

CLASSIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE GIRASSOL QUANTO À TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO PELO MÉTODO DE COLORAÇÃO DE RAÍZES COM HEMATOXILINA

Andrade, L.R.M. de¹; Shibata, E.T.²; Rodrigues, G.C.¹; Farias Neto, A.L. de¹;
¹Embrapa Cerrados; ²Bolsista PIBIC/UnB. (leide@cpac.embrapa.br).

INTRODUÇÃO

Vários métodos têm sido usados para a detecção de Al nas células de raízes e com isto correlacionar com a tolerância das plantas a este elemento. O método que utiliza a hematoxilina é baseado na propriedade deste composto orgânico de desenvolver uma cor azul-turquesa quando complexado com o Al. Com esta técnica, tem sido possível indicar diferenças em tolerância ao Al entre variedades de trigo e milho. Este corante tem sido usado também, para localização histoquímica do Al na superfície das raízes, na parede celular e no núcleo das células.

OBJETIVO

Avaliar a capacidade do método de coloração das raízes com hematoxilina de classificar genótipos de girassol quanto à tolerância ao Al.

MATERIAIS E MÉTODOS

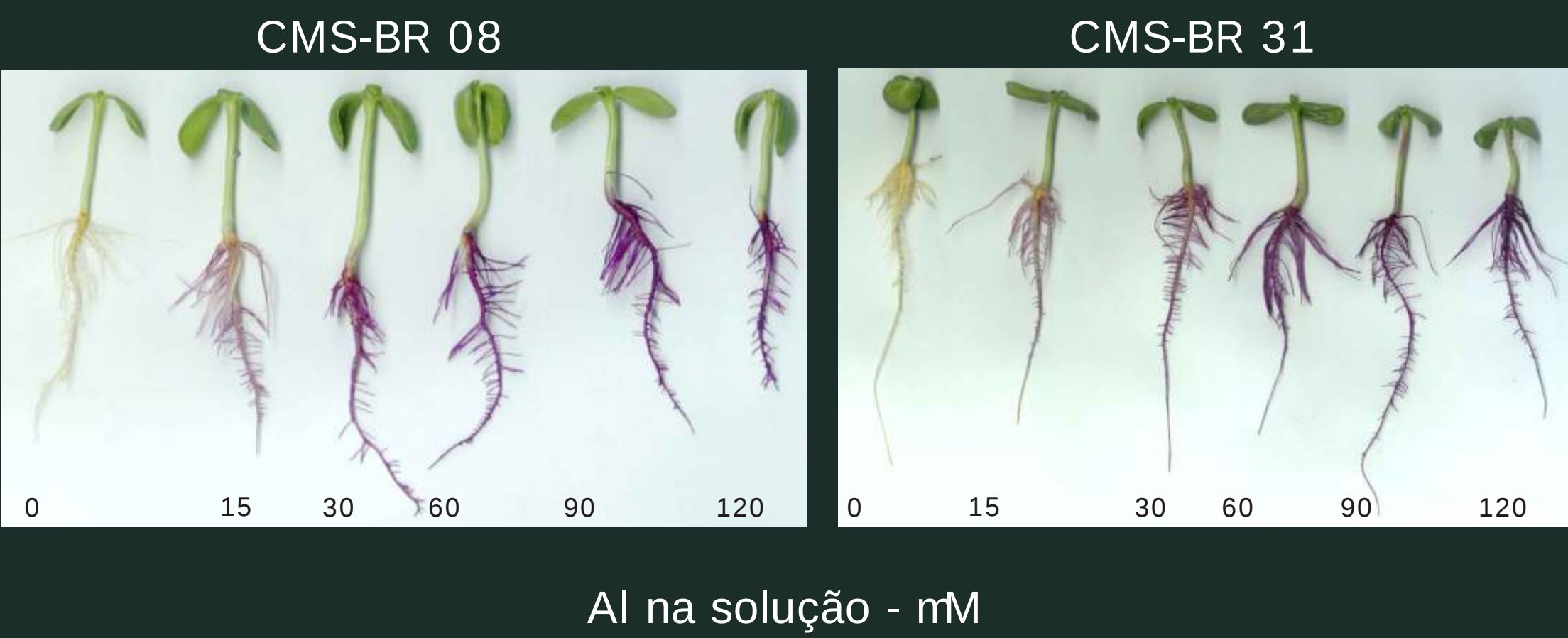
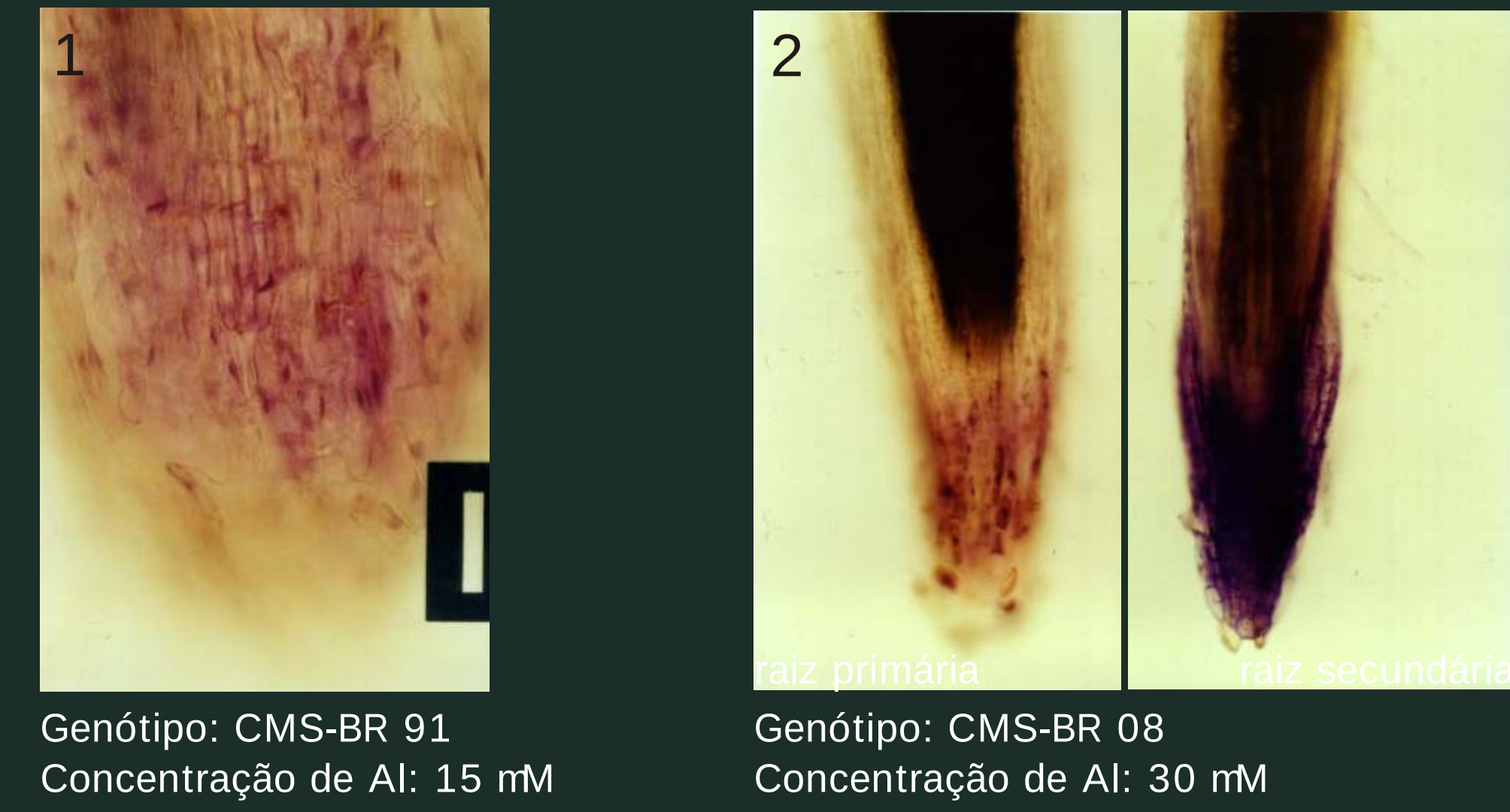
- Solução nutritiva de crescimento:**
400 nM CaCl₂, pH 6,0, 30 ml/frasco), por cerca de 90 horas
- Soluções tratamentos:**
 - com Al = 15, 30, 60, 90 e 120 nM AlCl₃ + 400 nM CaCl₂, pH 4,5
 - sem Al = 400 nM CaCl₂, pH 4,5Tempo de tratamento: uma, duas, três, quatro e 24 horas.
- Tratamento com hematoxilina:**
2,0 g hematoxilina (VETEC) + 0,2 g de NaIO₃/l, por 30 minutos.

