

VARIAÇÃO SOMACLONAL NA TOLERÂNCIA À TOXICIDADE DO ALUMÍNIO E SENSIBILIDADE AO ÁCIDO GIBERÉLICO EM TRIGO¹

ANA LÚCIA CUNHA DORNELLES², FERNANDO IRAJÁ FÉLIX DE CARVALHO³, LUIZ CARLOS FEDERIZZI⁴, MARIA JANE CRUZ DE MELO SERENO⁵, CRISTINE LUISE HANDEL⁶ e ANDRÉA MITTELMANN⁷

RESUMO - Objetivando detectar a indução de variabilidade a partir do uso da cultura de tecidos e a utilização da variação somaclonal no melhoramento genético de trigo (*Triticum aestivum* L.), cinco genótipos com diferentes estaturas e com níveis de tolerância à toxicidade do alumínio (Al⁺⁺⁺), e seus híbridos F₁, foram submetidos à cultura de embriões imaturos. Paralelamente ao processo de cultura de tecidos, regeneração e desenvolvimento de plantas, os genótipos e suas progêneses foram semeados para obtenção de populações F₂, com e sem passagem por cultura de tecidos, que foram submetidas a teste simultâneo através de soluções nutritivas sucessivas em concentrações seletivas de Al⁺⁺⁺ (10 ppm) e ácido giberélico-AG₃ (100 ppm). As comparações entre populações submetidas ou não à cultura de tecidos demonstrou a existência de uma possível variação somaclonal, visto que algumas populações F₂ que passaram pelo processo *in vitro* tiveram um comportamento diferenciado quanto aos dois caracteres avaliados. O método empregado evidenciou a possibilidade de detectar diferenças genéticas em trigo e sua possível utilização no melhoramento fitogenético.

Termos para indexação: *Triticum aestivum*, cultura de tecidos, soluções nutritivas, estatura de planta, avaliação de raízes.

SOMACLONAL VARIATION IN ALUMINUM TOLERANCE AND GIBBERELIC ACID SENSIBILITY IN WHEAT

ABSTRACT - In order to detect the induction of variability through tissue culture and the utilization of somaclonal variation in wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding, five genotypes of different statures and with tolerance to aluminum (Al⁺⁺⁺) toxicity, and their F₁ hybrids, were submitted to immature embryo culture. Parallel to the tissue culture, regeneration and development processes, the genotypes and their progenies were sown to obtain F₂ population, with or without tissue culture, which were simultaneously tested by means of successive nutritive solutions in selective concentrations of Al⁺⁺⁺ (10 ppm) and gibberellic acid-GA₃ (100 ppm). The comparisons among populations submitted or not to tissue culture showed the existence of a possible somaclonal variation since some F₂ populations which passed through the *in vitro* process had a differentiated behavior regarding the two evaluated traits. The method employed confirmed the possibility of detecting genetic differences in wheat and its possible utilization in plant breeding.

Index terms: *Triticum aestivum*, tissue culture, nutritive solution, plant height, root evaluation.

INTRODUÇÃO

Grande parte dos avanços da produtividade de espécies como o trigo se devem ao melhoramento genético. Nos últimos anos, os programas de melhoramento têm anexado às técnicas tradicionais de campo alguns métodos alternativos que consistem de vários métodos de laboratório ou de casa de vegetação visando incrementar a variabilidade ou fazer seleção de forma rápida e eficiente em grandes populações.

¹ Aceito para publicação em 19 de julho de 1996.

Trabalho extraído da Tese de Doutorado da primeira autora no Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFRGS.

² Eng.^a Agr.^a, Dr.^a, Prof.^a Adjunta, Dep. Horticultura e Silvicultura, Fac. Agron., UFRGS, Av. Bento Gonçalves 7712, Caixa Postal 776, CEP 91501-970 Porto Alegre, RS.

³ Eng. Agr., Ph.D., Prof. Adjunto, Dep. Fitotecnia, Fac. Agron., UFPEL, Caixa Postal 354, CEP 96100-000 Pelotas, RS.

⁴ Eng. Agr., Ph.D., Prof. Titular, Dep. Pl. Lavoura, UFRGS.

