilidade de P						Razão baixo P/ alto P		
	Baixa			Alta			PSA	PSM	PSR
	PSA	PSM	PSR	PSA	PSM	PSR			
Anahuac	10,4	10,5	1,5	13,7	14,4	2,4	0,8	0,7	0,6
Toropi	15,2	21,6	7,4	14,8	19,1	7,3	1,0	1,1	1,0
NYW 865-016	15,6	15,1	5,0	15,2	15,3	4,3	1,0	1,0	1,1
NYW 865-034	10,0	9,3	0,7	11,5	13,9	2,2	0,9	0,7	0,3
NYW 865-073	10,8	9,7	2,7	11,5	14,1	2,6	0,9	0,7	1,0
NYW 865-081	15,4	13,9	2,4	14,7	16,6	4,6	1,0	0,8	0,5
NYW 865-086	14,3	15,9	6,9	16,8	17,2	8,6	0,9	0,9	0,8

¹Dados obtidos por Minella, pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em solo sob condições de casa de vegetação, em Passo Fundo-RS.

10. VITA

Adriano Alves da Silva, filho de Paulo Regis Ferreira da Silva e Sueli Alves da Silva, nasceu em Porto Alegre, estado do Rio Grande do Sul em 04 de julho de 1980.

Cursou o primeiro e segundo graus no Colégio Champagnat, em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. No ano de 2000 ingressou no Curso de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em Porto Alegre, onde se graduou como Engenheiro Agrônomo em 11 de janeiro de 2005. Em março de 2005 ingressou no Curso de Mestrado em Fitotecnia, do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.