- Condições de crescimento das plântulas:**
- câmara de crescimento, a 25 °C, 70 % umidade, 12 horas de luz
- Parâmetros avaliados:**
- sintomas de toxidez de Al na parte aérea e raízes;
- padrão de coloração das raízes com hematoxilina; localização do Al nas células da zona apical.
- Registro dos resultados:**
microscópio (Axiophot); scanner de mesa HP, fixação dos ápices das raízes com fita adesiva transparente.

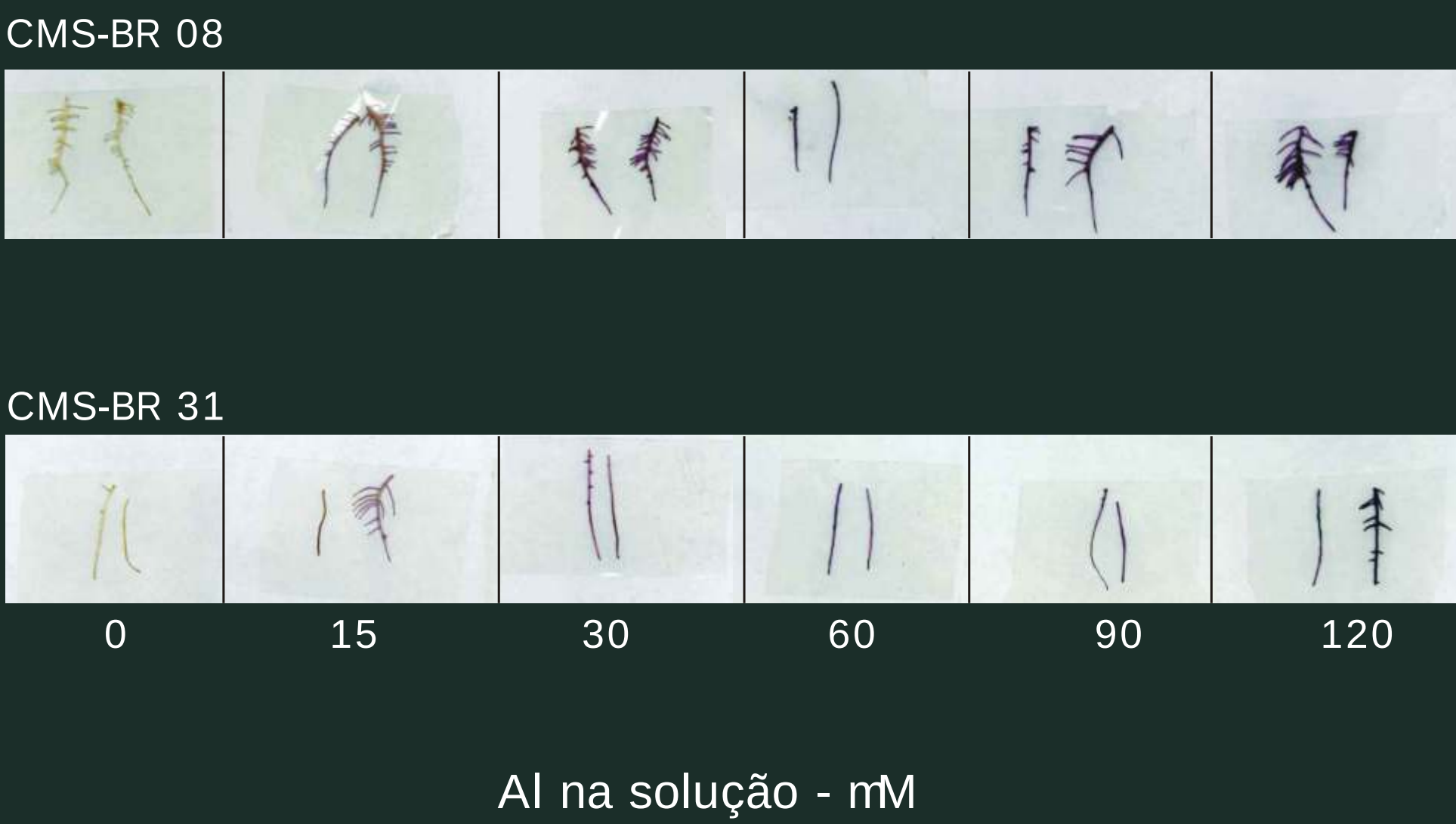
RESULTADOS E DISCUSSÃO