⁵ Bióloga, Dr.^a, Prof.^a Adjunta, Dep. Pl. Lavoura, Fac. Agronomia, UFRGS.

⁶ Eng.^a Agr.^a, no curso de Mestrado, Fac. Agron., UFRGS.

⁷ No curso de Agron., UFRGS. Bolsista do CNPq.

A variação obtida pela cultura de tecidos foi denominada "Variação Somaclonal" por Larkin & Scowcroft (1981). Esta variação pode ser causada pela expressão de células mutantes nos explantes, pelo efeito dos hormônios vegetais contidos no meio de cultura, pela desestabilização ocorrida durante a fase de calo, pelos distúrbios fisiológicos e de desenvolvimento transitórios causados pelo ambiente da cultura, e por mudanças epigenéticas estáveis (Sun et al., 1983; Breiman et al., 1987).

Com o objetivo de testar no campo linhas de trigo derivadas de cultura de tecidos, Ryan et al. (1987) identificaram algumas linhas somaclonais com comportamentos extremos em comparação com os genótipos originais. Em tomate, Sibi et al. (1984) observaram que a cultura de tecidos causou um aumento expressivo na taxa de recombinação entre dois genes marcadores ligados. Hartmann et al. (1989) demonstraram que ao prolongar o período de cultura aumentavam as probabilidades de obtenção de variantes em trigo.

O Al^{+++} em níveis tóxicos no solo constitui um dos principais problemas dos solos ácidos. A tolerância de uma variedade ao Al^{+++} é dada pela capacidade de manter a divisão celular e o crescimento sob condições de estresse e modificar o ambiente radicular, diminuindo a concentração de Al^{+++} disponível (Fleming & Foy, 1968; Foy et al., 1978). O uso de técnicas de avaliação rápida da tolerância à toxicidade do Al^{+++} tem dado bons resultados (Camargo & Oliveira, 1981).

A estatura é considerada um carácter controlado por genes maiores, conhecidos como Rht (Reduction height), e por genes menores, que lhe conferem em muitos casos um comportamento quantitativo. Federizzi et al. (1992) identificaram dois genes independentes recessivos que agem em conjunto, Rht₁ e Rht₂. Os genes que controlam a insensibilidade ao ácido giberélico, Gai₁ e Gai₂, são, comprovadamente, pleiotrópicos aos genes Rht₁ e Rht₂, respectivamente (Gale & Gregory, 1977). Tal insensibilidade ao AG_3 tem sido considerada importante na avaliação precoce de estatura em trigo (Federizzi et al., 1988).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar as possibilidades de utilização da variação somaclonal no melhoramento genético de trigo para gerar variabilidade em caracteres agronomicamente importantes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram escolhidos os caracteres de tolerância a toxicidade do Al^{+++} e de sensibilidade ao AG_3 , por serem de grande interesse no melhoramento do trigo, de controle genético simples e de avaliação precoce viável.

Em uma primeira fase, realizada no campo da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, em Eldorado do Sul, RS, foram semeados cinco genótipos com diferentes estaturas e com diferentes níveis de tolerância à toxicidade do Al^{+++} no solo: Baturá (BAT) - baixo e intolerante; BH 1146 (BH) - alto e tolerante; BR 23 (BR) - baixo e tolerante; Cajeme 71 (CAJ) - baixo e intolerante; IAC 5 Maringá (MAR) - alto e tolerante. Destes genótipos, assim como dos cruzamentos realizados entre eles, foi coletado material para cultura de tecidos, com o seguinte critério: a metade superior de cada espiga foi colhida para retirada de embrião imaturo, e o restante foi mantido na planta até a maturação.

Os embriões imaturos foram retirados doze dias após a antese, e colocados em meio de cultura adequado para a formação de calos, o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com a adição de 2,0 mg/L de 2,4 D (Ácido 2,4-dicloro fenoxiacético), 3% de sacarose e 0,8% de Carragimina, e mantidos a 25°C e sem luminosidade, por três semanas. Os calos formados foram transferidos para um meio de cultura de crescimento de calo (MS com 0,5 mg/L de 2,4 D), onde foram mantidos por mais três semanas, a 25°C, no escuro, quando foram fragmentados e colocados em meio de regeneração de planta (meio MS sem adição de 2,4 D) e mantidos a 25°C e luz constante. As plantas completas foram ajustadas ao novo ambiente, e levadas para um cercado, onde foram mantidas até a maturidade. Paralelamente, nesta fase as sementes que não passaram por cultura de tecidos foram semeadas em condições idênticas às das plantas regeneradas, para também avançarem mais uma geração.

Para avaliação da variação somaclonal foi utilizado o método descrito por Camargo & Oliveira (1981), adaptado para a análise simultânea de estatura por meio da sensibilidade ao ácido giberélico (AG_3).

As sementes a serem testadas foram mantidas umedecidas, a 25°C, por doze horas, durante dez dias, a 5°C, e 24 horas antes da semeadura foram colocadas a 25°C. A semeadura foi feita sobre uma tela de plástico, em contato com a solução nutritiva. Foram utilizados dois tipos de solução nutritiva: a) solução-base: $Ca(NO_3)_2$ - 4 mM; $MgSO_4$ - 2 mM; KNO_3 - 4 mM; $(NH_4)_2SO_4$ - 0,435 mM; KH_2PO_4 - 0,5 mM; $MnSO_4$ - 2 mM; $CuSO_4$ - 0,3 mM; $ZnSO_4$ - 0,8 mM; NaCl - 30 mM; Fe-EDTA - 10 mM; Na_2MoO_4 - 0,10 mM; H_3BO_3 - 10 mM e

b) solução-tratamento - sua concentração foi um décimo da solução base, exceto que nesta solução o P era omitido e o Fe^{+++} era adicionado como $FeCl_3$. Estas soluções tinham o pH ajustado para 4 com H_2SO_4 1N.

As sementes, devidamente identificadas, foram colocadas inicialmente na solução-base, onde permaneceram por 48 horas. A seguir, elas foram transferidas para a solução-tratamento com 10 ppm de Al^{+++} (na forma de $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$), onde permaneceram por mais 48 horas, até retornarem para a solução-base, na qual ficaram por 72 horas, sendo transferidas depois para novos potes com solução-base (100 ppm de AG_3 e pH 7), onde permaneceram por 168 horas, depois do que, foram avaliadas. Durante todo o ensaio a luz foi mantida constante, e a temperatura, a 25°C.

A avaliação foi feita da seguinte forma: visual, quanto à tolerância à toxicidade do Al^{+++} (foram consideradas tolerantes as que tinham qualquer recrescimento de raiz principal a partir do dano do Al^{+++}); medida do recrescimento da raiz principal; visual quanto à sensibilidade ao AG_3 (plantas sensíveis foram as que apresentavam um crescimento do entrenó acima do normal e eram estioladas); diferença entre ponto de inserção da primeira folha e o comprimento de coleóptilo.

A análise estatística consistiu, inicialmente, de uma distribuição de frequências conjunta da tolerância ao Al^{+++} e da sensibilidade ao AG_3 pelo teste de χ^2 com H_0 de independência entre os caracteres. A partir das indicações da distribuição de frequência, foram realizadas análises comparativas de médias de plântulas descendentes de regenerantes de cultura de tecido ou não, e distribuições de frequência de populações descendentes de calos que indicaram um comportamento diferente do de outras populações do mesmo genótipo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição de frequências conjunta da tolerância ao Al^{+++} e da sensibilidade ao AG_3 , ambos em dois níveis (presença e ausência), viabilizou o reconhecimento da existência de uma possível variação somaclonal. Os dados incluídos na Tabela 1 apontam uma possível existência de variação somaclonal nas populações BAT x MAR e BAT x BR, nos quais foi observado que o χ^2 indica significância apenas quanto aos resultados de plântulas que passaram por cultura de tecidos, isto é, não determinando independência entre as quatro classes testadas nesta categoria (com cultura de tecidos).

A partir das indicações dos dados na Tabela 1, foi realizada uma análise comparativa de médias das plântulas provenientes de regenerantes de cultura de tecidos, ou não (Tabela 2); esta análise apontou, entre as diversas populações, em quais e em que caracteres poderia ter ocorrido variação somaclonal. A partir destas observações, foram feitas distribuições de frequência de populações descendentes de calos isolados que indicaram a ocorrência de uma distribuição diferente das outras populações do mesmo genótipo, o que, mesmo tratando-se de populações F_2 , é um indício de variação.