1) Localização do Al nas células da região apical com hematoxilina (aumento: 400 X);

2) Padrão de coloração de raízes de diferentes ordens com hematoxilina, em uma mesma concentração de Al, por 2 horas (aumento: 200 X).



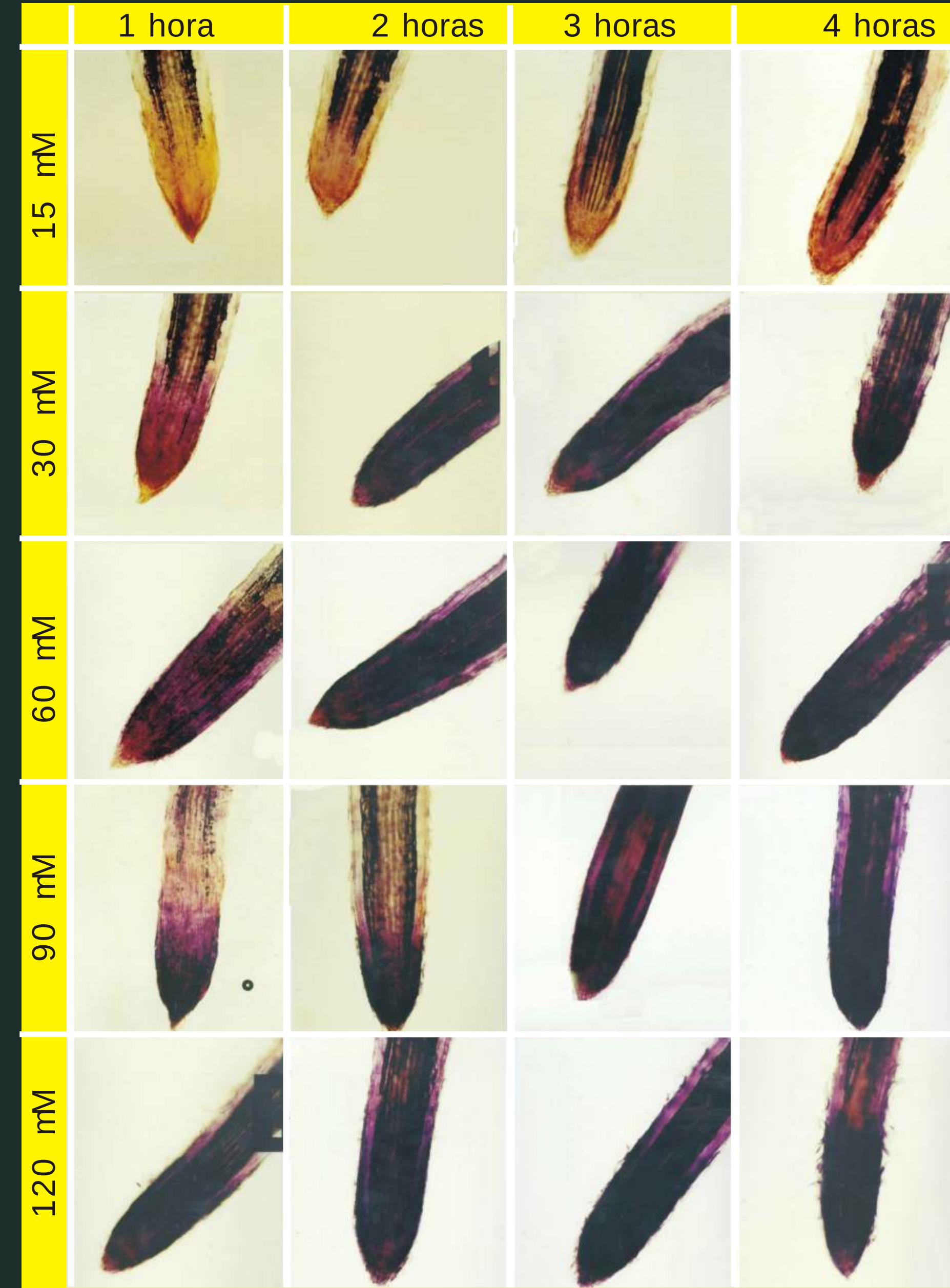
Padrão de coloração de raízes, com hematoxilina, de plântulas de dois genótipos de girassol, a) CMS-BR 08 e b) CMS-BR 31, submetidas a diferentes concentrações de Al (AlCl₃ + 400 nM CaCl₂) na solução, pH 4,5, por duas horas.