Entre genitores, as análises detalhadas de frequência de progênies de calos isolados não permitiram afirmar a existência de variação somaclonal. A análise das médias das populações F_2 (Tabela 2) detectou vários desvios entre populações segregantes provenientes de cultura de tecidos, e suas testemunhas; o mesmo não foi observado nas populações parentais. O aumento da taxa de recombinação em genótipos submetidos à cultura de tecidos tem sido apontado como um fator decisivo na indução de variação somaclonal (Sibi et al., 1984). Este aumento de recombinação seria uma explicação para o fato de havermos identificado variações importantes apenas em indivíduos heterozigotos, já que um aumento de recombinação não poderia ser identificado em indivíduos homozigotos. Desta forma, a utilização de um ciclo de cultura de tecidos usando, por exemplo, embriões imaturos F_1 , seria um instrumento importantíssimo em um programa de melhoramento, principalmente quando a finalidade deste programa de melhoramento é a quebra de blocos de ligação, para tornar viável um aumento de variabilidade.

Nas populações CAJ x BR e BAT x MAR, o caráter de parte aérea, DIF (diferença entre ponto de inserção da primeira folha e comprimento de coleóptilo), mostrou comportamento diferenciado diante da cultura de tecidos: como pode ser observado nas Figs. 1 e 2, as distribuições de frequências das progênies de alguns calos evidenciaram uma possível ocorrência de variação somaclonal.

Na Fig. 1, referente à população F_2 CAJ x BR, observou-se que a população originada a partir de plantas regeneradas do calo 20 A teve uma estatura menor que outras populações; trata-se de um cruza-

TABELA 1. Distribuição de freqüências de plântulas de cinco genótipos de trigo e das populações F₂ resultantes de seus cruzamentos, quanto à reação de tolerância à toxicidade do Al⁺⁺⁺ (10 ppm), à sensibilidade ao AG₃¹ (100 ppm) e à passagem, ou não, por cultura de tecidos (c/CT e s/CT). Porto Alegre, UFRGS, 1992 a 1994.

Variedade ou população ²	Sensíveis ao AG ₃				Insensíveis ao AG ₃			
	Tolerantes ao Al ⁺⁺⁺		Intolerantes ao Al ⁺⁺⁺		Tolerantes ao Al ⁺⁺⁺		Intolerantes ao Al ⁺⁺⁺	
	c/CT	s/CT	c/CT	s/CT	c/CT	s/CT	c/CT	s/CT
CAJ (IT, IS)	-	0	-	0	-	1	-	49
BAT (IT, IS)	0	0	0	0	0	0	108	77
BH (T, S)	-	12	-	1	-	0	-	0
MAR (T, S)	88	20	92	10	0	0	0	0
BR (T, S)	1	0	2	0	4	0	44	2
CAJ x BAT	0	0	2	0	1	0	56	9
CAJ x BH	-	-	-	-	-	-	-	-
CAJ x MAR	22	6	32	6	51	23	87	41
CAJ x BR	0	0	0	0	19	6	310	90
BAT x BH	8	16	41	37	4	2	31	13
BAT x MAR ³	24	3	83	26	0	1	38	21
BAT x BR ⁴	63	1	125	8	2	2	100	89
BH x MAR	157	102	156	37	1	0	6	0
BH x BR	100	30	14	15	34	13	7	5
MAR x BR	17	12	445	95	0	0	0	0

¹ Ácido giberélico 3.

² CAJ = Cajeme; BAT = Batuíra; BH = BH 1146; MAR = IAC 5 Maringá; BR = BR 23; IT = Intolerante ao Al⁺⁺⁺; IS = Insensível ao GA₃; T = Tolerante ao Al⁺⁺⁺; S = Sensível ao GA₃.

³ $\chi^2=10,21$, significativo (5%), H₀ de independência entre os caracteres rejeitada.

⁴ $\chi^2=37,85$, significativo (5%), H₀ de independência entre os caracteres rejeitada.

TABELA 2. Médias de recrescimento de raízes (RAIZ), altura de inserção da lâmina da primeira folha (PRI) e diferença entre altura de inserção da lâmina da primeira folha e comprimento de coleóptilo (DIF) de plântulas de cinco genótipos de trigo e populações F₂ resultantes de seus cruzamentos, com passagem ou não por cultura de tecidos (c/CT e s/CT). Porto Alegre, UFRGS, 1992 a 1994¹.

Variedade ou população ²	RAIZ		PRI		DIF	
	c/CT	s/CT	c/CT	s/CT	c/CT	s/CT
CAJ	-	0,2	-	3,3	-	1,2
BAT	0,1	0,1	3,8b	4,0a	1,8	1,8
BH	-	1,9	-	7,0	-	4,4
MAR	1,1	1,4	9,1	9,0	6,0	5,9
BR	0,4	0,1	4,8	4,2	2,4	2,3
CAJ x BAT	0,1	0,1	3,5	3,8	1,4	1,8
CAJ x BH	-	-	-	-	-	-
CAJ x MAR	1,0	0,9	5,3	5,1	2,9	2,6
CAJ x BR	0,2	0,2	4,0b	4,3a	1,7b	2,0a
BAT x BH	0,3	0,9	5,2	5,6	2,9	3,3
BAT x MAR	0,3	0,2	7,1a	5,7b	4,3a	3,3b
BAT x BR	0,7a	0,2b	6,4a	4,8b	3,9a	2,4b
BH x MAR	0,7b	1,2a	8,4	8,5	5,4	5,5
BH x BR	2,3	1,7	6,8	6,8	4,1	3,9
MAR x BR	0,1	0,2	7,4	7,4	4,6	4,7

¹ Médias seguidas por letras diferentes no sentido horizontal, dentro de uma mesma variável, diferem entre si significativamente pelo teste de Duncan (5%).

² CAJ = Cajeme; BAT = Batuíra; BH = BH 1146; MAR = IAC 5 Maringá; BR = BR 23.

mento entre um genótipo portador de um gene Rht (CAJ) e um genótipo sem este gene (BR), porém comprovadamente de estatura menor que a de outros genótipos (MAR e BH) que não o possuem, provavelmente devido à presença de genes “menores” quanto a esta característica. O comportamento dos descendentes do calo 20 A pode ser simplesmente explicado por uma taxa de recombinação diferenciada favorecendo a combinação de genes “maiores” (Rht) e menores quanto à baixa estatura, ou pela presença de mutação em alguns genes de menor efeito visando produzir genótipos de estatura mais baixa.

Analisando as Figs. 2 e 3 (cruzamentos BAT x MAR e BAT x BR), vê-se que as populações consideradas variantes (35 A e 16 D) foram de estatura mais alta que as demais originárias do mesmo cruzamento. Neste caso, a causa mais provável seria a ocorrência de mutação no gene Rht originário do genótipo BAT, desativando-o, e induzindo, des-

ta forma, a ocorrência deste fenômeno, já observada em trabalhos anteriores (Larkin et al., 1984).

Nos descendentes do cruzamento artificial BH x MAR, a diferença observada entre populações que passaram, ou não, por cultura de tecidos, foi detectada no caráter recrescimento de raízes (RAIZ). Como mostra a Fig. 4, ambos os progenitores desta população eram tolerantes ao Al⁺⁺⁺, e a população descendente das plantas regeneradas a partir do calo 11 A apresentou um comportamento de intolerância, decorrente, talvez, de alguma mutação em um gene de tolerância, ou da quebra de algum bloco de ligação, possibilitando, assim, a ocorrência de uma taxa maior que a esperada de genótipos intolerantes ao Al⁺⁺⁺, por meio da combinação de genes de ambos os genitores que estivessem “escondidos” pela presença de genes maiores para tolerância ao Al⁺⁺⁺.