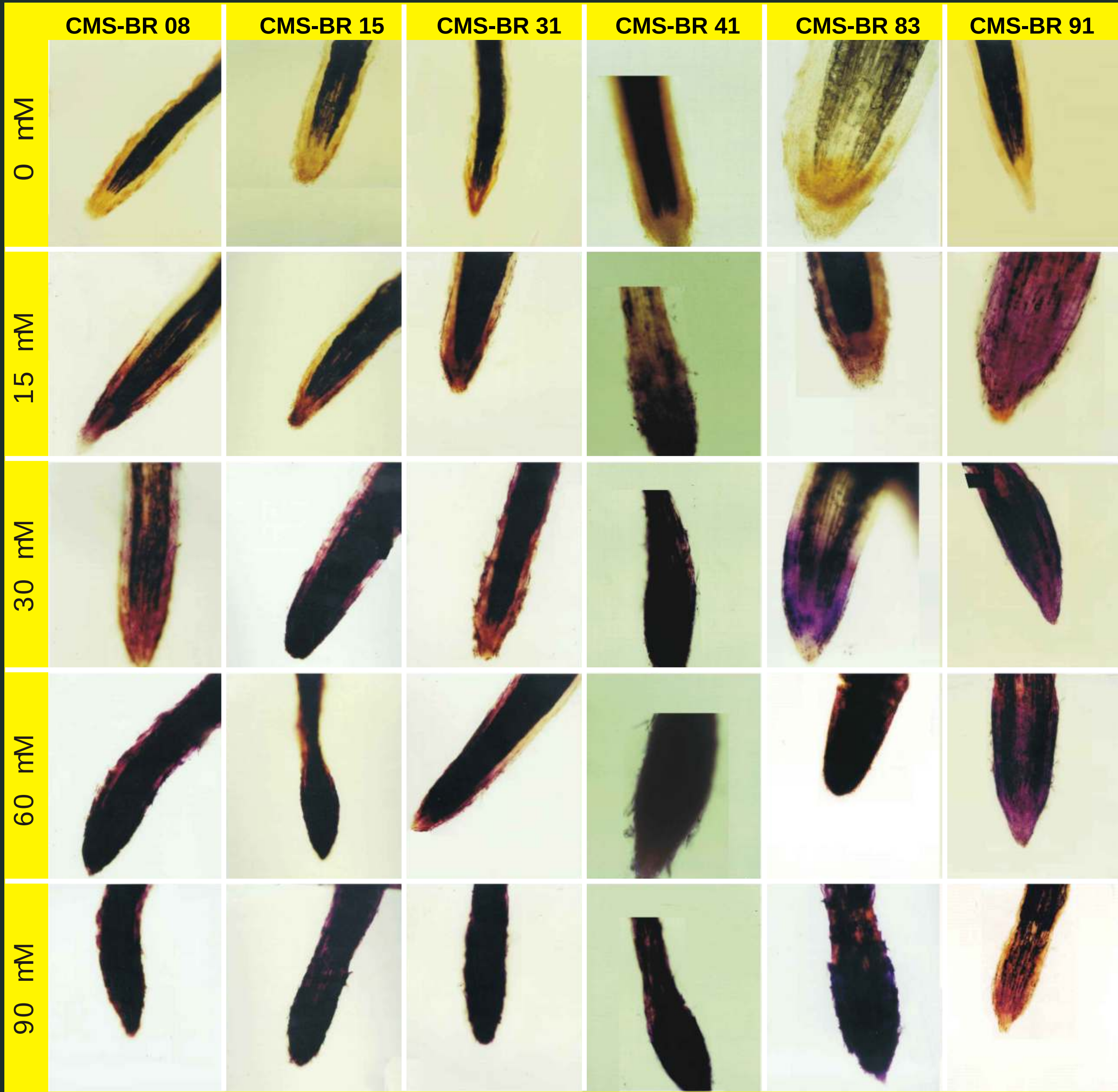
Padrão de coloração, com hematoxilina, dos ápices da raiz principal de plântulas dos genótipos CMS-BR 08 e CMS-BR 31, submetidas a diferentes concentrações de Al (AlCl₃ + 400 nM CaCl₂) na solução, pH 4,5, por duas horas.