Na população BAT x BR, o calo 16 B teve um comportamento de maior tolerância ao Al⁺⁺⁺, quando em comparação com as demais populações

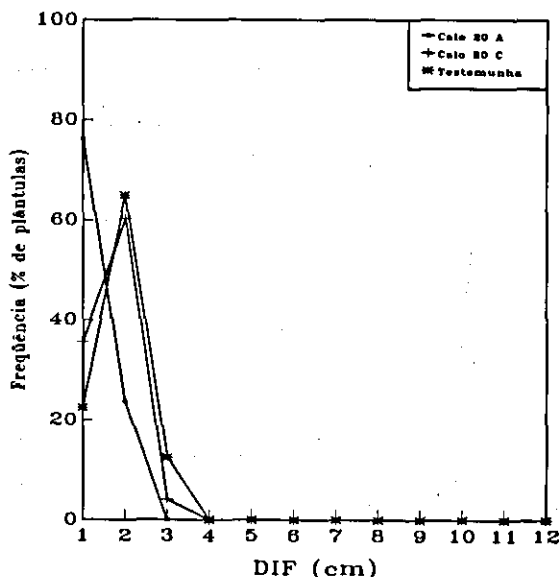


FIG. 1. Distribuição de frequências da diferença entre a altura de inserção da lâmina da primeira folha e comprimento de coleóptilo (DIF), das populações F₂ do cruzamento CAJ x BR, descendentes dos calos 20 A e 20 C e da testemunha sem passagem por cultura de tecidos. Porto Alegre, UFRGS, 1992 a 1994.

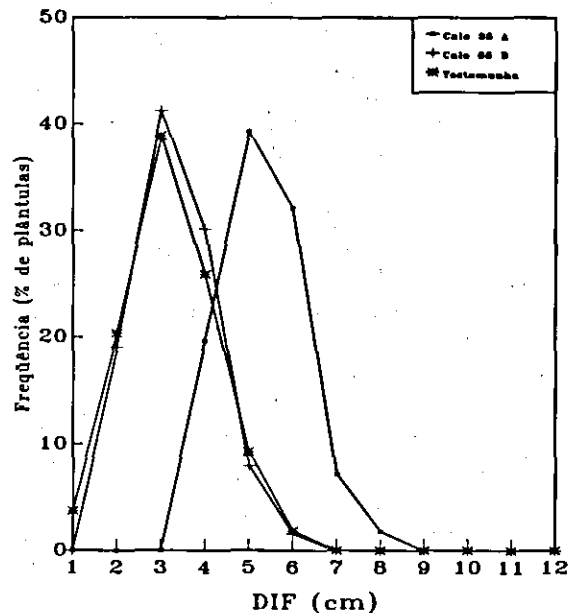


FIG. 2. Distribuição de frequências da diferença entre a altura de inserção da lâmina da primeira folha e comprimento de coleóptilo (DIF), das populações F₂ do cruzamento BAT x MAR, descendentes dos calos 35 A e 85 B e da testemunha sem passagem por cultura de tecidos. Porto Alegre, UFRGS, 1992 a 1994.

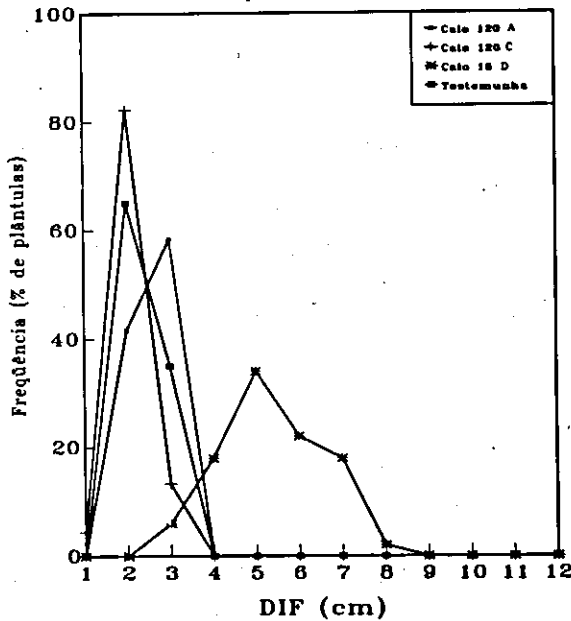


FIG. 3. Distribuição de freqüências da diferença entre altura de inserção da lâmina da primeira folha e comprimento de coleóptilo, das populações F_2 do cruzamento BAT x BR, descendentes dos calos 120 A, 120 C, 16 D e da testemunha sem passagem por cultura de tecidos. Porto Alegre, UFRGS, 1992 a 1994.

provenientes do mesmo cruzamento (Fig. 5). Como um dos genitores desta população é o BAT, com característica de intolerância ao Al^{+++} , a ocorrência de mutação em genes para tolerância ao Al^{+++} não pode ser descartada.

Varição somaclonal em tolerância à acidez e a altos níveis de Al^{+++} já foi constatada por Waskom et al. (1990), que, com regenerantes de dois genótipos de sorgo sensíveis ao Al^{+++} , selecionou quatro linhagens comprovadamente superiores. Estas foram testadas por Miller et al. (1992), no campo e em casa de vegetação, que selecionou três linhagens com condições de participar em programas de melhoramento convencional.

A utilização da cultura de tecidos como indutor de mutações tem sido bastante investigada, e tem mostrado maior eficiência do que o uso de mutagênicos químicos (Gavazzi et al., 1987). O tipo de avaliação empregada no presente trabalho (dis-

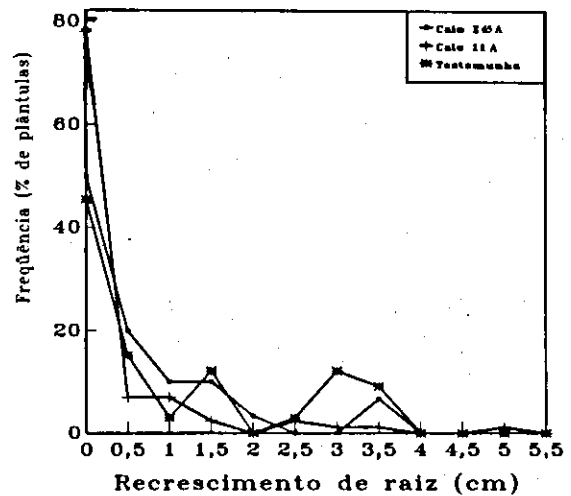


FIG. 4. Distribuição de freqüências de recrescimento de raiz (RAIZ) após o tratamento com Al^{+++} , das populações F_2 do cruzamento BH x MAR, descendentes dos calos 11 A, E 65 A e da testemunha sem passagem por cultura de tecidos. Porto Alegre, UFRGS, 1992 a 1994.

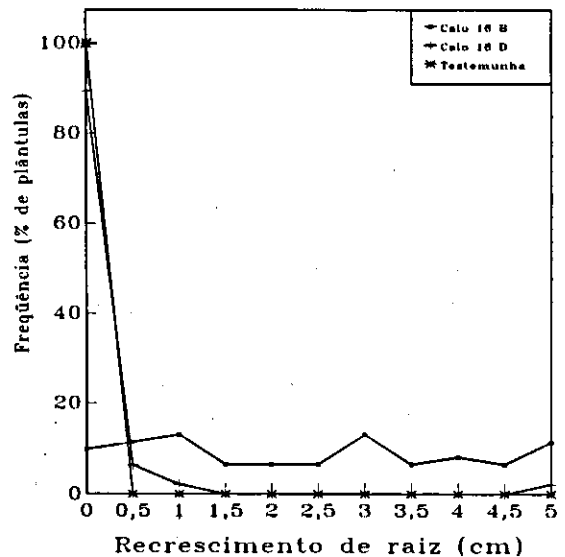


FIG. 5. Distribuição de freqüências de recrescimento de raiz (RAIZ) após o tratamento com Al^{+++} , das populações F_2 do cruzamento BAT x BR, descendentes dos calos 16 B, 16 D e da testemunha sem passagem por cultura de tecidos. Porto Alegre, UFRGS, 1992 a 1994.

tribuição de freqüências e diferenças entre médias de populações que passaram ou não por ciclo de cultura de tecidos) detectou com maior eficiência as variações ocorridas no início do processo de cultura (desdiferenciação), visto que as análises foram feitas considerando os resultados das populações provenientes de cada calo como um todo, e não como indivíduos regenerantes isolados. Sendo assim, a ocorrência de variantes que tenham originado de mutações mais tardias em outras populações não pode ser descartada.