Efeitos da concentração e do tempo de exposição ao Al no padrão de coloração das raízes com hematoxilina

GENÓTIPO: CARGILL 11



Padrão de coloração com hematoxilina da zona apical de genótipos de girassol submetidos a diferentes concentrações de Al



Genótipo	Padrão de coloração do ápice da raiz concentração do Al - (nM)			
	15	30	60	90
Br 31				
Br 15				
Br 83				
Br 91				
Br 41				
Br 08				

CONCLUSÕES

- O protocolo experimental desenvolvido para classificação dos genótipos de girassol quanto a tolerância ao Al pelo método de coloração das raízes com hematoxilina é simples e rápido, permitindo a avaliação ainda nos primeiros estágios de desenvolvimento das plântulas;
- a observação ao microscópio ou lupa, e registro, como fotos/imagens, da zona apical das raízes auxiliam na classificação dos genótipos posteriormente;

- raízes secundárias e primárias apresentaram padrão de coloração diferentes. A classificação quanto à tolerância ao Al deve ser feita sobre a raiz principal;
- a classificação dos genótipos avaliados pelo método da hematoxilina indicou a seguinte ordem de tolerância ao Al: CMS-BR 15 @CMS-BR 83 > CMS-BR 31 @CMS-BR 91 > CMS-BR 08 @CMS-BR 41.

Observação ----- Al (nM) -----	Índice de tolerância	Classificação	Padrão de coloração da ponta da raiz Concentração de Al (nM)					Genótipo
			7,5	15	30	60	90	
Tolerante a 90 nM	1 2	Muito tolerante						CMS-BR 15
Tolerante a 60 nM	3 4	Tolerante						CMS-BR 83 CMS-BR 31
Tolerante a 30 nM	5 6	Intermediário						CMS-BR 91 CMS-BR 41
Tolerante a 15 nM	7 8	Sensível						CMS-BR 08
Tolerante a 7,5 nM	9	Muito sensível						