CONCLUSÕES

1. Plantas regeneradas de cultura de tecidos em trigo manifestam variação no que se refere aos caracteres tolerância à toxicidade do Al^{+++} e sensibilidade ao AG_3 .

2. O método empregado para avaliação precoce de indivíduos tolerantes ao Al^{+++} e sensíveis ao AG_3 (baixa estatura), mostra-se promissor para aplicação no melhoramento genético de trigo.

REFERÊNCIAS

- BREIMAN, A.; ROTEM-ABARBANELL, D.; KARP, A.; SHASKIN, H. Heritable somaclonal variation in wild barley (*Hordeum spontaneum*). *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.74, p.104-112, 1987.
- CAMARGO, C.E. de O.; OLIVEIRA, O.F. de. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. *Bragantia*, Campinas, v.40, p.21-31, 1981.
- FEDERIZZI, L.C.; CARVALHO, F.I.F. de; OLIVEIRA, M.A.R. de. Genética da insensibilidade ao ácido giberélico em genótipos de trigo com diferentes estaturas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.27, n.8, p.1183-1193, 1992.
- FEDERIZZI, L.C.; CARVALHO, F.I.F. de; OLIVEIRA, M.A.R. de; MILACH, S. Avaliação da resposta de genótipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) de diferentes estaturas à aplicação de ácido giberélico no estádio de plântula. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.18, n.2, p.149-161, 1988.
- FLEMING, A.L.; FOY, C.D. Root Structure reflects differential aluminum tolerance in wheat varieties. *Agronomy Journal*, Madison, v.60, p.172-176, 1968.
- FOY, C.D.; CHANEY, R.L.; WHITE, M.C. The Physiology of metal toxicity in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, Bethesda, v.29, p.511-566, 1978.
- GALE, M.D.; GREGORY, R.S. A rapid method for early generation selection of dwarf genotypes in wheat. *Euphytica*, Wageningen, v.26, p.733-738, 1977.
- GAVAZZI, G.; TONELLI, C.; TODESCO, G.; ARREGUINI, E.; RAFFALDI, F.; VECCHIO, F.; BARBUZZI, G.; BIASINI, M.G.; SALA, F. Somaclonal variation versus chemically induced mutagenesis in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.74, p.733-738, 1987.
- HARTMANN, C.; HERY, Y.; DeBUYSER, J.; AUBRY, C.; RODE, A. Identification of new mitochondrial organization in wheat plants regenerated from somatic tissue cultures. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.77, p.169-175, 1989.
- LARKIN, P.J.; RYAN, S.A.; BRETTELL, I.S.; SCOWCROFT, W.R. Heritable somaclonal variation in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.67, p.443-455, 1984.
- LARKIN, P.J.; SCOWCROFT, W.R. Somaclonal variation - a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.60, p.197-214, 1981.
- MILLER, D.R.; WASKOM, R.M.; DUNCAN, R.R.; CHAPMAN, P.L.; BRICK, M. A.; HANNING, G.E.; TIMM, D.A.; NABORS, M.W. Acid soil stress tolerance in tissue culture-derived sorghum Lines. *Crop Science*, Madison, v.32, p.324-327, 1992.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- RYAN, S.A.; LARKIN, P.J.; ELLISON, F.W. Somaclonal variation in some agronomic and quality characters in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.74, p.77-82, 1987.

- SIBI, M.; BIGLARY, M.; DEMARLY, Y. Increase in the rate of recombinants in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) after in vitro regeneration. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.68, p.317-321, 1984.
- SUN, Z.X.; ZHAO, C.Z.; ZHENG, K.L.; QI, X.F.; FU, Y.P. Somaclonal genetics of rice, *Oryza sativa* L. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.67, n.1, p.67-73, 1983.
- WASKOM, R.M.; MILLER, D.R.; HANNING, G.E.; DUNCAN, R.R.; VOIGT, R.L.; NABORS, M.W. Field evaluation of tissue culture derived sorghum for increased tolerance to acid soils and drought stress. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.70, p.997-1004, 1990.